

ОСОБЕННОСТИ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ И ПЕРОКСИДАЦИИ ЛИПИДОВ У БОЛЬНЫХ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ И ИХ ДИНАМИКА В ПРОЦЕССЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ ТЕРАПИИ

Третьякова Ю.И., Щёктова А.П., Булатова И.А.

ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера Минздрава России, Пермь, e-mail: psmalf@.ru

Цель исследования: изучить уровень каталазы, глутатионпероксидазы (ГЛП) и малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови у больных язвенным колитом (ЯК), а также взаимосвязи данных показателей с тяжестью атаки заболевания, оценить динамику выявленных нарушений в процессе базисной противовоспалительной терапии. Обследовали 100 больных ЯК в фазе обострения и 50 практически здоровых лиц. В сыворотке крови определяли уровень каталазы, ГЛП и МДА. Оценивали показатели системного воспаления, в том числе уровень СРБ, СОЭ. Определяли индекс эндоскопической активности (ИЭА) по В. Rachmilewits (1989). Всех пациентов обследовали до и через 6 месяцев после базисной терапии ЯК. **Результаты.** У пациентов с ЯК выявили достоверное понижение концентраций каталазы и ГЛП по сравнению с практически здоровыми лицами ($p=0,0000$). Концентрация МДА была значимо выше у больных ЯК, чем в контрольной группе ($p=0,0007$). Также была выявлена прямая взаимосвязь ферментов между собой ($r=0,53$; $p=0,00006$) и отрицательная – с уровнем МДА ($r= - 0,61$; $p=0,0000$ – МДА/каталаза; $r= - 0,52$; $p=0,0000$ – МДА/ГЛП). Ферменты антиоксидантной системы (АОС) значимо коррелировали с тяжестью атаки ЯК, ИЭА, локализацией процесса в толстой кишке, СОЭ и СРБ. Средние значения каталазы и ГЛП при тяжелой атаке ЯК были достоверно ниже, а МДА – выше, чем при атаке легкой и средней тяжести. После проведения базисной терапии препаратами месалазина и глюкокортикоидами у больных ЯК отмечалась положительная динамика в виде увеличения концентрации ферментов АОС и уменьшения уровня МДА. У больных ЯК выявлен дисбаланс между прооксидантными и антиоксидантными реакциями, который привел к накоплению продуктов свободнорадикального окисления и формированию оксидативного стресса. Базисная терапия ЯК привела к улучшению процессов антиоксидантной защиты и уменьшению пероксидации липидов.

Ключевые слова: язвенный колит, антиоксидантная система, каталаза, глутатионпероксидаза, малоновый диальдегид, перекисное окисление липидов, оксидативный стресс.

PECULIARITIES OF ANTIOXIDANT SYSTEM AND LIPID PEROXIDATION IN PATIENTS WITH ULCERATIVE COLITIS AND THEIR DYNAMICS DURING ANTI-INFLAMMATORY THERAPY

Tretyakova Yu.I., Shchekotova A.P., Bulatova I.A.

SBEI HPE Perm State Medical University named after academician E. Wagner, Health Ministry of Russia, Perm, e-mail: psmalf@.ru

Objective: to study the level of catalase, glutathione peroxidase (GLP) and malondialdehyde (MDA) in the blood serum of patients with ulcerative colitis (UC) and the relationship of these indicators with the severity of disease attack. To evaluate the dynamics of revealed disorders in the process of antiinflammatory therapy. The study involved 100 patients with UC in the acute phase and 50 healthy individuals. In the blood serum levels of catalase, GLP and MDA were determined. We evaluated systemic inflammation indicators, including erythrocyte sedimentation rate (ESR) and C-reactive protein (CRP) level. The endoscopic activity index (EAI) on V. Rachmilewits (1989) was determined. All patients were examined before and 6 months after the basic UC treatment. A significant decrease in catalase and HLP levels was found in patients with UC as compared to healthy individuals ($p=0,0000$). MDA concentration was significantly higher in patients with UC compared to the control group ($p=0,0007$). Also, a direct correlation between the enzymes themselves ($r = 0,53$; $p = 0,00006$) and negative - to the level of MDA ($r = - 0,61$; $p=0,0000$ - MDA/catalase; $r = - 0, 52$, $p=0,0000$ - MDA/HLP) was found. Antioxidant system (AOS) enzymes significantly correlated with the severity of the UC attack, the EAI, the localization of process in the colon, ESR and CRP. The average values of catalase and HLP under heavy attack UC were significantly lower, and the MDA - higher than in mild and moderate severity attack. The positive dynamics in the form of increasing the concentration of the AOS enzymes and reduce the level of MDA after the basic treatment of mesalazine drugs and glucocorticoids in patients with UC was found. An imbalance between pro-oxidant and antioxidant reactions, which led to the accumulation of products of free radical

oxidation and the formation of oxidative stress in patients with UC was revealed. UC basic therapy led to improvement of the processes of antioxidant protection and reduce lipid peroxidation.

Keywords: ulcerative colitis, antioxidant system, catalase, glutathione peroxidase, malondialdehyde, lipid peroxidation.

ЯК занимает одну из ведущих позиций в структуре болезней желудочно-кишечного тракта и остается одной из наиболее серьезных проблем современной гастроэнтерологии [8].

Социальную значимость ЯК определяет преобладание заболевания среди лиц молодого трудоспособного возраста – пик заболеваемости ЯК приходится на 20–30 лет, а также ухудшение качества жизни из-за хронизации процесса, ранней инвалидизации, а следовательно, частого стационарного лечения [6, 2].

Распространенность ЯК составляет от 21 до 268 случаев на 100 тысяч населения. Ежегодный прирост заболеваемости составляет 5–20 случаев на 100 тысяч населения, и этот показатель продолжает увеличиваться (приблизительно в 6 раз за последние 40 лет) [6].

В патогенезе заболевания важное значение имеют изменения иммунологической реактивности, дисбиотические сдвиги, аллергические реакции, генетические факторы, нервно-психические нарушения [1].

Существенный вклад в патогенез ЯК вносит оксидативный стресс (ОС) с накоплением свободных радикалов кислорода, обладающих прямым токсическим действием [7,5]. Активная генерация кислородных радикалов при воспалительных процессах в слизистой оболочке толстой кишки сопряжена с мобилизацией многокомпонентной антиоксидантной системы (АОС), контролирующей уровень продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ). От полноценности функционирования антиоксидантных ферментов зависит степень повреждающего действия активных форм кислорода (АФК) на кишечную стенку, образующихся в результате ОС [3]. Основными АФК в толстой кишке являются гидроксильные свободные радикалы, супероксидный радикал и перекись водорода, в то время как супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза (ГЛП) и каталаза являются основными антиоксидантными ферментами [10].

В проведенных ранее исследованиях показано, что при ЯК наблюдается снижение активности антиоксидантных ферментов, что приводит к значительному увеличению малонового диальдегида (МДА), являющегося одним из конечных продуктов ПОЛ, что свидетельствует о функциональной напряженности АОС и её истощении [9,4]. Установлено, что ОС является ключевым фактором в развитии ассоциированного с ЯК колоректального рака [9].

В доступной нам литературе нет однозначных сведений о состоянии АОС и перекисидации липидов у пациентов с ЯК в зависимости от тяжести атаки и клинико-

эндоскопического варианта заболевания, а также о влиянии базисной противовоспалительной терапии на показатели ОС у данной категории больных.

В связи с изложенными выше фактами, изучение системы антиоксидантной защиты и особенностей перекисидации липидов при ЯК является перспективным направлением гастроэнтерологии.

Цель исследования – изучить уровень каталазы, ГЛП и МДА в сыворотке крови у больных ЯК, а также взаимосвязи данных показателей с тяжестью атаки заболевания. Оценить динамику выявленных нарушений в процессе базисной противовоспалительной терапии.

Материал и методы исследования. В простом открытом исследовании приняли участие 100 пациентов с ЯК с впервые выявленными формами заболевания и ранее установленным диагнозом в фазе обострения. Средний возраст составил $34,34 \pm 11,47$ лет, 57 мужчин и 43 женщины (57 % и 43 % соответственно). Пациенты обследованы на базе гастроэнтерологического и хирургического отделений ГБУЗ КМСЧ №1, ГКБ №2 (г. Пермь). Диагноз ЯК устанавливали на основании Российских рекомендаций по диагностике и лечению взрослых больных ЯК [6]. Степень тяжести атаки ЯК определяли на основании критериев Truelove, Witts, дополненных М.Х. Левитаном; индекса клинической и эндоскопической активности (ИКА и ИЭА) по В. Rachmilewits (1989). Проводили исследование показателей системного воспаления: скорости оседания эритроцитов (СОЭ) и С-реактивного протеина (СРБ).

Уровень каталазы в сыворотке крови исследовали при помощи метода Королук М.А. (1988 г.), который основан на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Активность ГЛП определяли на фотометре по скорости окисления НАДФН в инкубационной пробе при длине волны 340 нм (Вавилова Т.П., Евстафьева О.Л., Островская И.Г., 2010 г.). Концентрацию МДА в сыворотке крови определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой фотометрическим методом А. Кона и В. Ливерсейджа в модификации Ю.В. Владимирова и А.В. Арчакова (1972) при длине волны 540 нм. Исследование проводилось с использованием фотоэлектроколориметра КФК-2.

Все пациенты получали базисную противовоспалительную терапию: препараты месалазина (5-АСК) «Салофальк» (фирма «Доктор Фальк», Германия) перорально и ректально; глюкокортикоиды (ГК) «Преднизолон» («Мосхимфармпрепараты им. Н.А.Семашко», «Новосибхимфарм», Россия) парентерально, перорально и ректально). Дозы и способ введения определяли в зависимости от степени тяжести и формы ЯК. Всем пациентам провели комплексное обследование до и через 6 месяцев после назначения

терапии. Аналогичная группа по полу и возрасту явилась контрольной; она включала 50 практически здоровых лиц, не имеющих заболеваний пищеварительной системы.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.1. Данные описывали с помощью среднего арифметического и стандартного отклонения ($M \pm \sigma$). Для оценки значимости различий зависимых групп применяли непараметрический критерий Вилкоксона, а независимых групп – критерий Манна – Уитни. Количественную оценку линейной зависимости между двумя случайными величинами определяли с использованием коэффициента ранговой корреляции по Спирмену (r_s). Различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе исследования было выявлено достоверное снижение уровней антиоксидантных ферментов в группе пациентов с ЯК в сравнении с практически здоровыми лицами. При этом уровень фермента каталазы в среднем был ниже в 2,74 раза, а ГЛП – в 2,02 раза по сравнению с группой контроля ($p=0,0000$ и $p=0,0000$ соответственно) (табл. 1). Средний показатель МДА оказался в 2,82 раза выше у больных ЯК, чем в группе здоровых лиц ($p=0,0007$) (табл. 1).

Таблица 1

Уровень ферментов каталазы, ГЛП и МДА в сыворотке крови больных ЯК и в группе практически здоровых лиц, $M \pm \sigma$

Показатели	Контрольная группа ($n=50$)	Больные ЯК ($n=100$)	p
Каталаза, мкат/л	26,66±6,53	9,72±4,02	0,0000
ГП, мкмоль/л	25,28±5,63	12,49±6,17	0,0000
МДА, мкмоль/л	1,94±1,00	5,49±3,42	0,0007

Примечание: p – статистически значимые результаты.

При сравнительном анализе уровней каталазы и ГЛП в зависимости от тяжести атаки ЯК минимальные значения были получены при тяжелых формах заболевания (6,6±2,21 мкат/л и 9,46±3,95 мкмоль/л соответственно). Тогда как при легкой и среднетяжелой атаке ЯК концентрация данных показателей была значимо выше (табл. 2). Уровень МДА в сыворотке крови нарастал по мере увеличения тяжести атаки ЯК и при тяжелой форме составил 9,95±4,04 мкмоль/л (табл. 2).

Таблица 2

Уровень антиоксидантных ферментов и МДА в сыворотке крови в зависимости от тяжести атаки ЯК, $M \pm \sigma$

Показатели	Тяжесть атаки ЯК			p
	Легкая	Средняя	Тяжелая	
Каталаза, мкат/л	14,74±2,58	11,58±2,26	6,6±2,21	$p^{1-2}=0,0036$ $p^{2-3}=0,0000$

				$p^{1-3}=0,0000$
ГП, мкмоль/л	18,12±9,15	12,02±3,24	9,46±3,95	$p^{1-2}=0,025$ $p^{2-3}=0,041$ $p^{1-3}=0,0003$
МДА, мкмоль/л	2,67±1,15	3,98±1,52	9,95±4,04	$p^{1-2}=0,029$ $p^{2-3}=0,0000$ $p^{1-3}=0,0000$

Примечание: p – статистически значимые результаты.

Таким образом, ЯК в фазе активного воспаления характеризуется активацией процессов свободнорадикального окисления (СРО), усилением перекисидации липидов, проявляющимся повышением уровня МДА и истощением механизмов антиоксидантной защиты со снижением выработки ферментов каталазы и ГЛП. Данные процессы усугубляются с увеличением тяжести атаки ЯК.

В ходе корреляционного анализа была выявлена достоверная прямая взаимосвязь ферментов антиоксидантной защиты между собой ($r = 0,53$; $p = 0,00006$). Уровень МДА находился в отрицательной достоверной связи средней силы с показателями каталазы и ГЛП (табл. 2). То есть, чем выше уровень МДА, тем ниже концентрация ферментов АОС.

Также выявлены значимые отрицательные взаимосвязи ферментов АОС и выраженная прямая корреляционная взаимосвязь уровня МДА с тяжестью атаки ЯК (табл. 3). Отмечена обратная связь средней силы между уровнем каталазы, ГЛП и распространенностью патологического процесса в толстой кишке ($r = - 0,53$; $p = 0,0000$ – для каталазы и $r = - 0,60$; $p = 0,00006$ – для ГЛП). Кроме того, получена сильная прямая связь концентрации МДА с локализацией воспаления при ЯК ($r = - 0,75$; $p = 0,0000$) (таб. 3).

Таблица 3

Взаимосвязи исследуемых показателей в группе пациентов с ЯК

Показатели	rS	p
Каталаза/ ГЛП	0,53	0,00006
Каталаза/ МДА	-0,61	0,0000
МДА/ГЛП	-0,52	0,0000
Тяжесть атаки ЯК/Каталаза ¹ , ГЛП ² , МДА ³	-0,81 ¹ ; -0,46 ² ; 0,76 ³	0,0000 ¹ ; 0,0007 ² ; 0,0000 ³
ИЭА/ Каталаза ¹ , ГЛП ² , МДА ³	-0,53 ¹ ; -0,60 ² ; 0,61 ³	0,0000 ¹ ; 0,0000 ² ; 0,0000 ³
Локализация процесса*/ Каталаза ¹ , ГЛП ² , МДА ³	-0,65 ¹ ; -0,49 ² ; 0,75 ³	0,0000 ¹ ; 0,0002 ² ; 0,0000 ³
СРБ / Каталаза ¹ , ГЛП ² , МДА ³	-0,70 ¹ ; -0,56 ² ; 0,81 ³	0,0000 ¹ ; 0,0002 ² ; 0,0000 ³
СОЭ / Каталаза ¹ , ГЛП ² , МДА ³	-0,64 ¹ ; -0,44 ² ; 0,61 ³	0,0000 ¹ ; 0,001 ² ; 0,0000 ³

Примечание: rS – коэффициент корреляции Спирмена; p – значимость корреляции связей.

*Проктит, левосторонний колит (включая проктосигмоидит), тотальный колит.

Таким образом, существование достоверной корреляционной взаимосвязи между ферментами АОС и уровнем МДА, а также наличие значимых связей данных показателей с тяжестью атаки ЯК, распространенностью патологического процесса, ИЭА, уровнями СОЭ и СРБ свидетельствуют об активации процессов СРО и накоплению в ткани толстой кишки токсичных свободных радикалов, что усугубляет воспалительный процесс и эндогенную интоксикацию.

После проведения базисной противовоспалительной терапии ЯК препаратами 5-АСК и ГК было выявлено достоверное повышение ферментов антиоксидантной защиты и снижение сывороточного уровня МДА (табл. 4). Уровень каталазы в сыворотке крови увеличился в 2,15 раз, а ГЛП – в 1,6 раза. Тогда как концентрация МДА уменьшилась в 2,18 раз у пациентов с ЯК после базисной терапии.

Таблица 4

Уровень ферментов каталазы, ГЛП и МДА в сыворотке крови больных ЯК и до и после базисной терапии, М ± σ

Показатели	Больные ЯК (n=100)		p
	До терапии	После терапии	
Каталаза, мкат/л	9,72±4,02	20,90±5,01	0,0000
ГП, мкмоль/л	12,49±6,17	20,34±4,71	0,0000
МДА, мкмоль/л	5,49±3,42	2,51±1,19	0,0000

Примечание: p – статистически значимые результаты.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных ЯК имеется дисбаланс между прооксидантными и антиоксидантными реакциями, который приводит к накоплению продуктов СРО, активации ПОЛ, повреждению клеточных мембран и формированию окислительного стресса у данной категории больных. Купирование воспалительного процесса в толстой кишке у больных ЯК при помощи препаратов 5-АСК и ГК приводит к улучшению работы АОС и уменьшению перекисидации липидов.

Выводы:

1. У больных язвенным колитом выявлено значимое снижение концентрации в сыворотке крови ферментов антиоксидантной защиты: каталазы и глутатионпероксидазы, а также повышение уровня малонового диальдегида, являющегося конечным продуктом перекисного окисления липидов.
2. Выявлена значимая взаимосвязь ферментов антиоксидантной защиты и малонового диальдегида между собой, а также с тяжестью атаки язвенного колита, индексом эндоскопической активности, уровнем СОЭ, С-реактивного протеина и распространенностью патологического процесса в стенке толстой кишки.

3. Полученные данные позволяют использовать определение уровня каталазы, глутатионпероксидазы и малонового диальдегида в качестве дополнительных неинвазивных методов оценки тяжести патологического процесса при язвенном колите.
4. Противовоспалительная терапия препаратами месалазина и глюкокортикоидами привела к увеличению уровня каталазы, глутатионпероксидазы и снижению концентрации малонового диальдегида в сыворотке крови, что способствовало восстановлению баланса между прооксидантными и антиоксидантными реакциями и уменьшению перекисного окисления липидов.

Список литературы

1. Абдулхаков С.Р., Абдулхаков Р.А. Неспецифический язвенный колит: современные подходы к диагностике и лечению // Вестник современной клинической медицины. – 2009. – Т. 2. – № 1. – С. 32 - 41.
2. Белоусова Е.А., Никитина Н.В., Цодикова О.М. Лечение язвенного колита легкого и среднетяжелого течения // Фарматека. – 2013. – № 2. – С. 42–46.
3. Булатова И.А., Третьякова Ю.И., Щёкотов В.В., Щёкотова А.П., Улитина П.В., Кривцов А.В., Ненашева О.Ю. Полиморфизм гена каталазы (*rs1001179*) и оксидативный стресс у больных хроническим гепатитом С и язвенным колитом // Терапевтический архив. – 2015. – Т. 87. – № 2. – С. 49-53.
4. Максиль В.Г., Гилева Н.В. Активность антиоксидантных ферментов и вазоактивные факторы плазмы крови и биоптата кишечника при заболеваниях желудочно-кишечного тракта // Материалы Всерос. 67-й итоговой студенческой научной конференции им. Н. И. Пирогова (Томск, 21–23 апреля 2008 г.). – Томск, 2008. – С.383-385.
5. Пайзуллаева З.К., Александров В.Б. Нейроэндокринные изменения при воспалительных заболеваниях и раке толстой кишки // Клин. мед. – 2010. – № 4. – С. 56–60.
6. Рекомендации по диагностике и лечению взрослых больных язвенным колитом / Рекомендации разработаны экспертной комиссией «Российской гастроэнтерологической ассоциации», ООО «Ассоциация колопроктологов России» и «Общества по изучению воспалительных заболеваний кишечника» при «Ассоциации колопроктологов России» [под ред. В.Т. Ивашкина], 2013. – С. 25.
7. Циммерман Я.С., Циммерман И.Я., Третьякова Ю.И. Язвенный колит и болезнь Крона: современные представления (часть 1). Дефиниция, терминология, распространенность, этиология и патогенез, клиника, осложнения, классификация // Вестник

Клуба панкреатологов. Украинский гастроэнтерологический журнал. – 2015. – Т. 28. – № 3. – С. 60–65.

8. Marchal J., Hilsden R. Environment and epidemiology of inflammatory bowel disease // in Inflammatory bowel disease. Ed. Satsangi J., Sutherland L. – Churchill-Livingstone. – 2003. – P. 17–28.

9. Naito Y., Suematsu M., Yoshikawa T. Free radicals in Inflammatory Bowel Disease. Front Gastrointest Res. Basel, Karger. – 2011. – V. 29. – P. 128-136.

10. Wang Z., Li S., Cao Yu., Tian X. et al. Oxidative Stress and Carbonyl Lesions in Ulcerative Colitis and Associated Colorectal Cancer. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016. URL: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9875298> (дата обращения: 15.05.2016).