

ФАРМАКОЛОГИЯ, ФАРМАЦИЯ, МЕДИЦИНСКАЯ ХИМИЯ

УДК 616.33-002.153-022:616.9.001.6

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ ГЕЛИКОБАКТЕРОПОДОБНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА

А.А. Спасов, М.В. Черников, А.С. Сперанская, С.И. Зайченко

Кафедра фармакологии, кафедра судебной медицины ВолГМУ; ВНЦ РАМН, лаборатория экспериментальной фармакологии

Одним из механизмов повреждающего действия *Helicobacter pylori* на слизистую оболочку желудка (СОЖ) является реализация каскадного процесса (рис. 1), приводящего к образованию активного цитотоксического вещества – монохлорамина (NH_2Cl) [2, 3, 4].

Вследствие высокой уреазной активности *H. pylori*, в желудке инфицированных пациентов создаются высокие концентрации аммиака (NH_4OH) [6]. Целый ряд факторов, которые традиционно рассматриваются в качестве этиологических при язвенной болезни (стресс, курение, хронические воспалительные заболевания желудка и др.) вызывают нарушения микроциркуляции в СОЖ [5, 8]. Являющиеся результатом ишемии и гипоксии приводят к повышению активности ксантиноксидазы и образованию повышенных количеств пероксида водорода нейтрофилами, что, в свою очередь, ведет к увеличению

образования хлорноватистой кислоты (HClO), при взаимодействии с которой из аммиака образуется монохлорамин (NH_2Cl), непосредственно вызывающий повреждение СОЖ, причем в значительно более низких концентрациях, чем NH_4OH [2, 7, 8, 9].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Воспроизвести специфические монохлораминные повреждения СОЖ крыс эндогенно образуемым из гидроксида аммония монохлораминном на фоне острой тотальной ишемии, стимулирующей образование нейтрофилами хлорноватистой кислоты и, как следствие, увеличение образования NH_2Cl непосредственно в СОЖ [9].

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 40 нелинейных белых крысах обоего пола массой 180–230 г, содержащихся в условиях вивария ВолГМУ. Животные подвергались 24-х часовой пищевой депривации со свободным доступом к воде. Для воспроизведения специфических механизмов геликобактерного ульцерогенеза опытной группе животных вводился раствор гидроксида аммония в субповреждающих концентрациях (100 ммоль/л) на фоне ишемии путем создания острой кровопотери. У наркотизированных нембуталом крыс (40 мг/кг, внутривенно) кровь забиралась из сонной артерии дозировано из расчета 1 мл на 100 г веса [10]. Сразу после забора крови опытным животным вводился 1 мл раствора NH_4OH в концентрации 100 ммоль/л. Контрольной группе вводился 1 мл раствора NH_4OH в аналогичной концентрации без предварительной кровопотери. Через 1 ч животных декапитировали. Желудок извлекался, разрезался по продольной оси и промывался физиологическим раствором. Площадь

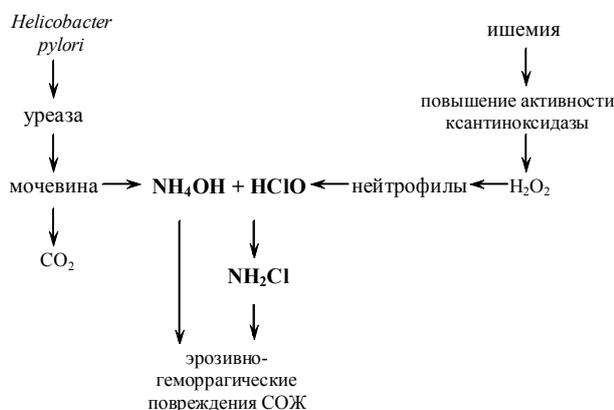


Рис. 1. Механизм образования повреждающих факторов при инфицировании *Helicobacter pylori* (по концепции Umeda M. et al., 1999)

(15)

повреждений СОЖ крыс подсчитывали под бинокулярной лупой при 10-кратном увеличении. Для количественного описания степени повреждений определялся эрозивно-язвенный индекс в мм²/животное.

Морфологическая оценка характера повреждений СОЖ проводилась на макро- и микропрепаратах стенки желудка экспериментальных животных. Образцы тканей фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина с последующей заливкой в парафин. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, азуром II – эозином, толуидиновым синим при pH = 4,8–5,0 для оценки морфофункционального состояния тучных клеток. При описании гистологических препаратов отмечали следующие основные параметры: характер клеточной инфильтрации, степень выраженности отека подслизистого слоя и полнокровия сосудов, степень выраженности дегрануляции тучных клеток [1]. Морфофункциональное состояние СОЖ оценивали путем подсчета количества сегментоядерных лейкоцитов, лимфоцитов, плазмочитов в пяти полях зрения микроскопа при увеличении $\times 400$ (объектив $\times 40$, окуляр на $\times 10$) и вычислялся средний арифметический показатель на одно поле зрения.

Полученные данные обработаны статистически при помощи t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

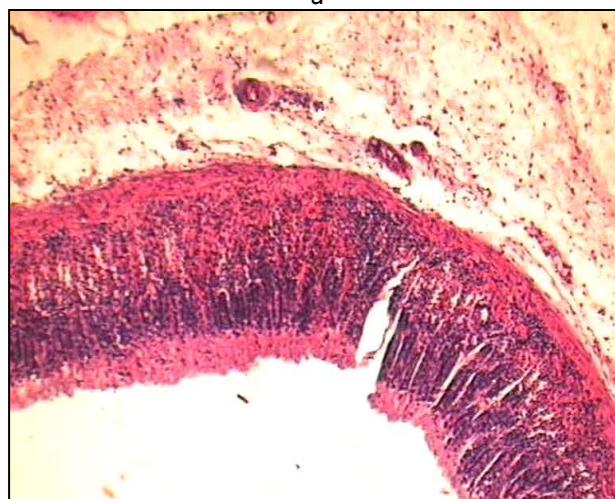
В результате исследования обнаружено, что раствор NH₄OH при введении в низких концентрациях (100 ммоль/л) на фоне ишемии вызывал повреждение СОЖ значительно большей площади по сравнению с таковыми без ишемии. На макропрепаратах при патоморфологическом исследовании СОЖ крыс после введения раствора аммиака (100 ммоль/л) на фоне острой ишемии обнаружены множественные выраженные эрозии и язвы. Эрозивно-язвенный индекс при повреждении СОЖ на фоне ишемии составил $36,8 \pm 2,41$ мм²/животное, без ишемии – $10,22 \pm 2,37$ мм²/животное.

Морфологическая картина повреждений стенки желудка, вызванных введением аммиака в концентрации 100 ммоль/л на фоне острой ишемии (рис. 2), характеризовалась очаговыми множественными коагуляционными некрозами эпителия глубиной до 1/5–1/4 толщины СОЖ, дистрофическими и некробиотическими изменениями покровного эпителия на некотором расстоянии от участков некроза. В собственной пластинке СОЖ отмечена максимально выраженная воспалительная клеточная инфильтрация, представленная в основном полиморфно-ядерными нейтрофильными лейкоцитами, лежащими, как правило, небольшими группами. Клеточная инфильтрация с преобладанием полиморфно-ядерных лейкоцитов диффузно-очагового характера в зонах некроза эпителия распространялась

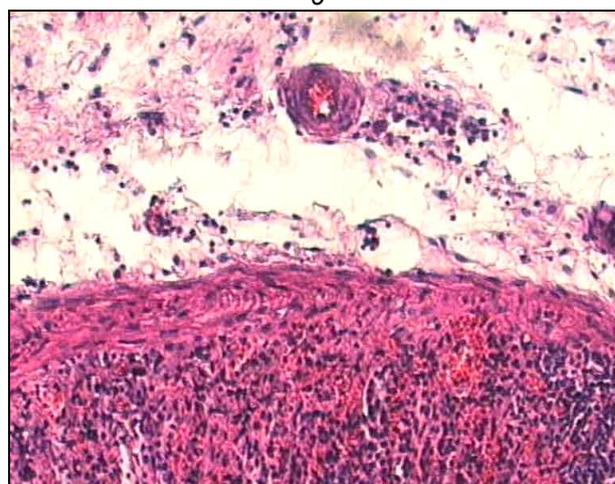
также на подслизистый слой.



а



б



в

Рис. 2. Микрофотографии СОЖ крысы при интрагастральном введении раствора NH₄OH (100 ммоль/л): а – (ув. $\times 80$, окраска гематоксилин-эозином) – без ишемии – неспецифическое повреждение гидроксидом аммония – умеренный отек подслизистого слоя, поверхностные некрозы слизистой оболочки желудка; б – (ув. $\times 70$, окраска гематоксилин-эозином); в – (ув. $\times 200$, окраска гематоксилин-эозином) – на фоне ишемии – специфическое повреждение монохлорамином – выраженная инфильтрация слизистого и подслизистого слоев полиморфно-ядерными лейкоцитами, выраженный отек подслизистого слоя, полнокровие сосудов, краевое

стояние лейкоцитов, отек и набухание стенок сосудов, некроз слизистой оболочки желудка на 1/5

Таблица

Количественные характеристики инфильтрации клеточными элементами СОЖ желудка крыс при введении раствора NH₄OH (100 ммоль/л)

Тип клеток	Количество клеток в одном поле зрения ($M \pm m$)	
	На фоне ишемии (моноклораминное повреждение)	Без ишемии (контроль)
Полиморфно-ядерные лейкоциты	9,4±1,21*	2,7±0,33
Лимфоциты	6,2±0,86*	1,3±0,27
Плазматические клетки	3,2±0,58	1,4±0,24

* – данные достоверны по отношению к контролю ($p \leq 0,01$).

Обращали на себя внимание максимально выраженные признаки нарушения кровообращения: выраженный отек подслизистого слоя, полнокровие сосудов, краевое стояние лейкоцитов в сосудах, лейкодиapedез. Среди тучных клеток преобладали клетки с явлениями дегрануляции, отдельные клетки с признаками голокриновой секреции. Собственная мышечная пластинка, мышечный и серозный слои – без видимых изменений. Количественные характеристики клеточной инфильтрации представлены в таблице.

При введении раствора аммиака в концентрации 100 ммоль/л без ишемии морфологические проявления повреждения характеризовались значительно меньшей степенью их выраженности: некрозы эпителия носили более поверхностный и менее распространенный характер. Кроме того, в данной группе воспалительная инфильтрация полиморфно-ядерными лейкоцитами собственной пластинки СОЖ и подслизистого слоя была слабо выраженной (см. табл.), имели место незначительный отек подслизистого слоя и умеренное полнокровие сосудов. Со стороны тучных клеток отмечено преобладание клеток с обильной метакроматической

зернистостью, отдельные клетки – с явлениями дегрануляции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что модель повреждения СОЖ с применением малых субэрозивных концентраций раствора аммиака, на фоне нарушения микроциркуляции, вызванной тотальной ишемией, отражает специфические механизмы повреждения СОЖ эндогенным NH₂Cl. Данный механизм повреждения СОЖ в большей степени соответствует процессу ульцерогенеза при инфицировании *Helicobacter pylori*, чем при введении эрозивных концентраций раствора аммиака без моделирования ишемии. Учитывая полученные данные, моноклораминная модель язвообразования может быть использована при комплексном изучении гастропротективного действия противоязвенных средств, как воспроизводящая один из аспектов процесса язвообразования при геликобактерной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002.
2. Badwey J.A., Karnovsky M.L. // Annu. Rev. Biochem. – 1980. – Vol. 49. – P. 695–726.
3. Grisham M.B., Hernandez L.A., Granger D.N. // Am. J. Physiol. – 1986. – Vol. 251. – P. 567–574.
4. Grisham M.B., Jefferson M.M., Thomas E.L. // J. Biol. Chem. – 1984. – Vol. 259. – P. 10404–10413.
5. Kalia N., Jacob S., Broun N.J., et al. // Gut. – 1997. – Vol. 41. – P. 748–752.
6. Marshall B.J., Langton S.R. // Lancet. – 1986. – P. 965–966.
7. Murakami M., Asagoe K., Dekigai H., et al. // Dig. Dis. Sci. – 1995. – Vol. 40. – P. 268–273.
8. Suzuki H., Miura S., Suzuki M., et al. // Keio J. Med. – 1994. – Vol. 43, № 1. – P. 1–8.
9. Umeda M., Fujita A., Nishiwaki H., et al. // J. Gastroenterol. Hepatol. – 1999. – №14. – P. 859–865.
10. Van Zyl J.M., Kriegler A., Van der Walt B.J. // Biochem. Pharmacol. – 1993. – Vol. 45, № 12. – P. 2389–2397.

Spasov A.A., Chernikov M.V., Speranskaya A.S., Zaichenko S.I. Experimental model of Helicobacter-like of gastric mucosal injury // Vestnik of Volgograd State Medical University. – 2005. – № 3(15). – P. 24–26.

The present study was designed to examine the role of ammonia-monochloramine system in gastric mucosal injury. Mucosal application of ammonia in sub erosive concentration (100 mM) leads to insignificant lesions in unanesthetized rat stomach. Mucosal exposure to ammonia (100 mM) plus acute ischemia by bleeding from the carotid artery followed monochloramine synthesis caused severe hemorrhagic gastric lesions. These results suggest that monochloramine damages the gastric mucosa at much lower concentration than ammonia and this testing procedure may be used as a model of Helicobacter pylori-associated injury of gastric mucous.