

Dudnyk V. M., Buglova N. O. Оцінка лікування виразки дванадцятипалої кишки у дітей з точки зору відновлення репаративної функції = The estimation of treatment in children with duodenal ulcer from the perspective of reparative function recovery. *Journal of Education, Health and Sport*. 2016;6(8):21-30. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.59281> <http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3729>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).

755 *Journal of Education, Health and Sport* eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.07.2016. Revised 25.07.2016. Accepted: 28.07.2016.

УДК : 616. 342- 002.44-053.2:679.86

ОЦІНКА ЛІКУВАННЯ ВИРАЗКИ ДВНАДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ У ДІТЕЙ З ТОЧКИ ЗОРУ ВІДНОВЛЕННЯ РЕПАРАТИВНОЇ ФУНКЦІЇ

В. М. Дудник, Н. О. Бугрова

**Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова, м.Вінниця
кафедри педіатрії №2**

THE ESTIMATION OF TREATMENT IN CHILDREN WITH DUODENAL ULCER FROM THE PERSPECTIVE OF REPARATIVE FUNCTION RECOVERY

V. M. Dudnyk, N. O. Buglova

**Department of Pediatrics No 2, National Pirogov Memorial Medical University
Vinnitsya, Ukraine**

Abstract

Background .Diseases of the upper gastrointestinal tract in children occupy a leading place in the structure of gastroenterological diseases, including the duodenal ulcer, which is the actual problem of modern medicine throughout the world, characterized by the progressive growth. Establishing the role of *H. pylori* in the mechanisms of a number of diseases of the upper gastrointestinal tract changed the approach to the problem of this disease. An important role in the development of infectious-inflammatory process induced by *H. pylori* play TLR4, having reactivity to lipopolysaccharide of Gram-negative bacteria.

Much attention is being paid to determine the effect of *H. pylori* in the regeneration damaged of duodenal mucosa, which by means of growth factors, such as epidermal growth factor(EGF).

EGF - a universal endogenous regulator of cell renewal, which accelerates migration and proliferation of the epithelium, enhances angiogenesis.

The aim of our study was to evaluate the results of complex treatment in children with duodenal ulcer according to the dynamics of TLR4 and EGF in blood serum.

Materials and methods. The overall clinical group consisted of 54 children with duodenal ulcer aged 7-18 years. The control group consisted of 25 healthy children of similar age. The average age of patients was $13,3 \pm 0,2$ years. The study used clinical, laboratory and instrumental methods of examination used. The content of TLR 4 and EGF in serum were determined by ELISA.

Results and discussion. Children who were under supervision, were allocated based on the severity of the disease and the presence of *H. pylori* infection. Among the patients *H. pylori* (+) duodenal ulcer had 40 (74.07%) children - 14 (25.93%) patients had no *H. pylori* infection. Severe degree of disease was observed in 16 (29.63%) children, 38 (70.37%) of the children had moderate course of duodenal ulcer. In patients with severe course of duodenal ulcer was observed the reduction of EGF and TLR4 (27.95%,19,65%) values before treatment, but the figure was higher (47.11%) and (2,75 times) than in the group of healthy children. In children with moderate duodenal ulcer the level of EGF and TLR4 after treatment was lower (by 23,24%) and (1,30 times) indicators before treatment, but higher than in the control group (1,55 times) and (47,81%).

It was revealed that in patients with *H. pylori* (+) duodenal ulcer after treatment were significant changes in the content EGF, TLR4 in serum, appearing in it's decline (1,27 times) ,but exceeding the value of healthy children (1.76 times) and (1.98 times) ($p < 0,05$).

Conclusion. Thus, monitoring the dynamics of TLR4 and EGF on the background of the pathological process can provide valuable information about the mechanisms of the disease and will optimize the therapy by influencing on the pathogenesis of duodenal ulcer.

Keywords: children, duodenal ulcer, H. pylori, TLR4, EGF, treatment.

Актуальність проблеми. Захворювання верхніх відділів травного тракту у дітей займають провідне місце в структурі гастроентерологічної патології, серед яких важливе місце займає виразка дванадцятипалої кишки (ВДПК), що являє собою актуальну проблему сучасної медицини в усьому світі, характеризуючись прогресуючим зростанням[1]. Виразка часто починається в дитячому віці, складаючи в структурі гастродуоденальної патології у дітей до 8 - 12% та у 81-87% пацієнтів цієї вікової категорії виявляється дуоденальна локалізація виразкового процесу[2]. Встановлення ролі Н. рулогі в механізмах розвитку цілого ряду захворювань верхніх відділів травного тракту змінило погляд на проблему даної патології. Відомо, що Н. рулогі ініціює каскад запальних та імунних реакцій і супроводжується комплексом патоморфологічних змін слизової оболонки, призводячи до формування хронічного гастриту, характер якого визначає весь спектр станів, від безсимптомного перебігу до розвитку канцерогенезу. Тому ерадикація Н. рулогі розглядається сьогодні як невід'ємна частина протоколу лікування пацієнтів з Н. рулогі(+) патологією. В сучасних умовах в дитячому віці спостерігається несприятливий перебіг виразки: у 1/3 хворих виявляються множинні дефекти слизової оболонки, зростає число рецидивуючих і ускладнених форм захворювання, що обумовлює актуальність подальшого уточнення механізмів формування і розвитку запально-деструктивних процесів та факторів, що впливають на перебіг виразки.

Велике значення в останній час набуває визначення регуляції функції вродженого імунітету, що, в тому числі здійснюється групою тол-подібних рецепторів (TLR), функціями яких є швидке розпізнавання та елімінація бактерій, вірусів[3,8]. Важливу роль у розвитку інфекційно-запального процесу, викликаного Н. рулогі відіграють TLR4, що володіють реактивністю до ліпополісахаридів грамнегативних бактерій[4]. В останні роки велика кількість робіт присвячується даним щодо вмісту цитокінів в сироватці крові, визначається вплив експресії цитокінів на розвиток і прогресування патологічних процесів, зокрема при ВДПК. Вони поділяються на ряд сімейств в залежності від їх клітинного походження (лімфокіни, монокіни), переважного шляху розвитку ефекторних механізмів імунної відповіді (прозапальні і протизапальні), від ініціації хемотаксису (хемокіни), регулювання росту і диференціювання клітин (колонієстимулюючі і ростові фактори).

Активація TLR4 призводить до індукції ефекторних генів, що стимулюють вироблення прозапальних цитокінів, які індукують апоптоз, сприяючи ушкодженню

тканин і прогресу захворювання. Значна увага в даний час приділяється визначенню впливу *H. pylori* на процеси регенерації при пошкодженні слизової оболонки дванадцятипалої кишки (СОДПК), яка здійснюється за допомогою ростових факторів, таких як епідермальний фактор росту (EGF) [6]. EGF – це універсальний ендогенний регулятор клітинного відновлення, що прискорює міграцію та проліферацію епітелію, посилює ангиогенез. При *H. pylori*(+) ВДПК, в умовах масивної інфільтрації міжепітеліальними лімфоцитами спостерігається активна проліферація епітелію, з накопиченням в цій зоні EGF[5,7]. З іншого боку, існує думка, що при високому ступені колонізації *H. pylori* блокує EGF-рецептори, посилюючи загибель клітин, а це може призводити до зниження проліферації, затримки репарації епітелію і, як наслідок, провокувати несприятливий перебіг захворювання. Існуючі публікації, присвячені питанням регенерації гастроудоденальної слизової оболонки та дані щодо вмісту TLR4 не конкретизовані і оцінка їх при ВДПК у дітей потребує подальшого розвитку і вдосконалення.

Тому визначення даних факторів в сироватці крові при ВДПК у дітей, спостереження за їх динамікою на фоні лікування, встановлення характеру взаємодії цих показників між собою, дозволить отримати вагомі дані про механізми розвитку захворювання, а також удосконалити медикаментозний вплив на регенераторний потенціал, оптимізуючи таким чином результати проведеної терапії.

Мета дослідження :оцінити результати комплексного лікування ВДПК у дітей з точки зору відновлення репаративної функції з урахуванням динаміки TLR4 та EGF в сироватці крові.

Матеріали та методи. Загальну клінічну групу становили 54 дитини віком 7-18 років, хворих на ВДПК. Контрольну групу склали 25 практично здорових дітей відповідного віку. Середній вік хворих становив $13,3 \pm 0,2$ року. Критерієм включення була ВДПК в стадії загострення. Комплексна терапія у дітей, хворих на ВДПК проводилась згідно наказу МОЗ України №59 від 29.01.2013 року. У дослідженні були використані клінічні, лабораторні та інструментальні методи обстеження. Усім дітям проведене ЕФГДС за допомогою відеосистеми "VIDEO SYSTEM OTV-SC, OLIMPUS GIF-XPE". Для діагностики інфекції *H. pylori* використовувався уреазний тест (URE-HP-test). Усім дітям проводили інтрагастральну рН-метрію. Вміст TLR4 у сироватці крові визначали імуноферментним методом за набором "Human TLR4 ELISA Kit" (NeoBiolab, США) відповідно до інструкції фірми-виробника. Вміст епідермального фактору росту (EGF) в сироватці крові визначали імуноферментним методом (ELISA) з

використанням набору “Human EGF ELISA Kit” (Invitrogen, США). Статистична обробка отриманих даних проведена за загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Визначалися базові статистичні показники - середня арифметична величина (M), середня похибка середньої величини (m), p - досягнутий рівень статистичної значимості, n - обсяг аналізованої групи. Оцінку вірогідності відмінностей у порівнюваних групах проводили стандартними параметричними та непараметричними методами за допомогою критеріїв Стьюдента. Різниця між групами вважалася статистично значимою при вірогідності помилки (α) нульової гіпотези не більше ніж 5 % ($p < 0,05$).

Обговорення результатів дослідження. Діти, що знаходились під наглядом, були розподілені в залежності від тяжкості захворювання та наявності *H. pylori* інфекції. Серед обстежених *H. pylori* (+) ВДПК мали 40 (74,07%) дітей, – у 14 (25,93%) хворих була відсутня *H. pylori* інфекція. Тяжкий ступінь захворювання спостерігався в 16 (29,63 %) дітей, 38 (70,37 %) дітей були з середнім ступенем тяжкості ВДПК. Під спостереженням знаходилось 43 хлопчика, що становило (79,63%) від загальної кількості обстежених хворих на ВДПК, та 11 дівчат (20,37)% ($p < 0,05$). У 40 пацієнтів з *H. pylori*(+) ВДПК, застосовувалася потрійна схема антихелікобактерної терапії терміном 7 днів.

Оцінка ефективності комплексної терапії у дітей, хворих на ВДПК проводилось на основі наступних критеріїв: покращення загального самопочуття, зменшення больового, диспепсичного та астено-вегетативного синдромів, нормалізації клінічного та біохімічного аналізів крові. Одночасно проводилося дослідження таких біохімічних показників як EGF і TLR4 в сироватці крові у дітей, хворих на ВДПК.

У всіх пацієнтів з загостренням ВДПК встановлено збільшення вмісту EGF в сироватці крові (на 52,67%) в порівнянні з групою практично здорових дітей (табл.1). У хворих його рівень складав ($600 \pm 24,10$ пг/мл) ($p < 0,05$).

Таблиця 1

Вміст TLR4 в сироватці крові у дітей хворих на ВДПК (Ме[25-75])

Група хворих	TLR4 , пг/мл		
	(M ± m)	Ме	25-75-й перцентилі
Основна група n =54	1476,85±100,92*	1240	980-1795
Контрольна група n =25	672± 36,43	658	528-768

Примітка * $p < 0,01$ - різниця вірогідна групи здорових дітей.

При аналізі рівня TLR4 в сироватці крові в стадії загострення було також відмічено виражене збільшення показників (на 54,50%) у порівнянні зі здоровими дітьми ($1476,85 \pm 100,92$) пг/мл ($p < 0,05$) (табл.2).

Таблиця 2

Вміст EGF в сироватці крові у дітей хворих на ВДПК (Me[25-75])

Група хворих n =54	EGF, пг/мл		
	(M ± m)	Me	25-75-й перцентилі
Основна група n =54	$600 \pm 24,10^*$	588,8	450,8-724,5
Контрольна група n =25	$284 \pm 22,67$	280	206-332

Примітка * $p < 0,01$ - різниця вірогідна групи здорових дітей.

У дітей з ВДПК різного ступеня тяжкості захворювання була проведена оцінка динаміки EGF та TLR4 в сироватці крові під впливом стандартного лікування, в залежності від наявності або відсутності Н. рулогі інфекції.

Аналіз основних клінічних симптомів захворювання показав, що у всіх хворих проведена терапія до кінця курсу лікування дала позитивні результати у вигляді поліпшення загального самопочуття, значного зменшення або зникнення больового, диспепсичного та астено-вегетативного синдромів.

Отримані дані свідчать про те, що після лікування показники TLR4, EGF в сироватці крові знижувались в усіх групах хворих, проте не досягали нормальних значень. Так, після проведеного лікування при ВДПК середнього ступеня тяжкості спостерігалось зниження вмісту TLR4 в сироватці крові (в 1,30 рази) ($p < 0,01$), що було (на 47,81%) вище групи практично здорових дітей. При ВДПК тяжкого ступеня рівень TLR4 після лікування склав $(1850,0 \pm 168,70)$ пг/мл, що було (на 19,65%) нижче показників до лікування, проте вище показників групи контролю (в 2,75 рази).

У всіх дітей, хворих на ВДПК після проведеної терапії встановлено зниження рівня EGF в сироватці крові. В групі хворих з тяжким перебігом ВДПК спостерігалось зниження рівня EGF до $(535,7 \pm 30,57)$ пг/мл, що (на 27,95%) нижче значень до лікування, проте було більшим (на 47,11%), ніж в групі практично здорових дітей

(табл.3). При ВДПК середнього ступеня тяжкості рівень EGF після лікування складав – (439,5±27,88)пг/мл), що (на 23,24%) нижче показників до лікування, проте вище показників групи контролю (в1,55 рази).

Таблиця 3

Динаміка вмісту біохімічних маркерів EGF та TLR4 під впливом курсу лікування у дітей, з загостренням H.pylori(+) ВДПК в залежності від ступеня тяжкості захворювання

Група хворих n =40	TLR4,пг/мл		EGF,пг/мл	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
Середній ступінь тяжкості ВДПК n=24	1287,5±69,39*	993,3±50,04**	572,51±31,83*	439,5±27,88**
Тяжкий ступінь ВДПК n=16	2302,5±186,99*	1850,0±168,70**	743,48±35,97*	535,7±30,57**
Контроль n =25	672± 36,43		284± 22,67	

Примітки:

1. * - $p < 0,05$ - різниця вірогідна відносно показників дітей після лікування;
2. ** - $p < 0,05$ - різниця вірогідна відносно показників здорових дітей та між групами пацієнтів, що отримували лікування.

Після проведеної ерадикаційної терапії у дітей, хворих на H. pylori(+)ВДПК вміст TLR4 знизився (в1,27 рази), проте показник був вищим, ніж в групі практично здорових дітей (в 1,98 рази). На фоні проведеної терапії в групі H.pylori(-) ВДПК спостерігалось зниження рівня TLR4 до (755,7± 68,59) пг/мл), що (в 1,13 рази) нижче значень до лікування та (у1,12 рази) вище групи контролю (табл.4). Більш високі значення TLR4 після проведеного лікування в сироватці крові дітей, хворих на H.pylori (+)ВДПК у порівнянні з групою контролю можуть бути обумовлені запальними інфільтративними змінами СОДПК, що спостерігаються при збереженні H. pylori інфекції.

Встановлено, що у пацієнтів, хворих на H.pylori (+)ВДПК через 2 тижні від початку лікування виявлені достовірні зміни вмісту EGF в сироватці крові,

проявляючись зниженням його (в 1,27рази), проте перевищуючи значення здорових дітей (в 1,76 рази) ($p<0,05$) відповідно. Після курсу лікування, вміст EGF в групі пацієнтів з *H.pylori*(-) ВДПК був більшим (на 25,47%) відповідно, ніж у здорових дітей ($p<0,05$). Подібні зрушення EGF на фоні лікування ВДПК, можливо пов'язані з тим, що, по мірі загоєння виразкового дефекту необхідність посиленої проліферації клітинних структур починає знижуватися, а збереження високого рівня EGF після проведеного лікування обумовлено збереженою запальною інфільтрацією СОДПК.

Таблиця 4

Динаміка вмісту біохімічних маркерів EGF та TLR4 під впливом курсу лікування у дітей з загостренням ВДПК в залежності від наявності *H. pylori* інфекції

Група хворих n =54	TLR4,пг/мл		EGF,пг/мл	
	До лікування	Після лікування	До лікування	Після лікування
<i>H. pylori</i> (+) ВДПК n=40	1693,50±115,86*	1336,0±98,90**	640,93±27,16*	501±23,84**
<i>H. pylori</i> (-)ВДПК n=14	857,9 ± 73,05*	755,7± 68,59**	483,0± 37,38*	360 ± 28,60**
Контроль n =25	672± 36,43		284± 22,67	

Примітки:

* - $p<0,05$ - різниця вірогідна відносно показників дітей після лікування; ** - $p<0,05$ - різниця вірогідна відносно показників здорових дітей та між групами пацієнтів, що отримували лікування.

При співставленні показників TLR4 та EGF в сироватці крові у хворих на ВДПК в стадії загострення між ними встановлений прямий кореляційний зв'язок середньої сили в межах ($r_{xy}=+0,62$, $p<0,05$), що свідчить про взаємообумовлене збільшення при наявності виразкового дефекту, як компенсаторної реакції на пошкодження СОДПК.

Висновки

У дітей з ВДПК, які отримали комплексне лікування, виявлена чітка динаміка показників рівня TLR4 та EGF в сироватці крові. В дослідженні був виявлений вплив *H.pylori* на рівень TLR4 та EGF в сироватці крові та на перебіг запального процесу. Встановлено, що у пацієнтів, хворих на *H.pylori* (+)ВДПК після проведеної ерадикаційної терапії виявлені достовірні зміни вмісту EGF, TLR4 в сироватці крові, проявляючись зниженням його (в 1,27рази) у порівнянні з показниками до лікування, проте перевищуючи значення здорових дітей (в 1,76 рази) та (1,98 рази) ($p < 0,05$).

В групі хворих з тяжким перебігом ВДПК спостерігалось зниження рівня EGF та TLR4 (на 27,95% ,19,65%) значень до лікування, проте показник був більшим (на 47,11%) та (в 2,75 рази) ,ніж в групі практично здорових дітей. При ВДПК середнього ступеня тяжкості рівень EGF та TLR4 після лікування був також нижче (на 23,24%) та (в 1,30 рази) показників до лікування, проте вище показників групи контролю (в 1,55 рази) та (на 47,81%) відповідно.

При співставленні показників TLR4 та EGF в сироватці крові у хворих на ВДПК в стадії загострення між ними встановлений прямий кореляційний зв'язок між рівнем TLR4 та EGF середньої сили в межах ($r_{xy} = +0,62$, $p < 0,05$), що свідчить про збільшення даних показників при наявності виразкового дефекту, як компенсаторної реакції на пошкодження СОДПК.

Підводячи підсумок, слід відзначити важливе клінічне значення порушень ростових факторів та TLR4 при ВДПК у дітей, що знаходяться в тісному взаємозв'язку з виразністю запально-деструктивних змін та характером перебігу патологічного процесу.

Отже, спостереження за динамікою TLR4 та EGF на фоні перебігу патологічного процесу, з одного боку, можуть дати цінні відомості про механізми розвитку захворювання, з іншого боку, дозволять через вплив на ланки патогенезу оптимізувати терапію.

Література

1. Sullivan P. Peptic ulcer disease in children / P. Sullivan // Paediatrics and Child Health. – 2010. – Vol. 20, №10. – P. 462-464.
2. Spitz L. Peptic ulcer in children / L. Spitz, E. McLeod // Semin. Pediatr. Surg. – 2010. – №12(4). – P. 237-240.
3. Moura S.B. Toll-like receptor (TLR2, TLR4 and TLR5) gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection in children with and without duodenal ulcer / Moura S.B.,

Almeida L.R., Guerra J.B., Rocha G.A., et al. // *Microbes Infect.* — 2008. — V. 14–15. — P. 1477-1483.

4. Lagunes-Servin. Toll-Like receptors and cytokines are upregulated during *Helicobacter pylori* Infection in children / Lagunes-Servin H., Torres J., Maldonado-Bernal C., Pérez-Rodríguez M. // *Helicobacter*. 2013. -Vol. 18.-P. 423-432.

5. Yan F. Epidermal growth factor receptor activation protects gastric epithelial cells from *Helicobacter pylori*-induced apoptosis/ Yan F., Cao H., Chaturvedi K., Krishna U.//*Gastroenterology*. —2009.— Vol. 136. №4. —P. 1297-1307.

6. Kolesov S. A.. Kotsentratsiya epidermal'nogo faktora rosta v biosubstratakh i kolichestvo makrofagov pri zazhivlenii defekta u detey i podrostkov s yazvennoy boleznyu dvenadtsatiperstnoy kishki /S. A. Kolesov [i dr.]// *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. - 2010. - № 11. - S. 11-12 .

7. Maciorkowska E. The EGFR expression in gastric mucosa of children infected with *Helicobacter pylori*./ Maciorkowska E., Guzińska-Ustymowicz K., Ryszczuk E.// *Adv Med Sci.* — 2009—Vol. 54 .№187. —P.193.

8. Shibayama.K. Molecular mechanism of *Helicobacter pylori*-mediated pathogenesis. / K. Shibayama // *Nihon Saikingaku Zasshi*.- 2008. -Vol. 63.-№2.-P. 387-390.