

Г.Г. Ерзнкян, Е.С. Татина, Б.Ж. Култанов

*Карагандинский государственный медицинский университет, Казахстан  
(E-mail: gor1959@mail.ru)*

## **Изменение содержания внеклеточных нуклеиновых кислот в крови больных при осложненных формах язвенной болезни**

В статье приведены результаты исследования содержания циркулирующих внеклеточных нуклеиновых кислот в крови у людей при осложненных формах язвенной болезни. По литературным данным известно, что функциональные нарушения в клетках приводят к снижению резистентности слизистых оболочек гастродуоденальной области, поэтому изучение язвенной болезни невозможно без изучения клеточной патологии. Обследовано 60 человек с целью изучения содержания циркулирующих внеклеточных нуклеиновых кислот в крови при осложненных формах язвенной болезни. У всех пациентов, находившихся на стационарном лечении в Центральной больнице г. Темиртау, диагноз был подтвержден методом фиброгастродуоденоскопии. Полученные результаты показали усиление процесса распада клеток при язвенной болезни, что приводит к накоплению циркулирующих нуклеиновых кислот в крови. Проведенные исследования позволяют предположить, что изменение концентрации внеклеточных нуклеиновых кислот в крови у лиц с язвенной болезнью на стадии обострения может быть обусловлено эндогенной интоксикацией, вызванной продуктами окислительного стресса.

*Ключевые слова:* внеклеточные нуклеиновые кислоты, язвенная болезнь, кислоторастворимые фракции (КРФ) плазмы, РНК плазмы, ДНК плазмы, окислительный стресс.

### *Введение*

В современных условиях большинство болезней относят к «болезням цивилизации» из-за прогрессирующего роста распространенности в развитых странах. В общей структуре заболеваний органов пищеварения ведущее место занимает язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки.

Актуальность данной темы исследования в том, что язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки на сегодняшний день остается одной из важнейших проблем здравоохранения. Заболеванием чаще всего страдают люди наиболее активного, работоспособного возраста, что обуславливает социальную значимость проблемы.

Являясь самым распространенным заболеванием органов пищеварения среди взрослого населения, язвенная болезнь нередко ведет к развитию осложнений, которые угрожают жизни пациентов. Уменьшить число осложнений — важнейшая задача клинической медицины. Актуальной является разработка рекомендаций по уменьшению факторов, способствующих развитию осложнений при язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки [1]. Язвенная болезнь — это хроническое рецидивирующее заболевание, склонное к прогрессированию и развитию осложнений, которые наблюдаются примерно у 30% всех больных язвенной болезнью; сочетается с патологией других органов и систем.

Язвенное кровотечение — одно из наиболее частых и опасных осложнений язвенной болезни, причем дуоденальные язвы кровоточат чаще, чем желудочные. Язвенное кровотечение обычно возникает на фоне симптомов обострения язвенной болезни (голодная боль, изжога и др.), но у некоторых больных оно может быть первым признаком рецидива язвы. Скрытое (оккультное) кровотечение почти всегда сопутствует обострению язвенной болезни, хотя, как правило, остается незамеченным и не считается ее осложнением. Обычно диагностируют лишь массивные (профузные) кровотечения с кровавой рвотой и меленой [2].

Язвенное кровотечение обычно возникает при обострении язвенной болезни желудка, но чаще при обострении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки на фоне хронического активного гастрита и дуоденита, ассоциированных с инфекцией *helicobacter pylori* у больных, которым либо не проводилась эрадикационная терапия, либо она не увенчалась ликвидацией этой бактерии в гастродуоденальной слизистой оболочке. Нередко провоцирующими факторами в развитии язвенного кровотечения, по данным других авторов, являются нестероидные противовоспалительные средства, алкоголь и другие агрессивные факторы (коагулянты и др.) [3].

Перфорация язвы в брюшную полость — грозное осложнение язвенной болезни и симптоматических язв. Язвы чаще перфорируют во время обострений язвенной болезни. К осложнениям язвенной болезни также относится пенетрация, стеноз привратника, малигнизация язвы.

В настоящее время, учитывая не только медицинскую, но и социальную значимость, патология желудка и двенадцатиперстной кишки, новые методы диагностики, лечения и профилактики заболеваний желудка привлекают внимание педиатров, генетиков, патофизиологов, иммунологов [4].

В последнее время внимание ученых привлекают циркулирующие нуклеиновые кислоты. Изучать циркулирующие нуклеиновые кислоты стали после того, как стало известно, что концентрация кислоты увеличивается при различных патологиях. Это дает возможность ранней диагностики и определяет прогностическую цель при лучевом облучении, онкологических, аутоиммунных заболеваниях, гельминтозных инвазиях, невралгических расстройствах [5, 6]. Механизмы, приводящие к появлению и обеспечивающие долговременную циркуляцию внеклеточных нуклеиновых кислот, равно как и их биологические функции, в настоящее время мало исследованы. Одним из простых объяснений появления внеклеточных ДНК могут быть постоянно идущие процессы отмирания клеток и деградации их хроматина. По данным одних авторов, основными процессами, приводящими к появлению циркулирующих нуклеиновых кислот, являются апоптоз и некроз. Другие же авторы считают, что клетки могут активно секретировать нуклеиновые кислоты, и этот процесс также вносит вклад в появление внеклеточных нуклеиновых кислот в кровотоке.

Патогенетические процессы, приводящие к повышению уровня внеклеточных нуклеиновых кислот в крови при заболеваниях, практически не исследованы, однако получены предварительные данные о наличии корреляций между концентрацией внеклеточной ДНК крови и развитием таких заболеваний, как рак молочной железы, рак легкого, рак желудочно-кишечного тракта, системная красная волчанка, при воздействии ионизирующей радиации, что предполагает их участие в факторах стресс-сигнализации. Содержание циркулирующих нуклеиновых кислот может изменяться при ревматоидном артрите, диабете, гломерулонефрите, инфаркте миокарда и других патологических состояниях, что дает возможность использовать внеклеточные нуклеиновые кислоты как прогностический маркер при язвенной болезни [7].

Изложенное выше подтверждает необходимость дальнейшего исследования циркулирующих нуклеиновых кислот, что связано с прогностической и диагностической значимостью этого показателя при различных патологиях. Кроме того, остается до конца невыясненным механизм влияния внеклеточных ДНК на развитие окислительного стресса при воспалительных процессах в клетках и тканях.

Предполагаем, что в развитии патогенеза язвенной болезни играют роль активация процессов метаболизма, гипоксические процессы, нарушения микроциркуляции и функциональные нарушения желудка, которые проявляются возрастанием активности процессов липопероксидации клеточных мембран, нарушением процессов синтеза белка, энергии, что провоцирует нарушение резистентности слизистой гастродуоденальной зоны. Гипоксия слизистых оболочек желудка и двенадцатиперстной кишки сопровождается увеличением вторичного мессенджера — циклического аденозинмонофосфата, способствующего выходу адреналина, гистамина, серотонина, которые вызывают активацию аденилатциклазы и дополнительный выход циклического аденозинмонофосфата, что вызывает появление эрозивно-язвенных поражений слизистой.

Нарушение микроциркуляции, в свою очередь, приводит к увеличению содержания в митохондриях ионов кальция, жирных кислот, вызывает повреждения биологических мембран. Таким образом, гипоксия в тканях и клетках приводит к развитию патобиохимических нарушений, нарушений окислительных процессов, фосфорилирования, процессов перекисного окисления липидов.

Из немногочисленных литературных данных известно, что функциональные нарушения в клетках приводят к снижению резистентности слизистых оболочек гастродуоденальной области, поэтому в современных условиях изучение патогенеза язвенной болезни невозможно без изучения клеточной патологии. Также современные методы лечения направлены на повышение резистентности слизистых оболочек за счет стабилизации целостности клеточных мембран, клеточных и субклеточных компонентов.

Установлены основные механизмы нарушений клеточных мембран, среди которых нарушения осмотических процессов, воздействие фосфолипидов, иммунологическое воздействие. Все эти механизмы активируют процессы перекисного окисления липидов, которое и вызывает развитие патологических нарушений в клетках.

С учетом изложенного выше целесообразно провести определение на молекулярно-клеточном уровне содержания циркулирующих внеклеточных нуклеиновых кислот при осложнениях язвенной болезни.

Цель — изучить содержание циркулирующих внеклеточных нуклеиновых кислот в крови при осложненных формах язвенной болезни.

#### *Материалы и методы исследования*

Нами была исследована кровь 60 человек, из них 30 человек с осложненной формой язвенной болезни (кровотечение и перфорация), 30 человек условно здоровых, проживающих в Карагандинской области, г. Темиртау. Забор крови осуществлялся при согласии исследуемых, проводился утром, натощак. У всех пациентов, находившихся на стационарном лечении в ЦБ г. Темиртау, диагноз был подтвержден методом фиброгастродуоденоскопии (ФГДС). Все обследованные — мужчины и женщины репродуктивного возраста (18–45 лет) с диагнозом «Язвенная болезнь, осложненная форма». Контрольную группу составили условно-здоровые лица, не страдающие язвенной болезнью. Нами изучалась циркулирующая ДНК при осложненной форме язвенной болезни у лиц репродуктивного возраста. Внеклеточную ДНК определяли по методу Л.И. Маркушевой и соавт. (2000). Принцип количественного определения КРФ, РНК и ДНК заключался в экстракции нуклеиновых кислот после гидролиза, проводимого при различной температуре на водяной бане, с последующим центрифугированием 15 минут при 3000 об/мин и спектрофотометрией КРФ, гидролизатов РНК и ДНК [8].

Статистическая обработка материала проводилась с применением пакета программ IBM SPSS Statistics 22. Рассчитывали среднее арифметическое, ошибку среднего ( $M \pm m$ ), различия с контрольной группой проведены по тесту Стьюдента для независимых групп.

#### *Результаты исследования и их обсуждения*

В литературных источниках имеются исследования, устанавливающие связь между содержанием некоторых белковых фракций хроматина и количественным содержанием ДНК, что влияет на пролиферативную способность клеток. В клетках выявлены и внеклеточные ДНК, которые обнаружены в плазме крови в результате гибели клеточных ядер и последующего выхода ДНК во внеклеточное пространство [9] (рис.).

Проведенные исследования позволяют предположить, что изменение концентрации внеклеточной ДНК в крови у лиц с осложнениями язвенной болезни (кровотечение, перфорация, пенетрация, стеноз, малигнизация) может быть обусловлено интоксикацией.

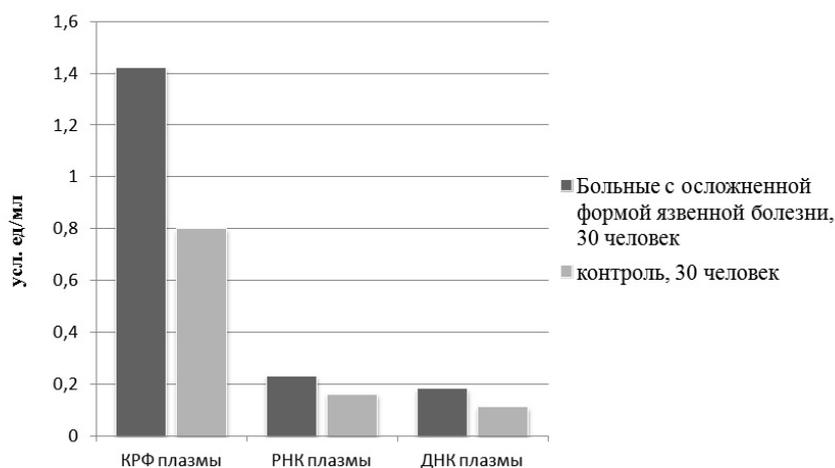


Рисунок. Результаты исследования внеклеточных нуклеиновых кислот в крови исследуемых

По результатам исследования установлено, что в крови больных с язвенной болезнью содержание КРФ увеличивается в сравнении с таковыми показателями условно-здоровых лиц в 1,8 раза. Содержание внеклеточной РНК в крови также увеличивается по сравнению с контрольными значениями в 1,4 раза.

Полученные нами данные демонстрируют тенденцию к увеличению содержания внеклеточной ДНК в крови больных с язвенной болезнью в стадии обострения в 1,6 раза. Также было отмечено одновременное повышение уровня кислоторастворимых фракций нуклеиновых кислот, т.е. предшественников ДНК, что является достоверным сигналом усиленной элиминации ДНК из клетки.

Таким образом, установлено, что у лиц с язвенной болезнью в стадии обострения наблюдается статистически значимое повышение концентрации внеклеточной ДНК в крови. На наш взгляд, изменение содержания внеклеточной ДНК, внеклеточной РНК и КРФ при язвенной болезни приводит к развитию патологии клеток, которые сопровождаются апоптозной гибелью. Наше мнение совпадает с результатами других исследований.

Как известно, причиной попадания фрагментов ДНК в кровотоки может быть апоптоз большого числа клеток, что приводит к замедлению процессов элиминации апоптотических телец, так как в условиях интоксикации скорость гибели клеток превышает способность фагоцитов поглощать и разрушать ДНК, что и объясняет повышение ее уровня в крови [5, 7].

#### Заключение

По нашему мнению, при язвенной болезни усиливается процесс распада клеток, вследствие чего фиксируется накопление циркулирующей ДНК в крови по сравнению с показателями практически здоровых лиц, что свидетельствует о развитии в клетках окислительного стресса.

Проведенные исследования позволяют сделать заключение, что изменение концентрации внеклеточной ДНК в крови у лиц с язвенной болезнью в стадии обострения может быть обусловлено эндогенной интоксикацией, вызванной продуктами окислительного стресса. Данные предположения согласуются с данными других исследований.

Установлено, что уровень внеклеточных нуклеиновых кислот возрастает в крови при патогенезе некоторых злокачественных опухолей, беременности, раке желудка [10].

С изменением содержания циркулирующих внеклеточных нуклеиновых кислот при различных патологических процессах развивается стресс-сигнализация. *Как известно, стрессовые ситуации приводят к обострению язвенной болезни при истощении антиоксидантной системы организма.*

#### Список литературы

- 1 Гончарик И.И. Клиническая гастроэнтерология (болезни пищевода, желудка, кишечника): практ. пособие. — Минск: Ураджай. — 2002. — С. 335.
- 2 Луцевич Э.В., Белов И.Н. Лечение язвенных гастродуоденальных кровотечений. От хирургии к терапии // Хирургия. — 2008. — № 1. — С. 4–7.
- 3 Маргунов Б.А., Маликов Ю.Р., Амонов Г.М. Летальность при гастродуоденальных кровотечениях // Вестн. хирург. гастроэнтерологии. — 2007. — № 1. — С. 44–49.
- 4 Воронина Л.П. Язвенная болезнь в практике педиатра // Медицинские новости. — 2008. — № 15. — С. 28–32.
- 5 Муравлева Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Клюев Д.А. и др. Внеклеточные нуклеиновые кислоты: происхождение и функции. Мини-обзор // Современные проблемы науки и образования. — 2010. — № 2. — С. 15–20.
- 6 Туаева Н.О., Абрамова З.И., Мустафина Д.М. Внеклеточная ДНК в кровотоке человека II. Биологическая роль внеклеточной ДНК // Научные записки Казанского гос. мед. ун-та. Дополнение: Естественные науки. — 2008. — № 150 (2). — С. 59–70.
- 7 Бремнес Р.М., Сирера Р., Цампс Ц. Циркулирующие ДНК и РНК опухолевых маркеров, полученных в крови: инструмент для раннего выявления, диагностики и наблюдения // Рак легких. — 2005. — № 49. — С. 1–12.
- 8 Маркушева Л.И., Савинаб М.И., Решина В.М. Ядерные белки хроматина в качестве оценки эффективности лечения людей, страдающих псориазом и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2000. — № 7. — С. 18–20.
- 9 Туаева Н.О., Софронов В.В., Емикеева В.А., Абрамова З.И., Винтер В.Г., Мустафина Д.М., Туточкина К.В. Взаимосвязь концентрации внеклеточной ДНК в плазме крови и содержания антител к нативной ДНК у новорожденных с невропатией // Казанский мед. журнал. — 2006. — Т. 87. — № 4. — С. 254–257.
- 10 Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А. и др. Сибирский онкологический журнал. — 2009. — № 4 (34). — С. 48–53.

Г.Г. Ерзнкян, Е.С. Татина, Б.Ж. Култанов

## Ойық жара ауруларының асқыну түрлері кезіндегі қан айналымдағы жасушадан тыс нуклеин қышқылдары құрылымының өзгерісі

Мақалада ойық жара ауруларының асқынған түрлері кезінде адамдар қан айналымдағы жасушалардан тыс нуклеин қышқылдары құрамын зерттеу деректері келтірілген. Әдебиет деректеріне қарағанда, жасушалардағы функциялық бұзылулар гастродуоденалдық аймақтың шырышты қабықшалары резистенттігінің төмендеуіне әкеледі, сол себепті ойық жара ауруын зерттеу жасушалық патологияны зерделеусіз мүмкін емес. Қарағанды облысында тұратын ойық жара ауруының түрлі түрлерімен ауратын 60 адам зерттелді. Теміртау қ. Орталық ауруханасында стационарлық емдеуде жатқан барлық науқастардың диагнозы фиброгастроуденоскопия (ФГДС) әдісімен расталды. Қолжеткізілген нәтижелер ойық жара ауруы кезінде жасушалардың бұзылу үрдісінің күшеюін көрсетті, ал бұл өз кезегінде қышқылдану стресінің жиналуын тудыратын айналатын нуклеин қышқылдарының жиналуына әкеледі. Өткізілген зерттеулер асқыну кезеңіндегі ойық жара ауруы бар адамдар қанындағы жасушалардан тыс нуклеин қышқылдары шоғырлануының өзгеруі қышқылдану стресі өнімдерімен туындаған, эндогендік уланумен шартталған деген болжам жасауға негіз болады.

*Кілт сөздер:* жасушалардан тыс нуклеин қышқылдары, ойық жара ауруы, плазманың қышқылдық-ерігіш фракциялары (КЕФ), плазма РНҚ-сы, плазма ДНҚ-сы, қышқылдану стресі.

G.G. Yerznkyan, Ye.S. Tatina, B.Zh. Kultanov

## The content change of circulating extracellular nucleic acids in patients with complicated forms of peptic ulcer disease

This article presents data from a study of content circulating extracellular nucleic acids in humans with complicated forms of peptic ulcer disease. According to the literature it is known that functional abnormalities in the cells leads to a decrease in the resistance of the mucous membranes of the gastroduodenal area, so the study of peptic ulcer disease is impossible without the study of cellular pathology. The study involved 60 people with different forms of peptic ulcer residing in the Karaganda region. In all patients, the diagnosis was confirmed by fibrogastroduodenoscopy (EGD), who were hospitalized in the Central Hospital of Temirtau. The results showed increased cell disintegration process in peptic ulcer disease that leads to the accumulation of circulating nucleic acids, which leads to the accumulation of oxidative stress. The studies suggest that changes in the concentration of extracellular nucleic acids in the blood of patients with peptic ulcer in the acute stage, it may be due to endogenous intoxication caused by oxidative stress products.

*Keywords:* extracellular nucleic acid, peptic ulcer, acid-soluble fraction (ASF) plasma, plasma RNA plasma DNA, oxidative stress.

### References

- 1 Goncharik I.I. *Clinical gastroenterology (diseases of the esophagus, stomach, intestines): practical guide*, Minsk: Uradzhaj, 2002, p. 335.
- 2 Lucevich E.V., Belov I.N. *Surgery*, 2008, 1, p. 4–7.
- 3 Margupov B.A., Malikov Ju.R., Amonov G.M. *Bulletin of hir. Gastroenterol*, 2007, 1, p. 44–49.
- 4 Voronina L.P. *Medical News*, 2008, 15, p. 28–32.
- 5 Muravleva L.E., Molotov-Luchanskii V.B., Klyuev D.A. et al. *The modern problems a science and education*, 2010, 2, p. 15–20.
- 6 Tuaeve N.O., Abramova Z.I., Mustafina D.M. *Science notes of Kazan State Medical University. Addition: Natural sciences*, 2008, 150 (2), p. 59–70.
- 7 Bremnes R.M., Sirera R., Camps C. *Lung Cancer*, 2005, 49, p. 1–12.
- 8 Markusheva L.I., Savinab M.I., Reshina V.M. *Clinical laboratory diagnostics*, 2000, 7, p. 18–20.
- 9 Tuaeve N.O., Sofronov V.V., Emikeeva V.A., Abramova Z.I., Vinter V.G., Mustafina D.M., Tutochkina K.V. *Kazan Medical Journal*, 2006, 87, 4, p. 254–257.
- 10 Belonogov R.N., Titova N.M., Dyhno Ju.A. et al. *Siberian Cancer zhurnal*, 2009, 4 (34), p. 48–53.