

Значение определения активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с язвенным колитом.

В.А. Емельянова¹, А.А. Демидов¹, Н.В. Костенко¹, Е.Н. Чернышева¹, О.С. Гребнева²

The significance of determining the activity of oxidation-reduction enzymes of neutrophils and monocytes blood in patients with ulcerative colitis

V.A. Emelyanova, A.A. Demidov, N.V. Kostenko, E.N. Chernysheva, O.S. Grebneva

¹ФГБОУ ВПО «Астраханский Государственный Медицинский Университет», Астрахань, Россия, (414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121), e-mail:sapient_s@mail.ru, ²ГБУЗ АО «Александрo-Мариинская областная клиническая больница», г. Астрахань

Ключевые слова: язвенный колит, нейтрофилы, моноциты, цитохимия

Резюме

Значение определения активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с язвенным колитом

В.А. Емельянова, А.А. Демидов, Н.В. Костенко, Е.Н. Чернышева, О.С. Гребнева

Цель. Оценить метаболический статус нейтрофилов и моноцитов периферической крови у пациентов с язвенным колитом.

Материал и методы. У пациентов с язвенным колитом (ЯК) проводилось цитохимическое исследование активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов: сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) в динамике до и после стационарного лечения.

Результаты. Средний цитохимический показатель (СЦП) по всем трём ферментам в нейтрофилах на момент поступления в стационар превышал норму в 7-10 раз и был представлен клетками средней степени активности, в моноцитах превышал норму в 3-4 раза и был представлен клетками низкой и средней степени активности. По выписке из стационара не зарегистрировано полной нормализации СЦП ферментов как в нейтрофилах, так и в моноцитах, но есть тенденция к снижению, СЦП представлен только клетками низкой степени активности.

Емельянова Виктория Александровна – ассистент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВПО «Астраханский Государственный Медицинский Университет» Контактная информация: 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121, e-mail:sapient_s@mail.ru
Демидов Алексей Александрович – д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии ФГБОУ ВПО «Астраханский Государственный Медицинский Университет» Контактная информация: 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121
Костенко Николай Владимирович¹ – д.м.н., доцент, зав. кафедрой хирургических болезней последипломного образования с курсом колопроктологии ФГБОУ ВПО «Астраханский Государственный Медицинский Университет» Контактная информация: 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121
Чернышева Елена Николаевна¹ – д.м.н., доцент кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВПО «Астраханский Государственный Медицинский Университет» Контактная информация: 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121
Гребнева Ольга Сергеевна – к.м.н., зав. гастроэнтерологическим отделением ГБУЗ АО «Александрo-Мариинская областная клиническая больница». Контактная информация: 414000, Астрахань, ул. Татищева, 2А

Заключение. Результаты указывают на существенную роль определения динамики функциональной активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов крови у пациентов с ЯК как значимого цитохимического маркера активности воспаления и оценки эффективности проводимой терапии.

Ключевые слова: язвенный колит, нейтрофилы, моноциты, цитохимия.

Abstract

The significance of determining the activity of oxidation-reduction enzymes of neutrophils and monocytes blood in patients with ulcerative colitis

V.A. Emelyanova, A.A. Demidov, N.V. Kostenko, E.N. Chernysheva, O.S. Grebneva

Aim. To assess the metabolic status of neutrophils and monocytes in peripheral blood in patients with ulcerative colitis.

Materials and methods. In patients with ulcerative colitis (UC), the activity of neutrophil and monocyte enzymes: succinate dehydrogenase (SDG), lactate dehydrogenase (LDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-FDH) in the dynamics before and after inpatient treatment was performed.

Results. The average cytochemical index (SPF) for all three enzymes in neutrophils at the time of admission to the hospital exceeded the norm by 7-10 times and was represented by the cells of medium activity, in monocytes exceeded the norm by 3-4 times and was represented by the cells of low and medium activity. After discharge from the hospital, there was no complete normalization of the SCP enzymes in both neutrophils and monocytes, but there is a tendency to decrease, the SCP is represented only by the cells of a low degree of activity.

Conclusion. The results indicate a significant role in determining the dynamics of the functional activity of oxidation-reduction enzymes of neutrophils and monocytes blood in patients with UC, as an important cytochemical marker of inflammation activity and evaluating the effectiveness of the therapy.

Keywords: ulcerative colitis, neutrophils, monocytes, cytochemistry.

Язвенный колит (ЯК) – хроническое аутоиммунное воспалительное заболевание слизистой оболочки толстой кишки с развитием в ней язвенно-некротических изменений, протекающее с местными, системными и внекишечными проявлениями [7].

Патогенетической основой ЯК является воспалительно-деструктивный процесс в слизистой оболочке толстой кишки, эффекторами которого являются активированные нейтрофилы и моноциты, мигрировавшие из периферической крови, формирующие в стенке кишки специфические для ЯК крипт-абсцессы, способные секретировать различные медиаторы воспаления, такие как кислая и щелочная фосфатазы, катионные белки, активные формы кислорода, обуславливающие расстройство микроциркуляции, деструкцию матрикса соединительной ткани и обеспечивающие, таким образом, неспецифическую реакцию организма на повреждение [3, 5, 6].

Принимая во внимание активное участие полиморфноядерных лейкоцитов и моноцитов в патогенезе ЯК, как потенциальных источников различных биологически активных веществ, участвующих в механизмах воспаления и регенерации кишечной стенки, особенно актуальным представляется изучение функционально-метаболической активности этих клеток крови с помощью цитохимических методов. В литературе изучение функциональной активности нейтрофилов и моноцитов крови у боль-

ных ЯК представлено единичными работами [2].

Цель исследования

Оценить метаболический статус нейтрофилов и моноцитов периферической крови у пациентов с язвенным колитом.

Материал и методы исследования

На базе гастроэнтерологического отделения ГБУЗ АО «Александро-Мариинская областная клиническая больница» было обследовано 49 пациентов с язвенным колитом в возрасте от 30 до 65 лет.

Критерии включения в исследование: наличие диагноза «Язвенный колит», возраст от 20 до 65 лет.

Критерии исключения: заболевания системы крови, острые бактериальные и вирусные инфекции, злокачественные новообразования, острые и хронические воспалительные заболевания в стадии обострения, возраст старше 65 лет.

В качестве контроля обследовалось 35 здоровых доноров.

В исследование включено 49 пациентов с ЯК: 27 человека (55,1%) женского пола и 22 (44,9%) пациента мужского пола в возрасте от 30 до 65 лет. Средний возраст женщин с ЯК составил $44,6 \pm 12,7$, мужчин – $44,9 \pm 15,7$ лет.

На момент исследования 26 пациентов с ЯК при поступлении в гастроэнтерологическое отделение

уже находились на базисной терапии иммуносупрессорами (препараты 5-аминосалициловой кислоты, глюкокортикостероиды, азатиоприн), 23 пациентов на момент поступления в стационар не получали базисную терапию. В отделении всем пациентам была назначена стандартная противовоспалительная и иммуносупрессивная терапия, согласно Федеральным клиническим рекомендациям [1]. Исследование проводилось в динамике: при поступлении в стационар и при выписке. Длительность лечения в стационаре составила 2 недели.

По локализации воспалительного процесса пациенты распределились следующим образом: у 20,4% пациентов был зарегистрирован тотальный колит, у 79,6% – левосторонний колит.

Тяжесть текущего обострения определялась по критериям Truelove–Witts. В зависимости от тяжести воспалительной атаки у 20,4% пациентов диагностирована легкая атака, у 59,2% – среднетяжелая и у 20,4% пациентов – тяжелая атака.

Синдром эндотоксемии был зарегистрирован у всех пациентов, метаболические расстройства отмечены у 20,4% пациентов. Внекишечные проявления в виде артрита выявлены у 18,4% пациентов, а узловатая эритема – у 22,4%.

У всех пациентов определялась цитохимическая активность ферментов нейтрофилов и моноцитов периферической крови. Нейтрофилы определяли в мазке из цельной крови (по методу Р.П. Нарциссова). Выделение моноцитов проводили по методике И.С. Фрейдлин.

Исследовали окислительно-восстановительную группу ферментов: сукцинатдегидрогеназу (СДГ), отражающую цикл Кребса; лактатдегидрогеназу (ЛДГ), отражающую анаэробный гликолиз; глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу (Г-6-ФДГ), отражающую активность пентозо-фосфатного шунта [4].

Для оценки результатов цитохимических реакций использовали полуколичественный метод Karlow [8] с определением среднего цитохимического показателя (СЦП). Этот метод основан на распределении всех клеточных элементов по группам по интенсивности окраски и количеству выявляемого в клетке цитохимически активного вещества. Клетки без гранул относятся к нулевой группе. К первой группе – клетки с единичными гранулами (низкой степени активности), или клетки, площадь окраски цитоплазмы которой занимала около 25% (степень «а»). Клетки, цитоплазма которых была заполнена гранулами на 30-70%, относились ко второй группе (степень «б»). Клетки, цитоплазма которых заполнена гранулами на 70-100%, а также те, из которых регистрировался выход гранул, относились к высокой степени активности (степень «в»).

Для определения среднего цитохимического показателя (СЦП) в мазке подсчитывали 100 клеток (нейтрофилов или моноцитов, в зависимости от вида мазка). При этом число клеток каждой из степеней умножали на номер степени, то есть СЦП определяли по формуле: $СЦП = a + 2b + 3c$ (усл. ед.).

Математическая обработка полученных цитохимических данных проводилась на персональном компьютере в программе Статистика 8.

Результаты исследования и их обсуждение

Цитохимический анализ проводили в динамике: на момент поступления в гастроэнтерологическое отделение и на момент выписки (по окончании курса лечения).

Пациенты, находящиеся на базисной терапии к моменту поступления в стационар, получали её в течение 1-2 месяцев, в связи с чем достоверно значимых отличий между этой группой пациентов и теми, кто не получал к началу исследования базисную терапию, выявлено не было, поэтому мы приводим средние значения.

При поступлении в стационар средний цитохимический показатель СДГ нейтрофилов составил $108 \pm 0,02$ у.е. (норма СДГ $15,04 \pm 0,02$ у.е.), что превышало нормальные значения в 7 раз. Все реагирующие клетки были средней степени активности (степень «б»). СЦП ЛДГ составил $116 \pm 0,02$ у.е. (норма ЛДГ $15,04 \pm 0,02$ у.е.), нормальные значения были превышены в 7,7 раз, при этом все клетки также были классифицированы, как степень «б». Активность Г-6-ФДГ превышала норму в 10,1 раз и составила $152 \pm 0,02$ у.е. при норме $15,04 \pm 0,02$ у.е., все реагирующие клетки были классифицированы как степень «б».

После курса стационарного лечения (через 2 недели) активность ЛДГ и Г-6-ФДГ снижалась, в отношении последней более выражено ($92 \pm 0,02$ у.е.), в то время как активность СДГ оставалась практически интактной. Происходило качественное изменение активности реагирующих клеток: после лечения все клетки были представлены клетками низкой степени активности (степени «а»).

В отношении моноцитов были получены следующие показатели. При поступлении в стационар средний цитохимический показатель активности СДГ составлял $76,02 \pm 0,01$ у.е. (норма СДГ $20,02 \pm 0,01$ у.е.), что превышало норму в 3,8 раз. Активность ЛДГ превышала норму в 3,7 раз и составила $56,02 \pm 0,04$ у.е. (норма ЛДГ $15,16 \pm 0,04$ у.е.). СЦП активности Г-6-ФДГ составил $67 \pm 0,04$ у.е. при норме $15,60 \pm 0,04$ у.е., что превышало нормальные значения в 4,3 раз. СЦП активности всех трёх ферментов формируются клетками степени «а» и в меньшей степени «б».

При выписке из стационара после курса лечения, активность СДГ составила $32,02 \pm 0,01$ у.е., активность ЛДГ – $41,02 \pm 0,04$ у.е., активность Г-6-ФДГ – $31 \pm 0,04$ у.е., т.е. наблюдается тенденция к снижению показателей. СЦП всех ферментов сформирован исключительно клетками степени «а».

Говоря об активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов периферической крови больных ЯК, необходимо отметить превы-

шение СЦП по всем трём ферментам относительно нормы в 7-10 раз на момент поступления в стационар. Наибольшую активность можно наблюдать в отношении Г-6-ФДГ. После курса стационарного лечения полной нормализации активности ферментов нейтрофилов не наблюдалось, хотя тенденция к снижению заметна, особенно в отношении Г-6-ФДГ. Если до стационарного лечения СЦП всех ферментов был сформирован исключительно клетками средней степени активности (степень «б»), то после курса лечения СЦП ферментов представлен уже только клетками низкой степени активности (степень «а»). В отношении моноцитов мы наблюдаем повышение активности ферментов в значительно меньшей степени, СЦП всех ферментов до начала специфической терапии был представлен клетками степени «а» в подавляющем большинстве, и в меньшей мере клетками средней степени активности. После курса стационарного лечения наблюдалось конкордантное снижение активности всех ферментов, СЦП ферментов был представлен только клетками низшей степени активности.

Отмечена сильная положительная корреляционная связь между уровнями СОЭ, СРБ, частотой стула, температурой тела и сильная отрицательная корреляция между уровнем гемоглобина и окислительно-восстановительными ферментами нейтрофилов и моноцитов крови, т.е. чем выше активность ферментов, тем выше клинико-лабораторные показатели активности заболевания.

После курса стационарного лечения (через 2 недели) мы не наблюдали полной нормализации вышеуказанных показателей у пациентов, ввиду невозможности полной коррекции анемического и воспалительного синдрома всего за 2 недели. Тем не менее, частота стула с 5 раз в сутки в среднем до госпитализации сократилась до 2 после курса терапии. С нормализацией стула, температуры тела, пульса, ростом уровня гемоглобина и снижением СОЭ сопряжено улучшение самочувствия пациента.

Одновременно по окончании стационарного курса лечения мы регистрировали снижение активности всех окислительно-восстановительных ферментов, как в нейтрофилах, так и в моноцитах, однако, полной нормализации не наблюдалось. Это свидетельствует о том, что на цитохимическом уровне «истинной» ремиссии через 2 недели терапии достичь не удаётся. Яркая функциональная активность внутриклеточных ферментов именно нейтрофилов у пациентов с ЯК подтверждает значительную роль этих клеток крови в развитии воспалительной реакции в кишечной стенке. Функциональная активность моноцитов крови в сравнении с таковой у нейтрофилов выглядит не выразительной и диагностически малоинформативной.

У 5% пациентов после курса стационарного лечения не было отмечено значительного клинико-лабораторного улучшения, что было сопряжено также с отсутствием положительной динамики окислительно-восстановительных ферментов нейтрофи-

лов и моноцитов крови.

Таким образом, изучение функциональной активности окислительно-восстановительных ферментов нейтрофилов и моноцитов периферической крови у пациентов с ЯК может стать надёжным диагностическим маркером активности воспалительной реакции, а также оценки эффективности проводимой терапии.

Литература

1. Пивакин В.Т., Шельгин Ю.А., Абдулганева Д.П. и др. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации и Ассоциации колопроктологов России по диагностике и лечению взрослых больных язвенным колитом // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. – 2015. – Т.25. – №1. – С. 48-65.
2. Каленчукова О.А. Функциональная активность нейтрофилов периферической крови и воспалительная реакция в слизистой оболочке у больных язвенным колитом // *X итог. науч. конф. молодых учёных и студентов: тез.докл.* – Ставрополь, 2002. – С. 204.
3. Каленчукова О.А. Функциональная и метаболическая активность нейтрофильных гранулоцитов при остром бактериальном риносинусите // *Инфекция и иммунитет*. – 2013. – Т. 3. – №3. – С. 269-274.
4. *Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник / Под ред. В.В. Меньшикова*. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
5. Мазовка К.Е., Ткачёв А.В. Экспрессия матриксной металлопротеиназы-9 и тканевого ингибитора матриксной металлопротеиназы-1 в слизистой оболочке кишечника у больных с воспалительными заболеваниями кишечника в зависимости от активности заболевания // *Практическая медицина*. – 2014. – Т.77. – №1. – С.53-56.
6. Ткачёв А.В., Мкртчян Л.С., Никитина К.Е. и др. Воспалительные заболевания кишечника: на перекрёстке проблем // *Практическая медицина*. – 2012. – № 58. – С. 17-22.
7. Циммерман Я.С., Циммерман П.Я., Третьякова Ю.П. Язвенный колит и болезнь Крона: Современные представления. Часть 1. Дефиниция, терминология, распространённость, этиология и патогенез, клиника, осложнения, классификация // *Клиническая медицина*. – 2013. – №11. – С.27-33.
8. Черняев А.А., Демидов А.А., Чернышева Е.Н. Цитохимическая активность нейтрофилов и моноцитов крови у больных метаболическим синдромом // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – № 1-1. URL: <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=18201>.