

УДК 616.2-039.41-053.2:616.329-002-008.843.3

Т.В. Починок¹, О.В. Журавель¹, О.В. Чернов²

Вміст оксиду азоту та його метаболітів у крові та слизовій стравоходу у дітей з частими респіраторними захворюваннями на тлі гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби

¹Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, м. Київ, Україна²ДУ «Інститут педіатрії, акушерства та гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України», м. Київ

SOVREMENNAYA PEDIATRIYA.2019.2(98):31-34; doi 10.15574/SP.2019.98.31

Оксид азоту забезпечує вазодилатацію кровеносних судин, регуляцію мікроциркуляції, синтезу і секреції гормонів, що впливають на моторику шлунково-кишкового тракту (ШКТ), шлункову секрецію. Є поодинокі дослідження, які підтверджують гастропротекторний ефект цього медіатора на пошкоджену слизову. В інших джерелах відзначається порушення моторики шлунка при блокуванні NO-синтази.

Мета — дослідити рівень оксиду азоту та його метаболітів у плазмі крові та слизовій стравоходу у дітей з частими респіраторними захворюваннями на тлі гастроєзофагеальної рефлюксної хвороби (ГЕРХ).

Матеріали і методи. Обстежено 150 дітей пубертатного віку. Виділено три групи спостереження — діти з ЧРЗ на тлі ГЕРХ (90 дітей, група 1), діти з ЧРЗ без ГЕРХ (30 дітей, група 2), практично здорові діти (30 дітей, група 3).

Результати. Встановлено вірогідний приріст сумарного NO на 29,5% у плазмі крові дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ, метаболіту нітриту азоту (NO₂) — на 27,4%, метаболіту нітрату азоту (NO₃) — на 40,2%.

У слизовій стравоходу встановлено суттєвий приріст метаболітів оксиду азоту при супутній ГЕРХ (NO сумарний — у 2,16 разу, NO₃ — у 2,1 разу, NO₂ — у 1,59 разу), проте в групі дітей з ЧРЗ без супутньої ГЕРХ вірогідної різниці щодо групи контролю не виявлено.

При регресійному аналізі отримано лінійний прямий зв'язок між вмістом оксиду азоту та його метаболітів у слизовій стравоходу та плазми крові: r=0,30 (p<0,05), NO₂ — r=0,29 (p<0,05), NO₃ — r=0,34 (p<0,05).

Висновки. На тлі ГЕРХ встановлено вірогідний приріст оксиду азоту в плазмі крові та слизовій стравоходу, позитивний кореляційний зв'язок загального NO та його метаболітів NO₂ та NO₃ у плазмі та слизовій стравоходу.

Ключові слова: діти з частими респіраторними захворюваннями, гастроєзофагеальна рефлюксна хвороба, оксид азоту, слизова стравоходу, кров.

Content of nitrogen oxide and its metabolites in blood and esophageal mucosa in children sickly with respiratory diseases against the background of gastroesophageal reflux disease

*T.V. Pochinok¹, O.V. Zhuravel¹, O.V. Chernov²*¹Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine²SI «Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology named after academician O. Lukanova of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv

Actuality. Nitric oxide provides vasodilatation of blood vessels, regulation of microcirculation, regulation of synthesis and secretion of hormones that affect the gastrointestinal motility (gastrointestinal tract), gastric secretion. There are few studies which confirm gastroprotective effect of this mediator. In other researches signed disorders of stomach motility when blocking NO-synthase.

The aim of research — to set the level of nitric oxide and its metabolites in blood plasma and esophagus mucous membrane in children with frequent respiratory diseases (FRD) and gastroesophageal reflux disease (GERD).

Materials and methods. 150 children of puberty age were examined and divided into three groups — children with frequent respiratory diseases (FRD) and concomitant gastroesophageal reflux disease (90 children, group 1), children with FRD without GERD (30 children, group 2), healthy children (30 children, group 3).

Abstract. A significant increase of total NO (29.5%) in children with RRI and GERD, NO₂ metabolite (27.4%) and NO₃ metabolite (40.2%) was established.

It has been found that frequent respiratory infections accompanied with significant increase of total NO and its metabolites in esophageal mucosa — total NO — 2.16 times, NO₃ — 2.1 times, NO₂ — 1.59 times, p<0.05; however, in RRI without GERD there is no significant difference revealed.

After regression analysis it was set direct linear relations between the content nitric oxide and its metabolites in esophagus mucous membrane and blood plasma. The regression between total NO level in plasma and esophagus mucous membrane was r=0.30 (p<0.05), NO₂ — r=0.29 (p<0.05), NO₃ — r=0.34 (p<0.05).

Conclusion. It was set the probable increase of nitric oxide in blood plasma and esophagus mucous membrane in GERD, positive correlation between NO and its metabolites NO₂ and NO₃ in plasma and mucous membrane.

Key words: children with recurrent respiratory infections, gastroesophageal reflux disease, nitric oxide, esophageal mucosa, blood.

Содержание оксида азота и его метаболитов в крови и слизистой пищевода у детей с частыми респираторными заболеваниями на фоне гастроэзофагеальной рефлюксной болезни

*Т.В. Починок¹, Е.В. Журавель¹, А.В. Чернов²*¹Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина²ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины», г. Киев

Оксид азота обеспечивает вазодилатацию кровеносных сосудов, регуляцию микроциркуляции, синтеза и секреции гормонов, влияющих на моторику желудочно-кишечного тракта и желудочную секрецию. Есть единичные исследования, подтверждающие гастропротекторный эффект этого медиатора на слизистую оболочку. В других источниках отмечается нарушение моторики желудка при блокировании NO-синтазы.

Цель — исследовать уровень оксида азота и его метаболитов в плазме крови и слизистой пищевода у детей с частыми респираторными заболеваниями (ЧРЗ) на фоне гастроэзофагеальной рефлюксной болезни (ГЭРБ).

Материалы и методы. Обследовано 150 детей пубертатного возраста. Выделены три группы наблюдения: дети с ЧРЗ на фоне ГЭРБ (90 детей, группа 1), дети с ЧРЗ без ГЭРБ (30 детей, группа 2), практически здоровые дети (30 детей, группа 3).

Результаты. Установлен достоверный прирост суммарного NO на 29,5% в плазме крови у детей с ЧРЗ на фоне ГЭРБ, метаболита нитрита азота (NO₂) — на 27,4%, метаболита нитрата азота (NO₃) — на 40,2%.

В слизистой пищевода выявлен существенный прирост метаболитов оксида азота при сопутствующей ГЭРБ (NO_{общий} — в 2,16 раза, NO₃ — в 2,1 раза, NO₂ — в 1,59 раза), однако в группе детей с ЧРЗ без сопутствующей ГЭРБ достоверной разницы относительно группы контроля не выявлено. При регрессионном анализе получена линейная прямая связь между содержанием оксида азота и его метаболитов в слизистой пищевода и плазме крови: $r=0,30$ ($p<0,05$), NO₂ — $r=0,29$ ($p<0,05$), NO₃ — $r=0,34$ ($p<0,05$).

Выводы. На фоне ГЭРБ установлен достоверный прирост оксида азота в плазме крови и слизистой пищевода, положительная корреляционная связь между содержанием общего NO и его метаболитов NO₂ и NO₃ в плазме и слизистой пищевода.

Ключевые слова: дети с частыми респираторными заболеваниями, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь, оксид азота, слизистая пищевода, кровь.

Вступ

Оксид азоту (NO) — біологічний медіатор в організмі людини. Він є високореактивною молекулою і наділений оксидантними властивостями, як безпосередньо, так і у формі більш токсичного пероксинітриду. Ці властивості обумовлюють бактерицидний і цитотоксичний ефекти NO і його захисні якості, які проявляються у стимуляції антимікробної активності і цитотоксичності [8]. У біологічній рідині NO потрапляє внаслідок утворення оксиду азоту та L-цитруліну із L-аргініну та O₂ із використанням NADPH під впливом різних ізоферментів синтази оксиду азоту (NOS): як конститутивних — eNOS, nNOS, так і індукцйбельної NOS (iNOS), індукція якої здійснюється прозапальними цитокінами (TNF, g-інтерфероном, IL-1b та іншими) [5,7].

Встановлено також, що NO забезпечує вазодилатацію кровоносних судин, регулювання мікроциркуляції, регуляцію синтезу і секреції гормонів, що впливають на моторику шлунково-кишкового тракту (ШКТ), шлункову секрецію [2,10].

Таким чином, NO може розглядатися як непрямий маркер активації запалення та міорелаксації, він бере участь у патофізіології багатьох захворювань, включаючи респіраторну патологію та гастроэзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ). Є поодинокі дослідження, які підтверджують гастропротекторний ефект цього медіатора на пошкоджену слизову. В інших джерелах відзначається порушення моторики шлунка при блокуванні NO-синтази [6]. Доведено вплив NO на роботу пілоричного відділу шлунка: низька його концентрація спостерігається при пілороспазмі, а висока сприяє розвитку дуоденогастрального рефлюксу [11]. Іншими авторами встановлено, що надлишок NO призводить до ослаблення нижнього стравохідного сфінктера та розвитку рефлюксоэзофагіту [1].

Таким чином, з огляду на багатогранний і неоднозначний характер ефектів NO, він зали-

шається предметом для подальшого докладного вивчення й уточнення його патогенетичного значення в розвитку респіраторної патології та гастроентерологічних захворювань, особливо у дітей [4].

Незважаючи на велику кількість експериментальних робіт, роль NO в розвитку запальної патології у терапевтичній і педіатричній клініках залишається до кінця не зрозумілою.

Мета роботи — дослідити рівень NO та його метаболітів у плазмі крові та слизовій стравоходу у дітей із частими респіраторними захворюваннями (ЧРЗ) на тлі ГЕРХ.

Матеріал і методи дослідження

Для реалізації мети та завдання дослідження було обстежено 150 дітей пубертатного віку (від 10 до 16 років, середній вік $13,1\pm 3,54$ року), що спостерігалися на клінічній базі кафедри педіатрії №1 «Центр первинної медико-санітарної допомоги №4» Деснянського району м. Києва. Усі підлітки мали ЧРЗ (6–8 разів на рік, тривалістю від 8 до 18 днів, у середньому $12,8\pm 5,41$ дня).

Серед обстежених було виділено три групи спостереження: діти з ЧРЗ на тлі ГЕРХ II ступеня (90 дітей, група 1), діти з ЧРЗ без ГЕРХ (30 дітей, група 2), а також група здорових дітей (30 дітей, група 3). Верифікація ГЕРХ проводилась відповідно до протоколу «Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) медичної допомоги. Гастроэзофагеальна рефлюксна хвороба» (наказ МОЗ України від 31.10.2013 р. №943) та за IV Римськими критеріями [9]. Групи були порівняними за віковим та гендерним розподілом.

Рівень сумарного вмісту метаболітів NO (NO сумарний) у плазмі крові та тканині стравоходу визначали фотометричним методом за допомогою напівавтоматичного аналізатора СФ-2000 (довжина хвилі — 540 нм) з використанням реактиву Грісса. Метод засновано на реакції деазотування сульфанілової кислоти

Таблиця 1

Рівень оксиду азоту в плазмі крові у дітей із ЧРЗ залежно від наявності супутньої ГЕРХ, M±m

Вміст метаболітів монооксиду нітрогену, мкмоль/л	Група 1 (n=90)	Група 2 (n=30)	Група 3 (n=30)
NO ₂	33,4±2,19**	30,1±2,11	26,2±1,27
NO ₃	49,5±3,15 **	42,6±1,83 *	35,3±2,11
NO сумарний	79,7±1,28 **	75,9±3,41 *	61,5±1,54

Примітка: * достовірність різниці між групою 3 та групою 2 (p<0,05 за NO₃; p<0,01 за NO_{зар.}); ** достовірність різниці між групою 1 та групою 2 (p<0,01 за NO та NO_{зар.}; p<0,05 за NO₂).

Таблиця 2

Рівень оксиду азоту в слизовій стравоходу дітей з ЧРЗ залежно від наявності супутньої ГЕРХ

Вміст метаболітів монооксиду нітрогену, мкмоль/л	Група 1 (n=90)	Група 2 (n=12)	Група 3 (n=10)
NO ₂	75,5±5,54**	46,3±7,36	47,5±5,46
NO ₃	144,3±5,68**	63,8±5,61	54,3±5,59
NO сумарний	219,8±7,69**	111,1±10,6	101,8±8,63

Примітка: ** достовірність різниці між групою 1 та групою 2 (p<0,01 за NO₂, NO₃ та NO сумарний).

з наявними у пробі нітратами та реакції отримання солі із альфа-нафтиламином з утворенням червоно-фіолетового або рожевого забарвлення. Інтенсивність забарвлення пропорційна концентрації нітратів [3]. Для визначення нітритів використовували діазотування на основі реакції Грісса. Нітрати відновлювали до нітритів з подальшим діазотуванням. Таким чином, отримували сумарне значення нітритів азоту (NO₂) і нітрату азоту (NO₃) у пробі. Нітрити визначали спектрофотометрично.

Для статистичного аналізу отриманих результатів використовували пакет програм обробки даних загального призначення Statistica for Windows версії 6.0 (Stat Soft inc., США). Нормальність розподілу перевіряли за допомогою тесту Колмогорова–Смірнова. Достовірність різниці визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. Для оцінки міри залежності між перемінними використовували кореляційний

аналіз за Пірсоном. При p<0,05 розбіжності вважали статистично вірогідними.

Дослідження виконані відповідно до принципів Гельсінської Декларації. Протокол дослідження ухвалений Локальним етичним комітетом (ЛЕК) всіх зазначених у роботі установ. На проведення досліджень було отримано поінформовану згоду батьків дітей (або їхніх опікунів).

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз вмісту NO та його метаболітів у дітей показав його вірогідний приріст у плазмі крові: сумарного NO на 23,4% у дітей з ЧРЗ та 29,5% у дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ, метаболіту NO₂ – на 14,9% та 27,4%, метаболіту NO₃ – на 14,9% та 40,2% відповідно (табл. 1).

Уміст NO у слизовій стравоходу досліджувався у 90 дітей 1 групи та 12 дітей 2 групи та порівнювався з референтними показниками.

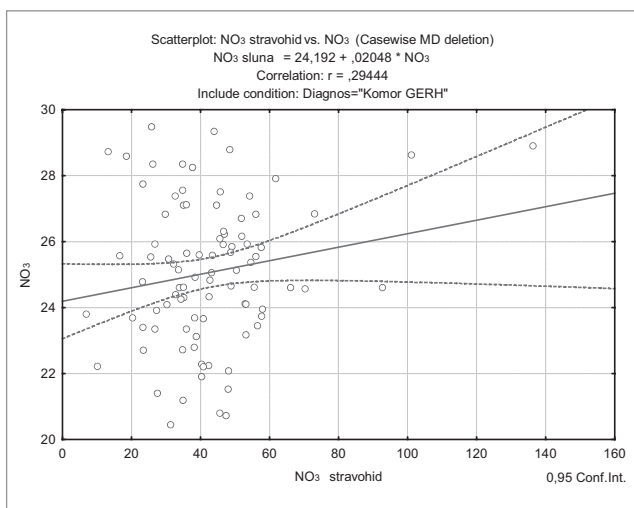


Рис. 1. Кореляційний зв'язок між вмістом метаболіту NO₃ у слизовій стравоходу та плазмі крові у дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ

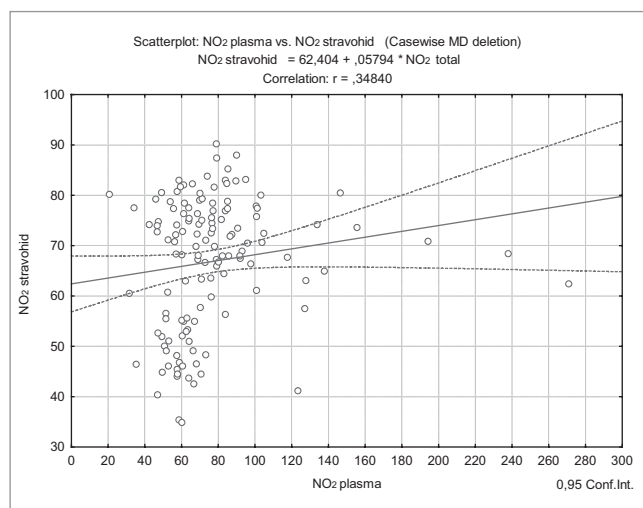


Рис. 2. Кореляційний зв'язок між вмістом метаболіту NO₂ у слизовій стравоходу та плазмі крові у дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ

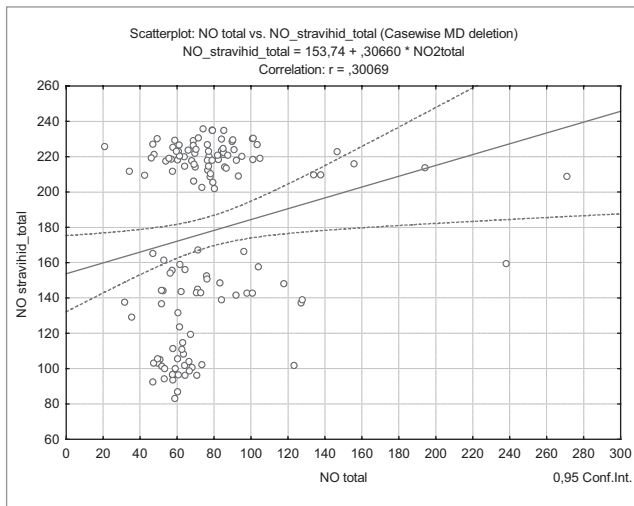


Рис. 3. Кореляційний зв'язок між вмістом метаболіту NO сумарного у слизовій стравоходу та плазмі крові у дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ

Встановлено суттєвий приріст даного медіатора в слизовій стравоходу дітей з ЧРЗ при супутній ГЕРХ (NO сумарний – у 2,16 разу, NO₃ – у 2,1 разу, NO₂ – у 1,59 разу), проте в групі дітей із ЧРЗ без ГЕРХ вірогідної різниці щодо групи контролю не виявлено (табл. 2).

У групі дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ (група 1) проведено лінійний регресійний аналіз та визначено взаємозв'язок між вмістом NO та його метаболітів у плазмі крові і тканині стравоходу. В усіх випадках отримано прямий кореляційний зв'язок середньої сили. Зокрема отримано вірогідний кореляційний зв'язок щодо вмісту метаболіту NO₃ слизової стравоходу та плазми крові $r=0,29$ ($p<0,05$) (рис. 1). Відносно метаболіту NO₂ слизової стравоходу та плазми крові прямий регресійний зв'язок встановлено

ЛІТЕРАТУРА

1. Kireeva KV, Kankova NYu, Shabunina EI et al. (2015). Changes in the Content of Nitric Oxide Derivatives in Children with Inflammatory Diseases of the Esophagus and the Stomach. Medical Almanac. Pediatrics. 4 (39):118–121.
2. Kirnus NI, Artamonov RG, Smirnov IE. (2007). Nitric Oxide and Chronic Diseases of the Digestive Tract in Children. Pediatrics. 86 (5):113–116.
3. Metelskaya VA, Gumanova NG. (2005). Screening Method for Determining the Level of Nitric Oxide Metabolites in Blood Serum. Clinical Laboratory Diagnostics. 6:15–18.
4. Somova LM, Plekhova NG. (2006). Nitric Oxide as a Mediator of Inflammation. Bulletin of the Far East Branch of the Russian Academy of Sciences. 2:77–80.
5. Cirino G, Distrutti E, Wallace JL. (2006). Nitric oxide and inflammation. Inflammation & Allergy-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Inflammation & Allergy). 5(2):115–119.
6. Kuiken SD, Tytgat GN, Boeckstaens GE. (2002). Role of endogenous nitric oxide in regulating antropyloroduodenal motility

на рівні $r=0,35$ ($p<0,05$) (рис. 2). Відносно загального NO слизової стравоходу та плазми крові пряма лінійна регресія становила $r=0,30$ ($p<0,05$) (рис. 3).

Тобто проведені дослідження свідчать, що у дітей з частою респіраторною патологією суттєво змінюється локальна продукція NO, причому наявність супутньої ГЕРХ вірогідно поглиблює цей процес. Збільшення секреції NO у дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ має важливе значення у патогенезі патологічних процесів слизової стравоходу, а також у підтримці запалення верхніх дихальних шляхів. Встановлені закономірності змін продукції оксиду азоту та цитокінів можуть використовуватися для розробки показань до лікування та оцінки ефективності лікування ГЕРХ та респіраторної патології у дітей.

Висновки

1. У дітей з ЧРЗ на тлі ГЕРХ встановлено вірогідний приріст NO у плазмі крові.

2. Стосовно аналізу вмісту NO у слизовій стравоходу встановлено суттєвий приріст медіатора при супутній ГЕРХ, проте в групі дітей з ЧРЗ без супутньої ГЕРХ вірогідної різниці щодо групи контролю не встановлено.

3. При оцінці лінійного регресійного зв'язку між вмістом NO та його метаболітів у плазмі крові та тканині стравоходу в усіх випадках було отримано позитивний кореляційний зв'язок – відносно загального NO, а також його метаболітів NO₂ та NO₃.

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

7. Lane C, Knight D, Burgess S. et al. (2004). Epithelial inducible nitric oxide synthase activity is the major determinant of nitric oxide concentration in exhaled breath. Thorax. 59(9):757–760.
8. Lok HC, Sahni S, Jansson PJ. et al. (2016). A nitric oxide storage and transport system that protects activated macrophages from endogenous nitric oxide cytotoxicity. Journal of Biological Chemistry. 291(53):27042–27061.
9. Schmulson M. (2018). How to use Rome IV criteria in the evaluation of esophageal disorders. Current opinion in gastroenterology. 34(4):258–265.
10. Shah V, Lyford G, Gores G, Farrugia G. (2004). Nitric oxide in gastrointestinal health and disease. Gastroenterology. 126(3):903–913.
11. Sivarao DV, Mashimo H, Goyal RK. (2008). Pyloric sphincter dysfunction in nNOS^{+/+} and W/W mutant mice: animal models of gastroparesis and duodenogastric reflux. Gastroenterology. 135(4):1258–1266.

Сведения об авторах:

Починко Татьяна Викторовна — д.мед.н., проф. каф. педиатрии №1 НМУ имени А.А. Богомольца. Адрес: г. Киев, ул. Н. Коцюбинського, 8-А; тел. (044) 465-17-89.

Журавель Елена Валентиновна — аспирант каф. педиатрии №1 НМУ имени А.А. Богомольца. Адрес: г. Киев, ул. Н. Коцюбинського, 8-А; тел. (044) 465-17-89.

Чернов Александр Владимирович — м.н.с. лаборатории иммунологии ГУ «ИПАГ имени академика Е.М. Лукьяновой НАМН Украины».

Адрес: г. Киев, ул. Платона Майборды, 8; тел. (044) 484-18-71.

Статья поступила в редакцию 14.11.2018 г.; принята в печать 04.03.2019 г.