

СТАБИЛИЗИРУЮЩЕЕ ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «САЛОФАЛЬК» НА СЛИЗИСТЫЙ БАРЬЕР ТОЛСТОЙ КИШКИ У БОЛЬНЫХ НЕСПЕЦИФИЧЕСКИМ ЯЗВЕННЫМ КОЛИТОМ

А.Э. Дорофеев

Донецкий государственный медицинский университет имени М. Горького

Ключевые слова: неспецифический язвенный колит, «Салофальк», слизистый барьер толстой кишки.

Сложность и многоступенчатость патогенеза неспецифического язвенного колита (НЯК), гетерогенность возникающих иммунных и метаболических сдвигов определяют необходимость во включении в терапевтический комплекс больных НЯК противовоспалительной терапии [1, 5, 8]. Эффективность препаратов, входящих в базисную терапию НЯК, оценивается по уменьшению или устранению развившихся воспалительных, цитокиновых, иммунных и морфологических нарушений [9]. При этом исчезновение этих изменений свидетельствует о ликвидации острого воспаления в кишечнике, индукции ремиссии НЯК. Прогнозирование стабильности ремиссии в большей степени может быть связано с нормализацией слизистого барьера толстой кишки. Состояние слизистого барьера толстой кишки определяется функциональными изменениями ее слизистой оболочки, свойствами толстокишечной слизи и количественным и качественным составом кишечной микрофлоры [2, 4, 6]. Влияние базисной терапии НЯК на слизистый толстокишечный барьер позволит не только оценить эффективность ликвидации обострения, но и прогнозировать дальнейшее течение заболевания.

Одним из основных препаратов базисной терапии НЯК в настоящее время является «Салофальк®», который блокирует липоксигеназный путь метаболизма арахидоновой кислоты и за счет этого обладает выраженной противовоспалительной активностью. Влияние препарата на состояние слизистого барьера толстой кишки у больных НЯК изучено недостаточно.

Целью данной работы была оценка влияния «Салофалька» на слизистый барьер толстой кишки у больных НЯК.

Материалы и методы исследования

Было обследовано 30 больных с левосторонним НЯК в стадию обострения (16 мужчин и 14 женщин). Средний возраст больных составлял $(36,2 \pm 4,2)$ года. Помимо общеклинических методов обследования, у всех больных НЯК было проведено повторное эндоскопическое исследование с биопсией слизистой оболочки толстой кишки и морфологическим исследованием биоптата. Биоптат слизистой оболочки толстой кишки фиксировали в 4% растворе нейтрального формалина на 1 сут с последующей заливкой в парафин. Гистологические срезы толщиной 4–5 микрон производили на микротоме для парафино-

вых срезов. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, что позволило получить общие представления и оценить состояние ткани. По этому препарату оценивали выраженность воспаления в слизистой оболочке толстой кишки, интенсивность и клеточный состав инфильтрата, количество и зрелость бокаловидных [7]. Для характеристики слизеобразования проводили PAS-реакцию, с помощью которой выявляли гликопротеиды, гликолипиды и гликоген. Определяли количество PAS-положительных веществ в слизи и активных лейкоцитов, содержащих гликоген в клеточном инфильтрате. Другие срезы окрашивали альциановым синим при значениях pH 1,0 и 2,5. При pH 1,0 сульфатные группы углеводов приобретают достаточный заряд для связывания положительно заряженных молекул красителя. При pH 2,5 окрашивали как сульфатные, так и карбоксильные группы углеводов, которые входят в состав сиаловых, глюкуроновой и индуриновой кислот. С помощью этой методики определяли сульфатированные и несulfатированные гликозамингликаны, протеогликаны, гликопротеины и гликоген [4, 7]. Проводили также лектинную гистохимию с использованием меченых пероксидазой лектинов. Применяли следующие лектины: завязей пшеницы тропного-WGA к N-ацетилглюкозамину, N-ацетилнейраминановой кислоте (сиаловой кислоте) (NANA), арахиса-PNA тропного к β -D-галактозе (β -D-Gal), бобовника анагиралистного-LAL тропного к α -L-фукозе (α -L-Fuc), омель белой-ML-1 тропного к α -L-галактозе (α -DGal), сои-SBA тропного к α -N-ацетилгалактозамину (α -DGalNAc), D-галактозе, семян чечевицы-LCA тропного к α -D-манозе (α -DMan), D-глюкозе, N-ацетилглюкозамину, виноградной улитки-NPA тропного к α -N-ацетилглюкозамину (α -GlcNAc), бузины черной-SNA тропного к D-галактозамину (α -GalNAc). Летинная гистохимия по чувствительности и селективности в выявлении определенных молекулярных структур значительно превосходит традиционные методы гистохимии углеводов, что позволяет использовать этот метод для определения отдельных олиго- и дисахаридов при расшифровке состава муцинов. Кроме того, по ней можно оценивать количество специфических рецепторов не только в эпителиальных клетках, но и в строме. Состояние рецепторного аппарата колоноцитов во многом определяет возможности колонизации микрофлоры толстой кишки, ее жизнедеятельность и состав [3, 4, 7].

В динамике изучали состояние микрофлоры толстой кишки, определяли количественный и качественный составы облигатной и факультативной флоры. Кал брали утром в стерильную посуду и в течение 45 мин доставляли в микробиологическую лабораторию. Определяли количество бифидобактерий, лактобацилл, кишечной палочки с исследованием ее ферментативных свойств, изучали количественный и качественный составы факультативной флоры с исследованием количества стафилококков и их ферментативных свойств, стрепто- и энтерококков, клостридий, клебсиелл, протей, энтеробактера, цитобактера, грибов рода *Candida*.

Все больные в качестве базисной терапии получали «Салюфальк» (по 3,0 г/сут в течение 30 сут). Эндоскопические, морфологические и микробиологические исследования проводили до начала терапии и после ее окончания.

Результаты и их обсуждение

Клиника НЯК была типичной и характеризовалась нарушениями стула, поносом до 20 раз в день с примесью в кале крови и слизи, тенезмами, ночными дефекациями, вздутием кишечника, болевым, астено-невротическим синдромами. У 18 (60,0%) больных выявлено среднетяжелое течение НЯК, а у 12 (40,0%) диагностировано легкое его течение. Для оценки динамики состояния больного и определения эффективности терапии определяли активность заболевания по индексу клинической активности. Индекс высчитывали в баллах [10]. Индекс клинической активности у больных НЯК составил $(10,54 \pm 0,91)$ балла. При эндоскопическом исследовании у всех больных до терапии выявляли гиперемию слизистой оболочки толстой кишки с изменением сосудистого рисунка, отечность слизистой оболочки толстой кишки с «зернистостью» — грануляциями мембранной поверхности, рассеивающими отраженный свет. Эрозии или язвы, повышенная ранимость слизистой оболочки толстой кишки, примеси слизи, фибрина, гноя обнаружены практически у всех больных, и степень выраженности этих изменений коррелировала со степенью тяжести НЯК.

Для объективизации динамической оценки эндоскопических изменений слизистой оболочки толстой кишки у больных НЯК определяли эндоскопический индекс, который включал наличие грануляций мембранной поверхности слизистой оболочки, рассеивающих отраженный свет, изменений сосудистого рисунка, ранимость и контактную кровоточивость, поражения слизистой оболочки (эрозии, язвы, фибрин, слизь) и высчитывали в баллах [11]. Эндоскопический индекс в целом составил $(7,2 \pm 0,7)$ балла.

До терапии у всех больных НЯК выявлено уменьшение количества бокаловидных клеток, но степень их уменьшения коррелировала с тяжестью НЯК и варьировала от незначительного уменьшения количества бокаловидных клеток с преобладанием клеток с мелкими, незрелыми вакуолями у больных НЯК при легкой степени, до выраженного снижения и иногда полного их отсутствия у пациентов со среднетяжелым течением НЯК. Выявлены истончение, дистрофия поверхностного эпителия с перестройкой крипт. Кроме того, у всех больных были дефекты поверх-

ностного эпителия от микроэрозий до глубоких язв, заполненных некротическими массами. На этом фоне у всех больных НЯК выявлена усиленная воспалительная клеточная инфильтрация слизистой оболочки толстой кишки, интенсивность которой колебалась от умеренной до выраженной.

В воспалительном клеточном инфильтрате у 24 (80,0%) больных НЯК чаще преобладали лимфоциты, у 18 (60,0%) пациентов плазмочиты, а у 14 (46,7%) больных макрофаги. Нейтрофилы обнаруживались в инфильтрате 18 (60,0%) больных НЯК, при этом активные сегментоядерные лейкоциты, содержащие гликоген, — у 13 (43,3%) пациентов. Более чем у половины больных НЯК выявляли внутриэпителиальные лимфоциты, что может быть маркером активности процесса.

Помимо изменений клеточного состава слизистой оболочки толстой кишки, у больных НЯК было нарушено слизееобразование. У всех их выявлено уменьшение количества внутриклеточной и внеклеточной слизи с изменением ее свойств. При PAS-реакции, окрашивании альциановым синим pH 2,5 и pH 1,0, лектинами интенсивность окрашивания у всех больных НЯК была ниже нормы ($P < 0,01$), что свидетельствует об изменениях состава толстокишечной слизи, уменьшении в ней количества гликозамингликанов и гликопротеинов. Количество N-ацетилнейраминной кислоты, сиаловых кислот (окраска WGA) у больных левосторонним НЯК было снижено. При уменьшении общего количества галактозы (окраска PNA и ML-1) выявляли модификации ее изомеров. Если уровень b-D-галактозы по мере роста степени тяжести НЯК достоверно снижался (окраска PNA), то содержание α -D-галактозы (окраска ML-1) у больных с различной степенью тяжести НЯК достоверно не отличалось. Количество галактозамина и фукозы (окраска SBA SNA и LAL) было достоверно снижено у всех больных НЯК. Уровень маннозы (окраска LCA) был минимальным у пациентов с левосторонним НЯК средней тяжести, а у больных с легким течением НЯК снижался незначительно. Во то же время концентрация глюкозы и глюкозамина (окраска HPA) существенно не изменялась у больных с различной степенью тяжести НЯК.

На фоне изменения количества толстокишечной слизи, ее свойств отмечено нарушение микробного пейзажа толстой кишки у больных НЯК до терапии. Патогенные микроорганизмы не были выделены ни у одного больного, а облигатная флора (бифидобактерии, лактобациллы и кишечная палочка высевались) почти у всех больных (96,7, 96,7, 100,0% соответственно). В целом по группе больных НЯК бифидобактерии и лактобациллы высевались реже, чем у здоровых, при этом их количество и удельный вес были достоверно снижены. У больных НЯК при уменьшении количества кишечной палочки отмечались повышение ее удельного веса ($20,5\% \pm 2,0\%$ у больных НЯК и $16,6\% \pm 1,8\%$ у здоровых; $P < 0,05$), а также модификация ее ферментативных свойств с увеличением количества штаммов со сниженной ферментативной активностью и гемолизующих форм *E. coli*. Энтерококи, которые высевались у всех здоровых людей, выделены лишь у 13 (43,3%) больных НЯК ($P < 0,01$). Чаще всего высевались энтеро-

кокки видов *E. faecalis*, *E. aerogenes*. Количество и удельный вес энтерококков в общей бактериальной популяции достоверно не изменялись. Уменьшение количества облигатной флоры приводило к снижению колонизационной резистентности и росту уровня факультативных бактерий. Энтеробактер у больных НЯК высевался достоверно чаще, чем у здоровых (40,08 и 24,0% соответственно; $P < 0,01$). При этом его количество и удельный вес также достоверно превышали показатели нормы. Наиболее часто высевались *E. agglomerans*, *E. gergoviae*, *E. sakazaki*. Частота встречаемости стистафилококков у больных НЯК была несколько выше, чем у здоровых, однако их количество и удельный вес у пациентов с НЯК достоверно не отличались. У больных НЯК, как и у здоровых, чаще высевались *S. epidermidis*, *S. aureus*. Клебсиеллы высевались достоверно чаще у больных НЯК (14, или 46,7% пациентов), при этом их количество возрастало почти в 3,5 раза, а удельный вес в 9,8 раза. Чаще всего у больных НЯК встречались *K. охубоса*, *K. рнеитоніае*. Клостридии у больных НЯК также высевались достоверно чаще. Они выделены у 12 (40,0%) больных, при этом их количество не отличалось от нормы, но удельный вес был почти в 3 раза выше, чем у здоровых. Частота высеваемости протей у больных НЯК была выше, чем у здоровых лиц, в 2,3 раза. Протей выделен у 11 (36,7%) пациентов. Его количество было выше нормы в 5,25 раза и составляло ($2,52 \pm 0,22$) Ig КОЕ/г при норме ($0,48 \pm 0,19$) Ig КОЕ/г ($P < 0,001$). При этом его удельный вес превышал норму в 14,5 раза ($P < 0,001$). Чаще у больных НЯК высевался протей рода *P. mirabilis*. Количество цитобактера у больных НЯК достоверно превышало норму ($2,28 \pm 0,22$ Ig КОЕ/г и $1,79 \pm 0,32$ Ig КОЕ/г соответственно; $P < 0,05$), а удельный вес был в 22 раза выше, чем у здоровых ($P < 0,0001$). Грибы вида *Candida* у больных НЯК высевались с той

же частотой, что и у здоровых лиц, а их количество и удельный вес соответствовал норме.

Таким образом, у больных НЯК развивается дисбактериоз, который характеризуется снижением частоты встречаемости, количества и удельного веса облигатной флоры и увеличением показателей факультативных бактерий. Дисбактериоз на фоне нарушения метаболизма клеток кишечного эпителия, изменения синтеза слизи и ее химизма способствуют повышению проницаемости слизистого барьера толстой кишки, что приводит к усилению воспаления, развитию более распространенного процесса в толстой кишке и может способствовать формированию внекишечных проявлений.

На фоне терапии состояние больных достоверно улучшалось. На фоне 30 сут лечения положительная клиническая динамика с улучшением самочувствия и уменьшением клинической симптоматики отмечена у всех больных НЯК. В то же время клиническая ремиссия НЯК выявлена у 27 (90,0%) больных, а эндоскопическая — у 25 (83,3%) пациентов. На ($16,9 \pm 2,1$) сутки у больных НЯК отмечено исчезновения болевого синдрома, тенезмов, ночного стула. Нормализация частоты стула исчезновение примеси крови и слизи в кале, вздутия и урчания в кишечнике отмечали только у больных на фоне достижения полной клинической ремиссии. В целом после терапии индекс клинической активности составил ($2,89 \pm 0,31$) балла, а эндоскопический — ($2,3 \pm 0,3$) балла, что может свидетельствовать о достаточно высокой эффективности лечения.

На фоне положительной клинической динамики у больных НЯК отмечена тенденция к нормализации микробного пейзажа толстой кишки (табл. 1). На фоне терапии повышалось общее количество кишечной палочки, при этом уменьшалось количество кишечной палочки со сниженными ферментативными

Таблица 1. Кишечная флора больных НЯК до и после лечения, Ig КОЕ/г

Количество бактерий	До лечения	После терапии
<i>Escherichia</i>	$6,75 \pm 0,61$	$7,02 \pm 0,71$
<i>E. coli</i> со сниженными ферментативными свойствами	$4,61 \pm 0,46$	$3,12 \pm 0,41^*$
<i>E. coli</i> -гемолизующие штаммы	$3,34 \pm 0,33$	$2,45 \pm 0,31^*$
<i>Bifidobacterium</i>	$7,29 \pm 0,71$	$7,48 \pm 0,74$
<i>Lactobacillus</i>	$5,77 \pm 0,51$	$5,89 \pm 0,59$
<i>Staphylococcus</i>	$4,41 \pm 0,43$	$4,32 \pm 0,43$
<i>Enterococcus</i>	$7,33 \pm 0,63$	$7,35 \pm 0,73$
<i>Enterobacter</i>	$2,81 \pm 0,21$	$2,02 \pm 0,23^*$
<i>Klebsiella</i>	$3,46 \pm 0,31$	$3,25 \pm 0,32$
<i>Clostridium</i>	$4,95 \pm 0,47$	$4,86 \pm 0,48$
<i>Proteus</i>	$2,52 \pm 0,25$	$1,94 \pm 0,21^*$
<i>Citobacter</i>	$2,28 \pm 0,22$	$1,90 \pm 0,19^*$
<i>Candida</i>	$3,50 \pm 0,35$	$2,98 \pm 0,29$

Примечание. * $P < 0,05$ при сравнении показателей больных НЯК до и после лечения.

Таблиця 2. Показатели лектинной гистохимии у больных НЯК до и после терапии, усл. ед.

Тип лектина	Норма	До лечения	После терапии
WGA	3,80 ± 0,32	2,26 ± 0,21	2,91 ± 0,30*
PNA	3,80 ± 0,32	1,63 ± 0,21	2,31 ± 0,23*
LAL	3,80 ± 0,32	0,75 ± 0,08	1,01 ± 0,12
ML-1	3,70 ± 0,32	0,40 ± 0,04	1,04 ± 0,11*
SBA	3,60 ± 0,33	0,80 ± 0,08	1,50 ± 0,14*
LCA	3,40 ± 0,33	0,82 ± 0,08	1,13 ± 0,11
SNA	3,40 ± 0,33	1,29 ± 0,13	1,67 ± 0,17
HPA	3,30 ± 0,33	0,72 ± 0,06	1,0 ± 0,12*

Примечание. * $P < 0,05$ при сравнении показателей больных НЯК до и после лечения.

свойствами и гемолизирующих штаммов *E. coli*. Количество бифидобактерий и лактобацилл на фоне терапии достоверно не менялось. В то же время после лечения у больных НЯК отмечена тенденция к уменьшению количества факультативной флоры. При использовании «Салофалька» выявлено достоверное снижение количества энтеробактера, протей и цитобактера ($P < 0,05$).

Следовательно, на фоне базисной терапии НЯК с включением «Салофалька» отмечается тенденция к нормализации микробного пейзажа толстой кишки с увеличением количества кишечной палочки и нормализацией ее ферментативных свойств, уменьшением количества энтеробактера, протей, цитобактера. Возможно, это связано с улучшением метаболизма слизистой оболочки толстой кишки и тенденцией к нормализации слизиобразования в ней.

После лечения у всех больных выявлена положительная гистологическая динамика, которая выражалась в снижении интенсивности клеточной инфильтрации слизистой оболочки толстой кишки. Гистологическая ремиссия выявлена у 24 (80,0%) больных НЯК. Следует отметить, что у 6 (20,0%) больных, у которых выявляли сегментоядерные лейкоциты в клеточном инфильтрате до лечения, эти клетки были и после терапии. В то же время после лечения сегментоядерные лейкоциты, обнаруживаемые в слизистой оболочке толстой кишки, не содержали гликоген, что свидетельствует об отсутствии местной воспалительной активности. После лечения количество бокаловидных клеток увеличивалось, они содержали более зрелую слизь. У 10 (30,0%) больных НЯК количество бокаловидных клеток, содержащих зрелую слизь, было в норме. Почти у всех больных была повышена ин-

тенсивность окрашивания при проведении PAS-реакции и использовании методики с альциановым синим, особенно при pH 2,5. Это свидетельствует о нормализации процессов слизиобразования и соотношения сульфатированных и несulfатированных гликозамингликанов в кишечной слизи.

Количество отдельных моносахаридов слизи у больных после терапии повышалось (табл. 2). Количество галактозы (окраска PNA и ML-1), уровень глюкозы и глюкозамина (окраска HPA) достоверно возрастали, но содержание галактозамина, фукозы, маннозы слизи (окраска SNA, LAL, LCA) увеличивалось недостоверно. Полной нормализации слизиобразования у больных НЯК не наблюдалось, поэтому рекомендовали продолжить прием «Салофалька» для поддержания ремиссии. Улучшение слизиобразования на фоне применения «Салофалька» у больных НЯК способствовало более стабильной и длительной ремиссии. Если у больных, не принимавших поддерживающую дозу препарата, ремиссия длилась (9,2 ± 1,1) мес, то у пациентов, получавших «Салофалька» в период ремиссии, продолжительность ее составляла (14,1 ± 1,4) мес ($P < 0,05$).

Таким образом, применение «Салофалька» является эффективным у больных НЯК. Он оказывает не только выраженный противовоспалительный эффект, но и способствует нормализации процессов слизиобразования, стимулирует продукцию слизи, ее созревание. Возможно, это обуславливает нормализацию количества и ферментативных свойств кишечной палочки и тенденцию к уменьшению количества факультативной флоры. Это способствует более стабильной и длительной ремиссии НЯК у таких больных.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Адлер Г. Болезнь Крона и язвенный колит.— М.: Геотар Мед, 2001.— 500 с.
2. Анохина Г.А., Скопиченко С.В. Современные аспекты микробиологического дисбаланса, профилактика и лечение // Журн. практ. лікаря.— 2001.— № 3.— С. 28—33.
3. Барановский А.Ю., Кондрашина Э.Л. Дисбактериоз и дисбиоз кишечника.— СПб.: Питер, 2000.— 224 с.
4. Парфенов А.И. Энтерология.— М.: Триада-Х, 2002.— 744 с.

5. Фарелл Р., Пепперкорн М. Язвенный колит // Межд. мед. журн.— 2003.— Т. 6, № 1.— С. 73—80.
6. Alander M., Korpela R., Saxelin M. Recovery of *Lactobacillus rhamnosus* GG from human colonic biopsies // Letters in Applied Microbiology.— 1997.— № 24.— P. 361—364.
7. Epithelial cells in inflammatory bowel disease / Rogler G., Daig R., Aschenbrenner E. et al. // Inflammatory Bowel Diseases from Bench to Bedside.— Dordrecht—Boston—London: Kluwer Acad. Publishers, 1997.— P. 103—116.

8. Gastroenterology: third edition / Yamada T., Alpers D.H., Laine L. et al.— Washington: Williams & Wilkins, 1999.— 1384 p.
 9. *Hanauer S.B.* Medical therapy for ulcerative colitis // *Curr. Opin. Gastroenterol.*— 2000.— Vol. 16, N 4.— P. 324—328.

10. *Inflammatory Bowel Diseases* / D. Rachmilewitz.— Dordrecht—Boston—London: Kluwer Acad. Publishers, 1994.— 297 p.
 11. *Scholmerich J.* Inflammatory bowel disease // *Endoscopy.*— 1999.— N 1.— P. 66—73.

СТАБІЛІЗУЮЧИЙ ВПЛИВ ПРЕПАРАТУ «САЛОФАЛЬК» НА СЛИЗОВИЙ БАР'ЄР ТОВСТОЇ КИШКИ У ХВОРИХ НА НЕСПЕЦИФІЧНИЙ ВИРАЗКОВИЙ КОЛІТ

А.Е. Дорофєєв

Метою цієї роботи була оцінка впливу «Салофальку» на слизовий бар'єр товстої кишки у хворих на неспецифічний виразковий коліт (НВК). Обстежено 30 хворих з лівобічним НВК у стадію загострення (16 чоловіків та 14 жінок). Окрім загальноклінічних методів дослідження, в усіх хворих на НВК було проведено ендоскопію з біопсією слизової оболонки товстої кишки та морфологічним дослідженням біоптату, а також вивчення мікробного пейзажу кишечника. Застосування «Салофальку» є ефективним у хворих на НВК. Він справляє не тільки протизапальний вплив, а й сприяє нормалізації процесів слизотворення, стимулює продукцію слизу, що, можливо, зумовлює нормалізацію кількості та ферментативних властивостей кишкової палички і тенденцію до зменшення кількості факультативної флори. Це сприяє стабільній та тривалій ремісії НВК.

STABILIZING EFFECTS OF SALOFALK ON COLONIC MUCOUS BARRIER IN PATIENTS WITH NONSPECIFIC ULCERATIVE COLITIS

A.E. Dorofeyev

The aim of this study was to evaluate Salofalk effects on colonic mucous barrier in patients with nonspecific ulcerative colitis (NUC). 30 patients with left-side NUC in exacerbation stage were examined (16 men and 14 women). Besides routine general clinical examinations, all NUC patients were undergone colon endoscopic examination with colonic mucosa biopsy and microbiological examination of colonic flora, as well as exams of intestine microbial landscape. Salofalk administration appears to be effective in NUC patients. It has not only anti-inflammatory effects, but also stimulates promotes normalization of mucus-producing processes, stimulates mucosa production, which probably serves as a ground for normalization of E.coli level and fermentative abilities and a trend to decrease of facultative flora levels. These favors stable and prolonged remission in NUC patients.