



DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-14-18

УДК 615.099.097: 616–00

## Активность фекальной $\beta$ -глюкуронидазы у больных с воспалительными заболеваниями кишечника

Зинкевич О.Д.<sup>1</sup>, Сафина Н.А.<sup>1</sup>, Абдулганиева Д.И.<sup>2</sup>, Коровина М.О.<sup>1</sup>, Мухаметова Д.Д.<sup>2</sup>, Одинцова А.Х.<sup>3</sup>, Зималеева Д.Э.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Казанская государственная медицинская академия — филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 420012, г. Казань, Россия

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 420012, г. Казань, Россия

<sup>3</sup> Государственное автономное учреждение здравоохранения «Республиканская клиническая больница Министерства здравоохранения Республики Татарстан», 420064, г. Казань, Россия

## Activity of fecal $\beta$ -glucuronidase in patients with inflammatory bowel diseases

O. D. Zinkevich<sup>1</sup>, N. A. Safina<sup>1,2</sup>, D. I. Abdulganieva<sup>2</sup>, M. O. Korovina<sup>1</sup>, D. D. Mukhametova<sup>2</sup>, A. Kh. Odintsova<sup>3</sup>, D. E. Zimaleeva<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Kazan State Medical Academy — Branch Campus of the Federal State Budgetary Educational Institution of Further Professional Education “Russian Medical Academy of Continuous Professional Education” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 420012, Kazan, Russia

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kazan Medical University” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 420012, Kazan, Russia

<sup>3</sup> State autonomous health care institution “Republican Clinical Hospital Department of Health of the Republic of Tatarstan”, 420064, Kazan, Russia

**Для цитирования:** Зинкевич О. Д., Сафина Н. А., Абдулганиева Д. И., Коровина М. О., Мухаметова Д. Д., Одинцова А. Х., Зималеева Д. Э. Активность фекальной  $\beta$ -глюкуронидазы у больных с воспалительными заболеваниями кишечника. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2019;162(2): 14–18. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-14-18

**For citation:** Zinkevich O. D., Safina N. A., Abdulganieva D. I., Korovina M. O., Mukhametova D. D., Odintsova A. Kh., Zimaleeva D. E. Activity of fecal  $\beta$ -glucuronidase in patients with inflammatory bowel diseases. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2019;162(2): 14–18. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-162-2-14-18

✉ **Corresponding author:**

**Зинкевич Олег Данилович**  
Zinkevich Oleg D.  
zinkevich\_oleg@mail.ru

**Зинкевич Олег Данилович**, к.б.н., ведущий научный сотрудник ЦНИЛ

**Сафина Нэлля Ахметовна**, к.б.н., старший научный сотрудник ЦНИЛ

**Абдулганиева Диана Ильдаровна**, д.м.н., зав. каф госпитальной терапии

**Коровина Марина Олеговна**, научный сотрудник ЦНИЛ

**Мухаметова Диляра Дамировна**, к.м.н., ассистент кафедры госпитальной терапии

**Одинцова Альфия Харисовна**, к.м.н., руководитель гастроэнтерологического отделения

**Зималеева Диана Эдуардовна**, студент кафедры биохимии и КЛД

Oleg D. Zinkevich, PhD, leading researcher of central scientific research laboratory

Nellya A. Safina, PhD, senior researcher of central scientific research laboratory

Diana I. Abdulganieva, D. Med.Sc., head Department of hospital therapy

Marina O. Korovina, researcher of central scientific research laboratory

Dilyara D. Mukhametova, PhD, assistant researcher of Department of hospital therapy

Alfiya Kh. Odintsova, PhD, head of Department of gastroenterology

Diana E. Zimaleeva, student of the Department of biochemistry and clinical laboratory diagnostics

## Резюме

**Цель:** исследовать активность β-глюкуронидазы в экстрактах кала у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника — ЯК и БК при различной степени тяжести и определить значимость как лабораторного критерия в диагностике, лечении и прогнозе течения ВЗК.

**Материалы и методы.** В исследование проспективно было включено 105 человек — 82 пациентов с ВЗК (29 пациента с БК, 53 пациентов с ЯК) и 23 здоровых добровольцев без клинических и лабораторных признаков воспалительных процессов в организме и заболеваний кишечника, составивших группу сравнения.

Всем определялась активность β-глюкуронидазы в фекалиях с применением фенолфталеин глюкуронида в качестве субстрата.

**Результаты.** Активность β-глюкуронидазы в кале у больных с ВЗК не отличалась от группы здоровых: при ВЗК этот показатель составлял  $86,81 \pm 8,4$  мкМ/г/час, а в норме  $76,04 \pm 10,13$  мкМ/г/час ( $p > 0,05$ ).

Мы также не обнаружили достоверных различий в активности фермента ни у пациентов с БК и ЯК по сравнению с нормой, ни между собой.

При обеих формах ВЗК не обнаружено достоверных различий в активности фермента при тяжелой, легкой и средней степени тяжести ни по сравнению с нормой, ни между собой.

**Заключение.** Установлено, что активность фекальной β-глюкуронидазы при БК и ЯК при разной степени тяжести не отличалась от нормы.

Определение активности фекальной β-глюкуронидазы не может служить объективным лабораторным критерии для определения степени тяжести ВЗК и прогнозирования течения болезни и, по всей видимости, не имеет существенного значения в патогенезе ВЗК.

**Ключевые слова:** воспалительные заболевания кишечника, язвенный колит, болезнь Крона, фекальная β-глюкуронидаза

## Summary

**The aim of research:** to investigate the activity of β-glucuronidase in coprofiltrates (OR feces) in patients with inflammatory bowel diseases — UC and CD at different severity levels (form of disease- mild, middle, severe) and to determine the significance as a laboratory criterion in the diagnosis, treatment and prognosis of IBD.

**Materials and methods.** In research was prospectively studied 105 patients — 82 patients with IBD (29 patients with CD, 53 patients with UC) and 23 healthy volunteers without clinical laboratory indicators of inflammatory processes in the organism and diseases of the colon as the comparison group.

The activity of β-glucuronidase in feces was determined using phenolphthalein glucuronide as a substrate.

**Results.** The activity of β-glucuronidase in feces in patients with IBD did not differ from the healthy group (comparison group): in patients with IBD —  $86.81 \pm 8.4$  μM / g / hr, and in norm, healthy group (comparison group)  $76.04 \pm 10.13$  μM / g / hr ( $p > 0.05$ ).

Also we did not find significant differences in the activity of β-glucuronidase in patients with CD and UC, in comparison with the norm (healthy group), or between groups of patients with IBD (CD and UC).

In both forms of IBD, we did not find significant differences in the activity of β-glucuronidase in patients with severe, mild or middle severity level of disease, as in comparison with healthy group so as between group of severity level.

**Conclusion.** We have established that the activity of fecal β-glucuronidase in patients with different severity levels CD and UC did not differ from in patients of healthy group.

Determination of the activity of fecal β-glucuronidase can not use as objective laboratory criteria for determining the severity of IBD and predicting the course of the disease and, apparently, does not have essential value in the pathogenesis of IBD.

**Keywords:** inflammatory bowel disease, ulcerative colitis, Crohn's disease, fecal β-glucuronidase

## Введение

Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК) – язвенный колит (ЯК) и болезнь Крона (БК) – широко распространенные патологии с неясной этиологией, которые, как принято считать, развиваются в результате сложного взаимодействия между определенными факторами окружающей

среды, кишечной микрофлорой и иммунной системой у генетически предрасположенных лиц.

По современным представлениям кишечная микробиота, прямо или косвенно, включается в патогенез воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) и, хотя точные механизмы вовлечения отдельных представителей микробиоты не

установлены, существует ряд гипотез, объясняющих их участие в развитии ВЗК [1,2].

Согласно одной из гипотез, значительную роль в патогенезе ВЗК может играть микробная  $\beta$ -глюкуронидаза – фермент, который в кишечнике гидролизует связь между глюкуроновой кислотой и ксенобиотиками, а также эндогенными компонентами, делая их менее растворимыми, более токсичными и увеличивая их гепато-энтеральную рециркуляцию [3,4].

Имеются литературные данные о значительных индивидуальных колебаниях  $\beta$ -глюкуронидазы в кишечнике в зависимости от возраста, характера питания и состава кишечной микробиоты [5,6].

Высокая концентрация этого фермента регистрируется у больных с онкологией кишечника, тогда как у больных с ВЗК, наоборот, отмечено снижение почти в 2–3 раза по сравнению с нормой [7,3].

Вместе с тем, в литературе недостаточно данных о содержании фекальной  $\beta$ -глюкуронидазы больных с ЯК и БК в зависимости от степени тяжести патологического процесса.

**Цель:** исследовать активность  $\beta$ -глюкуронидазы в экстрактах кала у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника – ЯК и БК при различной степени тяжести и определить значимость как лабораторного критерия в диагностике, лечении и прогнозе течения ВЗК.

## Материалы и методы исследования

В исследование проспективно было включено 105 человек – 82 пациента с ВЗК (29 -БК, 53 -ЯК) и 23 здоровых добровольца без клинических и лабораторных признаков воспалительных процессов в организме и заболеваний кишечника, составивших группу сравнения. Постановку диагноза, классификацию больных ЯК и БК проводили в соответствии с клиническими рекомендациями по диагностике и лечению взрослых пациентов с ЯК [8] и БК [9]. Тяжесть обострения оценивали по индексу активности ЯК (Мейо) [10]: легкая степень отмечена у 23 пациентов, средняя – 22, тяжелая – 8; и индексу активности БК (индекс Беста) [11]: легкая степень – 10, средняя – 11, тяжелая – 8.

Определение  $\beta$ -глюкуронидазы. 0,1 мл образца смешивали с 0,1 мл раствора фенолфталеин глюкуронида (Sigma) и 0,8 мл 0,2 М ацетатного буфера (рН 5,0), инкубировали при 37°C в плотной

закрытых пробирках. Через 18 часов в каждую пробирку приливали 0,5 мл 0,01 М раствора NaOH, 1 мл  $H_2O$  и измеряли оптическую плотность (ОП) при 550 нм. Концентрацию  $\beta$ -глюкуронида в пробах определяли по калибровочной кривой зависимости ОП от концентрации фенолфталеина и выражали в мкМ/г/час.

Статистическая обработка. Использовались методы описательной статистики. Описание признаков, имеющих небольшую выборку, представлены в виде Me [Q1; Q3], где Me – медиана, Q1 и Q3 – соответственно первый и третий квартили. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием непараметрических критериев: критерии Манна – Уитни для межгруппового сравнения в двух независимых группах для количественных показателей.

## Результаты исследования

Наши исследования показали, что активность  $\beta$ -глюкуронидазы в кале как больных, так и здоровых добровольцев варьировала в очень широких пределах – от нулевых значений до 245,8 мкМ/г/час. Отсутствие этого фермента регистрировалось чаще у больных, чем у здоровых лиц (таблица 1). Наиболее часто активность  $\beta$ -глюкуронидазы отсутствовала у больных с БК (24% случаев).

Нами было показано, что активность  $\beta$ -глюкуронидазы в кале у больных с ВЗК оказалась даже несколько выше по сравнению с контрольной группой. Хотя разница имела не достоверный характер: так, при ВЗК этот показатель составлял  $86,81 \pm 8,4$  мкМ/г/час, а в норме  $76,04 \pm 10,13$  мкМ/г/час ( $p > 0,05$ ).

Далее был проведен анализ активности фермента отдельно у пациентов с БК и ЯК. Результаты представлены на рис. 1.

Мы не обнаружили достоверных различий в активности фермента ни у пациентов с БК и ЯК по сравнению с нормой, ни при сравнении групп между собой.

Данные об активности  $\beta$ -глюкуронидазы у больных с ЯК и БК при различной степени тяжести представлены в таблицах 2 и 3.

При обеих формах ВЗК не обнаружено достоверных различий в активности фермента при тяжелой, легкой и средней степени тяжести ни по сравнению с нормой, ни при сравнении между группами больных.

Таким образом, нами было показано отсутствие достоверных различий активности  $\beta$ -глюкуронидазы в фекалиях у больных с ВЗК и здоровых добровольцев.

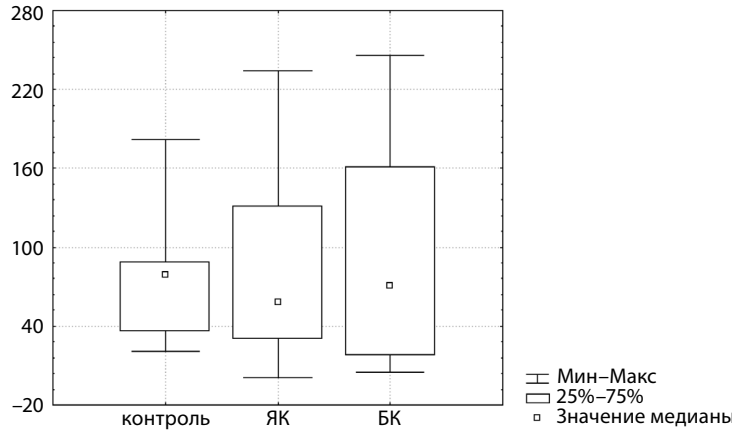
## Обсуждение полученных результатов

В последние годы ключевая роль в развитии ВЗК придается кишечной микробиоте, хотя молекулярные медиаторы и механизмы повреждения кишечника точно не установлены.

Одним из возможных медиаторов может быть микробная  $\beta$ -глюкуронидаза, которая принимает участие в метаболизме ксено- и эндобиотиков, таких как лекарственные препараты, гормоны,

Обследуемые группы	β-глюкуронидаза+	β-глюкуронидаза -
ЯК (N=53)	90,6% (N =48)	9,4% (N=5)
БК (N=29)	75,9% (N =22)	24,1% (N=7)
Здоровые (N=23)	95,7% (N =22)	4,3% (N=1)

**Таблица 1.**  
Частота встречаемости β-глюкуронидазы в кале у больных с ВЗК и здоровых добровольцев.



**Рисунок 1.**  
Активность фекальной β-глюкуронидазы у пациентов с ВЗК (мкМ/г/час)

№	Степень тяжести	Активность глюкуронидазы в мкМ/г/час	P <sub>1</sub>	P <sub>2-3</sub>	P <sub>3-4</sub>	P <sub>2-4</sub>
1	Норма(N=23)	76,05±48,61				
2	Легкая (N=23)	96,05±76,16	0,3	0,45		
3	Средняя (N=22)	70,38±68,5	0,75		0,5	
4	Тяжелая (N=8)	89,5±47,94	0,52			0,15

**Таблица 2.**  
Активность фекальной β-глюкуронидазы у больных с ЯК при различной степени тяжести.

**Примечание:**  
P<sub>1</sub> – по сравнению с группой контроля; P<sub>2-3</sub>, P<sub>3-4</sub>, P<sub>2-4</sub> – сравнение между группами пациентов.

№	Степень тяжести	Активность глюкуронидазы в мкМ/г/час	P <sub>1</sub>	P <sub>2-3</sub>	P <sub>3-4</sub>	P <sub>2-4</sub>
1	Норма(N= 23)	76,05±48,61				
2	Легкая(N=10)	67,27±57,44	0,68	0,15		
3	Средняя(N=11)	129,38±97,5	0,05		0,33	
4	Тяжелая (N=8)	80,38±76,16	0,86			0,71

**Таблица 3.**  
Активность фекальной β-глюкуронидазы у больных с БК при различной степени тяжести.

**Примечание:**  
P<sub>1</sub> – по сравнению с группой контроля  
P<sub>2-3</sub>, P<sub>3-4</sub>, P<sub>2-4</sub> – сравнение между группами пациентов

билирубин. Хорошо известно, что они подвергаются биотрансформации в печени путем конъюгирования с глюкуроновой кислотой [4]. Это придает им большую растворимость и возможность удаления с желчью в кишечник. Фекальная β-глюкуронидаза, источником которой являются многие представители комменсальной микрофлоры, может подвергать их деконъюгированию, результатом чего является увеличенная их энтерогепатогенная рециркуляция и, в некоторых случаях, образование токсических продуктов и мутагенов, что увеличивает их канцерогенность. Также в кишечнике под ее действием конъюгированный билирубин превращается в неконъюгированный, который может, в свою очередь, значительно снижать активность протеолитических ферментов, таких как трипсин, химотрипсин [12,13]. Конъюгированный билирубиной способностью не обладает.

По данным Хиаофа Qин и других авторов, у больных с ВЗК имеется сниженное, по сравнению с нормой, количество β-глюкуронидазы в кишечнике

[13]. По их мнению, следствием низкого содержания фекальной β-глюкуронидазы является недостаточная инактивация пищеварительных ферментов – трипсина и химотрипсина, которые в синергизме с другими, возможно, микробными, протеазами вызывают деградацию муцина и нарушение кишечного барьера. Это может приводить к транслокации бактерий и их антигенов, в стенку кишечника, с последующим формированием нейтрофильного воспаления и (или) поддержанию уже имеющегося процесса.

Полученные нами результаты не согласуются с литературными данными о низком содержании β-глюкуронидазы в фекалиях больных ВЗК: как при ЯК, так и при БК нами не было получено достоверных различий в ее количестве по сравнению с нормой.

В зависимости от степени тяжести БК и ЯК нами также не было обнаружено достоверных различий в уровне фекальной β-глюкуронидазы между группами и по сравнению с контролем.

Причины несоответствия наших результатов некоторым литературным данным объяснить в настоящее время не представляется возможным. Уровень  $\beta$ -глюкуронидазы в кале зависит от ряда факторов, например, от характера питания: так, на экспериментальных животных было показано, что преобладание белковой и жирной пищи приводит к повышению активности фермента, а углеводной – к снижению [6]. Кроме того, мало известно о распространенности данного фермента среди микроорганизмов кишечной микрофлоры; по некоторым данным, среди них только около 50 видов обладают генами, кодирующими данный фермент, поэтому, очевидно, небольшие сдвиги в кишечной

экосистеме могут приводить к её значительным индивидуальным вариациям, как это показано в наших исследованиях [14].

Заключение. Полученные нами результаты свидетельствуют о несущественном значении фекальной  $\beta$ -глюкуронидазы в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника. Установлено, что активность фекальной  $\beta$ -глюкуронидазы при БК и ЯК при разной степени тяжести не отличалась от нормы.

Определение активности фекальной  $\beta$ -глюкуронидазы не может служить объективным лабораторным критерием для определения степени тяжести ВЗК и прогнозирования течения болезни.

## Литература | References

1. *Bien J.* The intestinal microbiotadysbiosis and Clostridium difficile infection: is there a relationship with inflammatory bowel disease? / J. Bien, V. Palagani, P. Bozko // TherapAdvGastroenterol. – 2013. – № 6. – P. 53–68.
2. *Monaghan T.M.* Pathogenesis of Clostridium difficile Infection and Its Potential Role in Inflammatory Bowel Disease / T.M. Monaghan, A. Cockayne, Y.R. Mahida // Inflamm Bowel Dis. – 2015. – № 21 (8). – P. 1957–1966.
3. *Mroczyńska M, Galecka M, Szachta P, Kamoda D, Libudzisz Z, Roszak D.* Beta-glucuronidase and Beta-glucosidase activity in stool specimens of children with inflammatory bowel disease. // Pol J Microbiol. 013;62(3):319–25.
4. *Samuel J.* Pellock and Matthew R. Redinbo. Glucuronides in the gut: Sugar-driven symbioses between microbe and host // J. Biol. Chem. (2017) 292(21) 8569–8576
5. *McBain A. J., Macfarlane G. T.* (1998) Ecological and physiological studies on large intestinal bacteria in relation to production of hydrolytic and reductive enzymes involved in formation of genotoxic metabolites. J Med Microbiol 47: 407–416
6. *Shiau S. Y., Chang G. W.* (1983) Effects of dietary fiber on fecal mucinase and  $\beta$ -glucuronidase activity in rats. J Nutr 113: 138–144
7. *Kim DH, JinYH* (2001) Intestinal bacterial  $\beta$ -glucuronidase activity of patients with colon cancer. Arch Pharm Res 24: 564–567
8. *Ивашкин В. Т.* Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению взрослых пациентов с язвенным колитом / В. Т. Ивашкин, Ю. А. Шелыгин, Д. И. Абдулганиева и др. // Колопроктология. – 2013. – № 3(45). – С. 2–21.  
*Ivashkin V. T., Shely'gin Yu. A., Abdulganieva D. I. i dr.* Proekt klinicheskix rekomendacij po diagnostike i lecheniy u vzrosly'x pacientov s yazvenny'm kolitom [Draft clinical guidelines for the diagnosis and treatment of adult patients with ulcerative colitis]. Koloproktologiya – [Coloproctology], 2013, no. 3(45), – pp. 2–21.
9. *Ивашкин В. Т.* Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению взрослых пациентов с язвенным колитом / В. Т. Ивашкин, Ю. А. Шелыгин, Д. И. Абдулганиева и др. // Колопроктология. – 2013. – № 3(45). – С. 22–38.  
*Ivashkin V. T., Shely'gin Yu. A., Abdulganieva D. I. i dr.* Proekt klinicheskix rekomendacij podiagnostike i lecheniy u vzrosly'x pacientov s yazvenny'm kolitom [Draft clinical guidelines for the diagnosis and treatment of adult patients with ulcerative colitis]. Koloproktologiya – [Coloproctology], 2013, no. 3(45), – pp. 22–38.
10. *James D. Lewis* Use of the Non-invasive Components of the Mayo Score to Assess Clinical Response in Ulcerative Colitis / James D. Lewis, Shaokun Chuai, Lisa Nessel et al. // Inflamm Bowel Dis. – 2008. – № 14(12). – P. 1660–1666.
11. *Best W. R.* Rederived values of the eight coefficients of the Crohn's disease activity index (CDAI) / W. R. Best, J. M. Beckett, J. W. Singleton // Gastroenterology. – 1979. – № 77. – P. 843–846.
12. *Qin X.* Etiology of inflammatory bowel disease: a unified hypothesis. / Qin X // World J Gastroenterol. 2012 Apr 21; 18(15): 1708–1722.
13. *Qin XF.* Impaired inactivation of digestive proteases by deconjugated bilirubin: the possible mechanism for inflammatory bowel disease. Med Hypotheses 2002; 59: 159–163 [PMID: 12208202 DOI: 10.1016/S0306-9877(02)00243-8]
14. *McIntosh FM, Maison N, Holtrop G, Young P, Stevens VJ, Ince J, et al.* Phylogenetic distribution of genes encoding beta-glucuronidase activity in human colonic bacteria and the impact of diet on faecal glycosidase activities. // Environ Microbiol. 2012