



УДК 616.3:612.014.3:616-07-053:616.15:616.07.2/6

## ОЦЕНКА АПОПТОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ У ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКОЙ ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЙ ПАТОЛОГИЕЙ НА РАЗНЫХ ЭТАПАХ РЕАБИЛИТАЦИИ

**Н.В. ЛАГУНОВА**  
**А.О. КОТ**

*Крымский государственный  
медицинский университет  
имени С.И. Гергеевского,  
г. Симферополь*

*e-mail: kot.andrey2009@yandex.ru*

В статье приводятся результаты собственных исследований по определению апоптотической активности за счет изучения динамики показателей маркеров апоптоза Fas (CD95) и Аннексина V у детей с хронической гастродуоденальной патологией на этапе стационарного лечения и санаторно-курортной реабилитации.

Ключевые слова: дети, гастродуоденальная патология, апоптоз.

В последнее время отмечается значительный рост и частота рецидивирования заболеваний гастродуоденальной патологии. Согласно последним статистическим данным по Украине более 2,8 млн. детей страдают патологией органов пищеварения. Наиболее распространенными среди заболеваний органов пищеварения у детей являются заболевания желудка и двенадцатиперстной кишки и составляют 50-75% в структуре детской гастроэнтерологической патологии [1] и встречаются у 100-150 на 1000 детей [2].

Таким образом, данная проблема не только сугубо медицинская, но и социально-экономическая, поэтому остается актуальным вопрос эффективной реабилитации больных с гастродуоденальной патологией в детском возрасте [3].

В настоящее время доказано, что диагноз хронический гастрит и язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки основывается на воспалении и дисрегенераторных процессах. На клеточном уровне постоянно протекающие деление и рост должны сопровождаться альтернативным процессом удаления старых поврежденных клеток. Высокорегулируемую форму программированной смерти клетки с характерными морфологическими и биохимическими признаками определяют как апоптоз [4].

Апоптозу принадлежит важнейшая роль, как в физиологических, так и в патологических условиях, поскольку и подавление, и неадекватное его усиление ведут к патологическим изменениям органов и тканей [5, 6, 7]. Все больше внимания уделяется изучению апоптоза с точки зрения влияния его на различные патологические процессы.

В связи с этим целью работы было изучение характера изменений показателей маркеров апоптоза CD95 (Fas) и Аннексина V у детей с хронической гастродуоденальной патологией на этапе стационарного лечения и санаторно-курортной реабилитации с применением минеральной воды «Феодосийская» в сочетании с частотно-резонансной терапией.

**Материалы и методы.** Под нашим наблюдением находилось 103 ребенка с хронической гастродуоденальной патологией в периоде обострения с возрастными границами 6 – 17 лет. В 1-ю группу вошли 47 детей с хронической гастродуоденальной патологией ассоциированной с *Helicobacter pylori*, во 2-ю группу вошел 41 ребенок с хронической гастродуоденальной патологией неассоциированной с *Helicobacter pylori* и в 3-ю группу вошли 15 детей с язвенной болезнью 12-ой кишки ассоциированной с *Helicobacter pylori*. При этом 50 детей с хронической гастродуоденальной патологией в периоде ремиссии находились на санаторно-курортном лечении. Были выделены 2 группы по 25 детей каждая (в 1-ю группу вошли пациенты, получавшие минеральную воду «Феодосийская» в питьевом режиме; во 2-ю группу вошли пациенты, получавшие минеральную воду «Феодосийская» в питьевом режиме с параллельным применением частотно-резонансной терапии). Минеральную воду «Феодосийская» дети получали из расчета 5мл/кг массы тела 2 раза в день (утром и вечером) в течение 30 дней, в температурном режиме. Частотно-резонансную терапию проводили с помощью прибора «Паркес-Л» с использованием 7 программы. 7 программа согласно инструкции по применению является адаптогенной, улучшает иммунитет и повышает жизненный тонус. Использовали по схеме: 21 (7) 21, где 21 минута – лечебный сеанс, 7 минут – перерыв, курсом 10 дней. Группу контроля составили 20 практически здоровых детей, сопоставимых по возрасту и полу.

В соответствии с задачами работы все дети изначально проходили обследование и лечение на базе профильных гастроэнтерологических коек Крымского республиканского управле-



ния «Детская республиканская клиническая больница» г. Симферополя. Санаторно-курортную реабилитацию дети получали в условиях школы-интерната санаторного типа г. Феодосия.

В работе использованы такие методы исследования, как анамнестический, клинический, лабораторный, инструментальный, иммунологические, консультации узких специалистов.

Оценку динамики количественного содержания показателей маркеров апоптоза CD95 (Fas) и Аннексин V во всех трех группах определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА.)

При проведении ИФА использовался комплект оборудования фирмы AWARENESS Technology Inc. (USA): промыватель планшет автоматический Stat Fax 2600, микропланшетный инкубатор-шейкер Stat Fax 2200 и иммуноферментный плащечный автоматический анализатор Stat Fax 2100.

Маркер sCD95 определялся наборами ИФА sCD 95(APO1/ Fas) ELISA KIT фирмы «DI-ACLONE Research» (Франция), предназначенными для количественного измерения «in vitro» растворимого CD95 (APO-1, Fas) в плазме, сыворотке, буферизованных растворах или среде культуры клеток. Фотометрирование лунок проводили на Stat Fax 2100 при длине волны 450 нм. Для перевода полученных результатов в единицах ОП измерения в ЕД/мл строили калибровочный график.

Для количественного определения Аннексина V использован иммуноферментный набор Annexin V Elisa (кат. NBMS 252 производитель Bender Medsystems). После остановки ферментативной реакции проводили фотометрирование лунок на Stat Fax 2100 при длине волны 450 нм. Далее, с учетом значений оптической плотности контрольных проб, проводили математическую обработку результатов анализов.

Обследованным больным диагноз гастроудоденальной патологии выставлялся согласно классификации МКБ 10.

Проводилось лечение с учетом протоколов терапии по основному заболеванию.

Статистическую обработку полученных данных проводили с применением интегрированного пакета прикладных программ Statistica 6.0 for Windows XP, в соответствии с общепринятыми методами медицинской статистики.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты исследования динамики содержания титра проапоптотического маркера CD95 (Fas) и интегрального показателя общей интенсивности апоптоза клеток Аннексина V на этапе стационарного лечения при поступлении и при выписке представлены в табл. 1.

Таблица 1

**Динамика показателя маркера CD95 (Fas) (пг/мл) и Аннексина V (У/мл) в сыворотке крови у детей с хронической гастроудоденальной патологией на этапе стационарного лечения (M±m)**

Показатель	Контроль (n = 20)	1-я группа (n = 47)		2-я группа (n = 41)		3-я группа (n = 15)	
		до	после	до	после	до	после
Fas (CD95) пг/мл	400,67 ± 4,05	553,29 ±8,01 p<0,001	432,89 ±5,52 p < 0,01 p <sub>3</sub> <0,001	539,41 ±5,53 p < 0,001 p <sub>1</sub> > 0,05	439,64 ±5,98 p < 0,01 p <sub>1</sub> > 0,05 p <sub>3</sub> <0,001	638,00 ± 8,80 p < 0,001 p <sub>1</sub> <0,001 p <sub>2</sub> <0,001	470,00 ± 7,84 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05 p <sub>3</sub> <0,001
Аннексин V У/мл	6,25 ± 0,44	12,37 ±0,47 p<0,001	8,03 ±0,30 p < 0,05 p <sub>3</sub> <0,001	14,11 ±0,66 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,05	7,61 ±0,25 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05 p <sub>3</sub> <0,001	16,98 ±0,95 p < 0,001 p <sub>1</sub> < 0,01 p <sub>2</sub> < 0,05	9,04 ±0,60 p < 0,05 p <sub>1</sub> > 0,05 p <sub>2</sub> < 0,05 p <sub>3</sub> <0,001

n – абсолютное количество случаев;

p – достоверность различия с аналогичными показателями контроля;

p<sub>1</sub>-достоверность различия с аналогичными показателями 1-й группы;

p<sub>2</sub>-достоверность различия с аналогичными показателями 2-й группы.

p<sub>3</sub> – достоверность различия с аналогичными показателями при поступлении.

Анализируя полученные данные, как видно из табл. 1, у всех обследуемых больных, во всех трех группах при поступлении в стационар отмечалось достоверное повышение титра Fas (CD95) и Аннексина V превышающие средние значения в группе здоровых детей (p<0,001), что свидетельствует об усиленных процессах апоптоза. Также мы отмечали достоверно более высо-



кие показатели Fas (CD95) и Аннексина V у пациентов, имеющих деструктивные процессы в слизистой (ЯБДПК) в сравнении с детьми 1-й и 2-й группы ( $p < 0,001$ ).

Кроме того нами обнаружена прямая корреляционная связь средней силы между показателями Fas (CD95) группы детей с ЯБ ДПК ассоциированной с *Helicobacter pylori* и группы детей с ХГДП неассоциированной с *Helicobacter pylori* ( $r = 0,59$ ,  $p < 0,05$ ).

После проведенной базисной терапии всем пациентам повторно провели определение апоптотической активности. Так, во всех трех группах у всех обследуемых больных отмечалось достоверное снижение показателей Fas (CD95) и Аннексина V ( $p < 0,05$ ); это говорит об эффективном лечении, но показатели оставались достоверно выше, превышая средние значения в группе здоровых детей ( $p < 0,001$ ). Также как и при поступлении, мы отмечаем достоверно более высокие показатели Fas (CD95) и Аннексина V у детей в группе с деструктивными изменениями слизистой (ЯБ ДПК) в сравнении с детьми 1-й и 2-й группы ( $p < 0,05$ ).

На санаторно-курортном этапе реабилитации также проводили анализ динамики содержания титра проапоптотического маркера CD95 (Fas) и интегрального показателя общей интенсивности апоптоза клеток Аннексина V представлены в табл. 2.

Таблица 2

**Динамика показателя маркера CD95 (Fas) (пг/мл) и Аннексина V (U/мл) в сыворотке крови у детей с хронической гастродуоденальной патологией на этапе санаторно-курортной реабилитации ( $M \pm m$ )**

Этап исследования	Минеральная вода «Феодосийская» (n =25)		Минеральная вода «Феодосийская» + частотно-резонансная терапия (n =25)	
	CD95 (Fas)	Аннексин	CD95 (Fas)	Аннексин
Поступление	453,56 ± 10,22 P < 0,01	8,34 ± 0,47 P < 0,05	451,96 ± 10,16 P < 0,01 P1 > 0,05	8,50 ± 0,49 P < 0,05 P1 > 0,05
Выписка	433,48 ± 7,79 P < 0,05	7,28 ± 0,24 P < 0,05 P1 < 0,05	410,92 ± 4,42 P > 0,05 P1 < 0,05	6,61 ± 0,14 P > 0,05 P1 < 0,01
Контрольная группа (n =20)	400,67 ± 4,05	6,25 ± 0,44	400,67 ± 4,05	6,25 ± 0,44

n – абсолютное количество случаев;

p – достоверность различия с аналогичными показателями контроля;

p<sub>1</sub> - достоверность различия с аналогичными показателями 1-й группы.

Анализируя полученные данные можно говорить о том, что у обследуемых детей обеих групп имело место достоверное повышение показателей CD95 (Fas) и Аннексина V в сравнении с группой контроля ( $P < 0,01$ ;  $< 0,05$ ). При этом показатели 1-ой и 2-ой группы достоверно не отличались друг от друга.

Это, по нашему мнению, указывает на то, что в периоде ремиссии, не смотря на проведенную базисную терапию и отсутствие признаков воспаления при эндоскопическом исследовании, сохраняется активность апоптотических процессов, что косвенно свидетельствует о неполном выздоровлении.

После проведенной терапии имеет место снижение показателей апоптотической активности CD95 (Fas) и Аннексина V и приближение их к показателям контрольной группы, более выраженное во 2-ой группе, где применялось сочетанное применение минеральной воды «Феодосийская» и частотно-резонансной терапии, это косвенно свидетельствует о регенерации слизистой гастродуоденальной зоны.

### Выводы

1. При поступлении в стационар у детей с хронической гастродуоденальной патологией имеет место усиление процессов апоптотической активности в сравнении с группой здоровых детей, более выраженное у пациентов с деструктивными изменениями в слизистой гастродуоденальной зоны.

2. В результате лечебных мероприятий наблюдалось снижение уровня показателей sCD 95 и Аннексина V у детей всех групп, подтверждающее снижение апоптотической активности и косвенно свидетельствующее об усилении репаративных процессов в слизистой гастродуоденальной зоны, что подтверждалось исчезновением жалоб и улучшением клинической картины.



3. У детей с гастродуоденальной патологией на этапе санаторно-курортной реабилитации до начала курса терапии сохранялась активность апоптических процессов, которая отражалась в повышении показателей sCD 95 и Аннексина V в сравнении с группой контроля.

4. После проведенной санаторно-курортной реабилитации детей с гастродуоденальной патологией имеет место снижение показателей апоптической активности sCD 95, Аннексина V и приближение их к показателям контрольной группы, более выраженное во 2-ой группе, где применялось сочетанное применение минеральной воды «Феодосийская» и частотно-резонансной терапии.

#### Литература

1. Абатуров А.Е. Хронические гастриты, ассоциированные с внутриклеточными вирусными инфекциями / А.Е. Абатуров // Педиатрия, акушерство и гинекология. 2011. Т.73; №4; С. 7-8.
2. Шульгай О.М. Зміни імунологічного статусу у дітей, хворих на хронічний гастродуоденіт, асоційований з Нр / О.М. Шульгай // Педіатрія, акушерство та гінекологія. – 2000. – №1. – С. 29-30.
3. Ціборовский О.М. Росповсюдження хвороб органів травлення у дітей дошкільного віку залежно від впливу соціальних, екологічних та медико-біологічних факторів / О.М. Ціборовский, М.Ф. Денисова // Педіатрія, акушерство та гінекологія -1996. – № 3. – С. 14-16.
4. Ивашкин В.Т. Процессы апоптоза и пролиферации при патологии желудочно-кишечного тракта и печени / В.Т.Ивашкин, Т.Л. Лапина, А.О. Бондаренко, А.М. Буеверов, А.М. Осадчук, Е.А. Коган, О.А. Склянская, Е.Ю. Москалева, Е.В. Дмитриева, С.Е. Северин, И.М. Креветный // РЖГТК. 2002.; 6; С 38-43.
5. Арин Л.И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения / Л.И. Арин // Клин. Мед. – 2000. – Т.78, №1. – С. 5-10.
6. Белушкина Н.Н. Молекулярные основы патологии апоптоза / Н.Н. Белушкина, С.Е. Северин // Арх. Пат. – 2001. – №1. С. 51-60.
7. Белушкина Н.Н. Молекулярные основы апоптоза / Н.Н. Белушкина, Хасан Хамад Али, С.Е. Северин // Вопр. биол. мед. и фарм. химии. – 1998. – №4. –С. 15-23.
8. Amous D. Antiphospholipid antibodies : clinical significance and biological diagnosis/ D. Amous, B. Bontiere, M. Sanmarco // Ann.Biol.Clin. (Paris) – 2000 – Vol. 58-№5- P. 557-574.

## ESTIMATION OF APOPTOTIC ACTIVITY IN CHILDREN WITH CHRONIC GASTRODUODENAL PATHOLOGY ON THE DIFFERENT STAGES OF REHABILITATION

**N.V. LAGUNOVA**  
**A.O. KOT**

*Crimea State Medical University  
named after S.I. Georgievsky,  
Simferopol*

*e-mail: kot.andrey2009@yandex.ru*

In the article the results of own researches are driven on determination of apoptosis activity through the review of the indicators markers of apoptosis sCD 95 and Annexin V in children with chronic gastroduodenal pathology on the stage of hospital treatment and sanatorium-resort rehabilitation.

Keywords: children, gastroduodenal pathology, apoptosis.