



А.В. Якубов, Н.И. Пулатова

Ташкентская медицинская академия, Узбекистан

Состояние цитопротекции в слизистой оболочке желудка при применении некоторых препаратов с антихеликобактерным эффектом

Цель — изучить состояния некоторых показателей цитопротекции в слизистой оболочке желудка при применении компонентов терапии второй линии на модели экспериментальной язвы.

Материалы и методы. На 72 белых крысах-самцах с экспериментальной язвой изучено влияние компонентов противоязвенной терапии второй линии («Де-Нол», тетрациклина и фуразолидона) на состояние слизистого барьера, активность ферментов монооксигеназной системы, образование NO в слизистой ткани желудка.

Результаты. Препараты терапии второй линии оказывают на состояние слизистого барьера разнонаправленное действие. Фуразолидон — подавляет, «Де-Нол» — стимулирует, а тетрациклин не влияет на синтез слизистого барьера желудка. Одной из причин разнонаправленного действия изучаемых препаратов на синтез слизистого барьера является индуктивный эффект «Де-Нол», ингибирующее действие фуразолидона на ферменты монооксигеназной системы в слизистой оболочке желудка и инертность тетрациклина. Для коррекции нарушений в системе образования NO наиболее эффективным является «Де-Нол». Фуразолидон ингибирует, а тетрациклин не действует на механизмы образования NO.

Выводы. При лечении язвенной болезни нецелесообразно использовать схемы, не включающие фуразолидон.

Ключевые слова: желудок, цитопротекция, «Де-Нол», тетрациклин, фуразолидон.

Патогенез язвенной болезни по-прежнему рассматривают как результат дисбаланса между местными факторами «агрессии» и «защиты» с преобладанием «агрессивных» факторов и ослаблением «защитных». При этом решающая роль отводится «агрессивным» факторам, прежде всего ацидопептическому и инфекционному — *Helicobacter pylori*. Как показывает анализ литературы, эффективность схем тройной и квадротерапии у больных с язвенной болезнью изучена только в плане подавления секреции и эрадикации *H. pylori*. Влияния схем и компонентов противоязвенной терапии на факторы цитопротекции практически не исследовано.

В последнее время появились данные о том, что компоненты тройной терапии могут отрицательно влиять на защитные механизмы в гастродуоденальной зоне. По мнению О.Л. Беловой и соавт.

[2], эрадикационная антимикробная терапия задерживает репарацию язвенных дефектов слизистой оболочки. Согласно данным Л.А. Миловой и соавт. [6], при эрадикационной терапии хронических гастритов повышается индекс апоптоза.

По статистике ведущих мировых исследовательских лабораторий, число штаммов, резистентных к кларитромицину и производным нитроимидазола, постоянно увеличивается. В свою очередь, резистентность значительно снижает эффективность схем терапии первой линии. В связи с увеличением антибиотикорезистентности в ближайшем будущем предпочтение будут отдавать терапии второй линии [10].

Учитывая изложенное, изучение влияния компонентов тройной и квадротерапии второй линии на факторы цитопротекции в слизистой гастродуоденальной зоны приобретает особое значение.

Цель исследования — изучить некоторые показатели цитопротекции в слизистой оболочке же-

лудка при применении компонентов терапии второй линии на модели экспериментальной язвы.

Материалы и методы

Исследования проводили на 72 белых крысах-самцах смешанной популяции массой 150–190 г, которых содержали в виварии на обычном рационе. Экспериментальную язву (ЭЯ) воспроизводили по методу В.А. Вертелкина в модификации И.А. Лосева и соавт. [5]. Экспериментальные животные были распределены на группы в зависимости от применяемого лечения. Выполнено две серии экспериментов в шести группах животных по 6 особей в каждой: 1-я группа — интактная, 2-я — ЭЯ, 3-я — ЭЯ + H₂O (без лечения), 4-я — ЭЯ + «Де-Нол», 5-я — ЭЯ + тетрациклин, 6-я — ЭЯ + фуразолидон. Все препараты вводили перорально в виде водной суспензии в течение 10 дней. «Де-Нол» и тетрациклин использовали в дозе 10 мг/кг, а фуразолидон — в дозе 100 мг/кг массы тела. Интактную группу составили ложнооперированные животные, контрольную — животные с ЭЯ, которые в течение 10 дней получали H₂O. Животные находились в условиях свободного движения, на общевиварийном рационе питания. Все болезненные процедуры выполняли, придерживаясь Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.

Для проведения биохимических исследований животных умерщвляли под эфирным наркозом путем одномоментной декапитации. Желудок извлекали, очищали и промывали холодным физиологическим раствором, удаляли преджелудок, выскабливали слизистый слой, взвешивали и гомогенизировали в физиологическом растворе.

В синтезе нерастворимых гликопротеинов (НГП) особую роль играют такие углеводные

компоненты, как фукоза и сиаловые кислоты, которые обеспечивают упругость и вязкость слизистого барьера. Определение содержания этих компонентов дает ценную информацию о состоянии слизистого барьера. Установлено, что в синтезе НГП из углеводных компонентов и белков участвуют ферменты монооксигеназной системы (МОС). Все этапы синтеза НГП осуществляются с участием различных изоформ цитохрома P450 [15].

Содержание в гомогенате НГП оценивали по содержанию сиаловых кислот и фукозы. Сиаловые кислоты определяли по методу Л.И. Линевики [4], фукозу — по методу П.Д. Рабиновича и соавт. [8]. Для оценки состояния МОС в надосадочной фракции гомогената определяли активность амидопирин-N-деметилазы по методу Р. Попова [7] и НАДФ-Н-цитохром-с-редуктазы по методу С.Н. Williams [14]. Образование NO в слизистой ткани желудка изучали путем определения содержания его метаболитов нитритов и нитратов [9] в микросомальной фракции гомогената. Содержание аминокислоты L-аргинина определяли в надосадочной фракции гомогената слизистой оболочки по методу А. Steven и соавт. [13], активность маркеров NO синтазы — НАДФ-Н-диафоразы — по методу V.T. Норе и соавт. в модификации А.С. Комарина и соавт. [3]. Полученные результаты обрабатывали с использованием t-критерия Стьюдента и стандартного пакета Microsoft Excel. Различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При экспериментальной язве содержание фракций НГП в слизистой ткани желудка значительно снижается (табл. 1). Содержание сиаловых кислот уменьшалось в 2,3 раза ($p < 0,001$), фукозы —

Таблица 1. Содержание фракций нерастворимых гликопротеинов и активность ферментов монооксигеназной системы в слизистой ткани желудка при экспериментальной язве

Группа	Сиаловые кислоты, мкг/мл	Фукоза, мг/мл	Амидопирин-N-деметилаза, нмоль HCOH/(мин·мг)	НАДФН-цитохром-с-редуктаза, нмоль/(мин·мг)
Интактная	3,4 ± 0,2	5,7 ± 0,2	1,7 ± 0,01	17,5 ± 0,9
ЭЯ	1,5 ± 0,1*	1,9 ± 0,1*	0,9 ± 0,1*	7,3 ± 0,6*
ЭЯ + H ₂ O	1,7 ± 0,2*	2,1 ± 0,2*	0,9 ± 0,1*	7,9 ± 0,4*
ЭЯ + «Де-Нол»	2,8 ± 0,2**	3,6 ± 0,2**	1,3 ± 0,1**	9,7 ± 0,6**
ЭЯ + тетрациклин	1,9 ± 0,1*	2,5 ± 0,2*	1,0 ± 0,1*	8,1 ± 0,4*
ЭЯ + фуразолидон	0,5 ± 0,1**	0,8 ± 0,1**	0,5 ± 0,1**	4,4 ± 0,3**

Примечание. * Различия относительно показателей интактной группы статистически значимы ($p < 0,05$).

** Различия относительно показателей животных без лечения статистически значимы ($p < 0,05$).

в 3 раза ($p < 0,001$). У животных группы без лечения эти показатели практически не изменялись.

По нашим данным, «Де-Нол» оказывал стимулирующий эффект на слизистый барьер желудка, а фуразолидон влиял отрицательно. У животных в группе с «Де-Нолом» содержание сиаловых кислот было выше на 63,2 %, чем в группе крыс без лечения ($p < 0,01$), фукозы — на 72,9 % ($p < 0,01$). При лечении фуразолидоном содержание сиаловых кислот снижалось на 70,2 % ($p < 0,002$), фукозы — на 63,1 % ($p < 0,002$). В группе животных, леченных тетрациклином, отмечена тенденция к увеличению синтеза слизистого барьера, однако содержание фракций НПП в этой группе достоверно отличалось от такового в группе без лечения.

При экспериментальной язве активность амидопирин-N-деметилазы снижалась почти в 2 раза ($p < 0,01$), а НАДФ-Н-цитохром-с-редуктазы — в 2,4 раза ($p < 0,001$). У животных без лечения активность ферментов оставалась такой же. У крыс, леченных «Де-Нолом», активность амидопирин-N-деметилазы достоверно возрастала на 41,0 % ($p < 0,05$), а НАДФ-цитохром-с-редуктазы — на 23,7 % ($p < 0,05$). Что касается эффективности остальных препаратов, то согласно полученным данным фуразолидон оказывает на активность ферментов МОС ингибирующий эффект, а тетрациклин не влияет на их активность. В группе с фуразолидоном активность амидопирин-N-деметилазы снижалась на 45,3 % ($p < 0,01$), НАДФ-Н-цитохром-с-редуктазы — на 44,2 % ($p < 0,002$).

Данные о влиянии препаратов стандартных схем терапии второй линии на содержание метаболитов окиси азота, L-аргинина и активность НАДФ-Н-диафороазы в слизистой ткани желудка при экспериментальной язве представлены в табл. 2.

При экспериментальной язве содержание метаболитов NO снижается почти в 3 раза (см. табл. 2). У крыс без лечения наблюдается некоторое увеличение уровня метаболитов NO ($p > 0,05$). У животных, леченных «Де-Нолом», содержание метаболитов NO достоверно увеличивалось на 84,1 % ($p < 0,001$). Фуразолидон ингибировал процессы NO-образования. В этой группе уровень метаболитов NO снижался на 25,5 % ($p < 0,01$). При лечении тетрациклином содержание метаболитов NO недостоверно отличалось от такового в группе без лечения ($p > 0,05$).

Экспериментальная язва сопровождалась снижением содержания L-аргинина на 2,1 раза ($p < 0,001$), а активности НАДФ-Н-диафороазы — в 1,8 раза ($p < 0,001$). В группе с «Де-Нолом» содержание L-аргинина увеличивалось на 81,2 % ($p < 0,001$), НАДФ-Н-диафороазы — на 49,6 % ($p < 0,01$).

Тетрациклин и фуразолидон не влияли на содержание L-аргинина в слизистой ткани желудка, тогда как фуразолидон оказывал ингибирующий эффект на активность НАДФ-Н-диафороазы. В этой группе активность фермента снижалась на 35,8 % ($p < 0,001$). Тетрациклин не оказывал влияния не только на содержание L-аргинина, но и на активность НАДФ-Н-диафороазы ($p > 0,05$).

Как показали наши исследования, препараты терапии второй линии на состояние слизистого барьера желудка оказывают разнонаправленное фармакодинамическое действие. Так, «Де-Нол» положительно влиял на слизистый барьер желудка. Как известно, препараты висмута обладают цитопротективным действием на слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки, повышая локальный синтез простагландина E_2 (в среднем — на 50 %), что в свою очередь увеличивает секрецию бикарбонатов и

Таблица 2. Содержание окиси азота, L-аргинина и активность НАДФ-Н-диафороазы в слизистой ткани желудка при экспериментальной язве

Группа	Метаболиты NO, мкмоль/мг белка	L-аргинин, нмоль/мг белка	НАДФ-Н-диафороаза, нмоль/(мин·мг белка)
Интактная	9,4 ± 0,6	19,5 ± 0,7	8,4 ± 0,6
ЭЯ	3,2 ± 0,2*	8,3 ± 0,5*	4,7 ± 0,2*
ЭЯ + H ₂ O	4,3 ± 0,2*	9,3 ± 0,5*	4,6 ± 0,3*
ЭЯ + «Де-Нол»	7,9 ± 0,3**	16,8 ± 0,9#	6,8 ± 0,4#
ЭЯ + тетрациклин	5,0 ± 0,4*	9,8 ± 0,7*	5,0 ± 0,3*
ЭЯ + фуразолидон	3,2 ± 0,2**	9,7 ± 0,5*	2,9 ± 0,2**

Примечание. * Различия относительно показателей интактной группы статистически значимы ($p < 0,05$).

Различия относительно показателей животных без лечения статистически значимы ($p < 0,05$).

слизи, улучшает микроциркуляцию в слизистой оболочке, стимулирует ангиогенез, поддерживает реконструкцию внеклеточного матрикса, оказывает противовоспалительное действие. К сожалению, в литературе сведений относительно эффективности влияния тетрациклина и фуразолидона при монотерапии на защитный слизистый барьер гастродуоденальной зоны мы не нашли.

Полученные нами данные подтверждают особую роль системы МОС в синтезе слизистого барьера. Одной из причин отрицательного влияния фуразолидона на синтез слизистого барьера желудка является его ингибирующий эффект на ферменты МОС. Стимулирующий эффект «Де-Нола» на слизистый барьер желудка обусловлен его индуктивным влиянием.

Вероятно, индуктивный эффект «Де-Нола» обусловлен несколькими механизмами, которые играют важную роль в полноценном функционировании МОС. Необходимо особо подчеркнуть влияние «Де-Нола» на синтез простагландина E_2 в слизистой ткани, в результате чего улучшается кровоток, снижаются процессы окислительного стресса и деградация фосфолипидных мембран клеточных и субклеточных структур, в том числе в эндоплазматическом ретикулуме, что в конечном итоге приводит к стимуляции активности МОС желудка.

Ингибирующему эффекту метронидазола и фуразолидона на ферменты МОС в слизистой ткани желудка посвящены единичные работы. Так, S. Miehle и соавт. [11] утверждают, что метронидазол обладает ингибирующим эффектом на изоформы цитохрома P-450, что может оказывать негативное влияние при антихеликобактерной терапии язвенной болезни. A. Qasim и соавт. [12] отмечают, что при включении в схемы эрадикации фуразолидон отрицательно влияет на механизмы защиты слизистого барьера. Работы посвящены преимущественно ингибирующему эффекту фуразолидона на ферменты МОС в печени, который вызывает антабусоподобный синдром при алкоголизме. Вероятно, ингибирующий эффект фуразолидона на ферменты МОС желудка обусловлен теми же механизмами, что и на ферменты печени.

До настоящего времени влияние тетрациклина на состояние слизистого барьера и возможные патогенетические механизмы его нарушения при язвенной болезни не изучено. В доступной нам литературе такие сведения мы не обнаружили. Существуют работы о влиянии тетрациклина на ферменты МОС в печени. Их авторы утверждают, что в высоких дозах препарат вызывает жи-

ровой гепатоз, при этом содержание цитохрома P450 не изменяется, а активность других ферментов незначительно снижается [15].

Установлено, что NO представляет собой один из важных факторов цитозащиты слизистой гастродуоденальной области. Состояние NO-образования является основным звеном в обеспечении микроциркуляции. Многочисленные факты указывают на то, что одним из основных механизмов ульцерогенеза является недостаточное функционирование системы NO-образования. В наших исследованиях установлено, что «Де-Нол» не только улучшает синтез NO, но и значительно увеличивает содержание субстрата L-аргинина. «Де-Нол» отличается универсальностью механизма цитопротекции. Так, он повышает синтез простагландинов, обладает антиоксидантным эффектом, снижает содержание провоспалительных цитокинов и активность пепсина, частично связывает желчные кислоты, повышает синтез слизи и гидрокарбонатов, связывается с белками в зоне воспаления и некроза, улучшает микроциркуляцию в слизистой оболочке, повышает содержание эпидермального фактора роста и ингибирует адгезию бактерий.

В доступной нам литературе мы не нашли сведений о процессах NO-образования при монотерапии язвенной болезни фуразолидоном и тетрациклином. В наших исследованиях впервые установлено отрицательное влияние фуразолидона и инертность тетрациклина на систему NO-образования.

Выводы

Препараты терапии второй линии оказывают на состояние слизистого барьера разнонаправленное действие. Фуразолидон подавляет, «Де-Нол» стимулирует, а тетрациклин не влияет на синтез слизистого барьера желудка.

Одной из причин разнонаправленного действия «Де-Нола», тетрациклина и фуразолидона на синтез слизистого барьера является индуктивный эффект «Де-Нола», ингибирующее действие фуразолидона и инертность тетрациклина на ферменты МОС в слизистой желудка.

Наиболее эффективным для коррекции нарушений в системе NO-образования является «Де-Нол». Фуразолидон ингибирует, а тетрациклин не действует на механизмы NO-образования.

Перспективы дальнейших исследований. Результаты наших исследований способствуют дальнейшему углубленному изучению защитных механизмов слизистого барьера желудка при язвенной болезни.

Список літератури

1. Афанасьева Т.С., Вахрушев Я.М. Оценка протективных свойств желудочной слизи в динамике терапии больных язвенной болезнью // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 2008.— № 5, приложение № 32. Материалы 14 Гастроэнтерологической Недели.— С. 19.
2. Белова О.Л., Белова И.М., Теплова Е.Н. *Helicobacter pylori* токсигенные и нетоксигенные штаммы в слизистой оболочке желудка у детей с хроническим гастритом и язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.— 2011.— Т. 21, № 5.— С. 115.
3. Комарин А.С., Горбунов В.Н., Даминова Л.Т. Диагностическое значение определения нитратредуктазной активности и продуктов оксида азота при острых токсических поражениях печени: Метод, рекомендации.— Т., 2001.— 13 с.
4. Линевиц Л.И. Силовые кислоты // Успехи биологической химии.— 1962.— № 4.— С. 193—217.
5. Лосев И.А., Кузнецова И.Н. Влияние холинопотенцирующих средств на репаративные процессы в поврежденной слизистой оболочке желудка крыс // Экспер. и клин. фармакол.— 1992.— № 5.— С. 15—17.
6. Милова Л.А., Осадчук А.М., Кветной И.М. Эрадикационная терапия и процессы пролиферации и апоптоза в желудке больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки // Клин. мед.— 2009.— № 5.— С. 43—47.
7. Попов Р. Определяне на пиримидиновата N-деметилаза в черниядроб напльхове // Экспер. мед.— 1973.— Т. 12, № 3.— С. 130—135.
8. Рабинович П.Д., Лилушкин П.В. Биологическое окисление и основные функции желудка у больных язвенной болезнью // Тер. арх.— 1979.— № 11.— С. 103—105.
9. Green L.C., Wanger D.A., Glowsky A.L. et al. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrite in biological fluids // *Analyt. Biochem.*— 1982.— Vol. 126.— P. 131—138.
10. Megraud F. *Helicobacter pylori* and antibiotic resistance // *Gut.*— 2009.— Vol. 56, N 12.— P. 1502—1507.
11. Mielhke S., Schneider-Brachert W., Kirsch C. et al. One-week once-daily triple therapy with esomeprazole, metronidazole, and rifabutin for eradication of persistent *Helicobacter pylori* resistant to clarithromycin // *Helicobacter.*— 2008.— Vol. 13 (1).— P. 69—74.
12. Qasim A., Sebastian S., Thornton O. et al. Rifabutin and furazolidone — based *Helicobacter pylori* eradication therapies after failure of standard first and second-line eradications attempts in dyspepsia patients // *Aliment. Pharmacol. Ther.*— 2007.— Vol. 21, N 1.— P. 91—96.
13. Steven A., Cohen D.J. Aminoacid analysis utilizing Phenylglytosicyanata Derivatives // *Analyt. Biochem.*— 1988.— Vol. 17, N 1.— P. 11—16.
14. Williams C.H., Kamin H. Microsomal triphosphopyridine nucleotide — citochrome — reductase of liver // *J. Biol. Chem.*— 1951.— Vol. 237.— P. 587—595.
15. Yu H.Y., Wang B.L., Zhao J. et al. Protective effect of bicyclol on tetracycline-induced fatty liver in mice // *Toxicology.*— 2009.— N 10.— Vol. 261(3).— P. 112—118.

А.В. Якубов, Н.І. Пулатова

Ташкентська медична академія, Узбекистан

Стан цитопротекції у слизовій оболонці шлунка при застосуванні деяких препаратів з антигелікобактерним ефектом

Мета — вивчення стану деяких показників цитопротекції у слизовій оболонці шлунка при застосуванні компонентів терапії другої лінії на моделі експериментальної виразки.

Матеріали та методи. На 72 білих щурах-самцях з експериментальною виразкою вивчено вплив компонентів противиразкової терапії другої лінії («Де-Нолу», тетрацикліну і фуразолідону) на стан слизового бар'єра, активність ферментів монооксигеназної системи, утворення NO в слизовій тканині шлунка.

Результати. Препарати терапії другої лінії чинять на стан слизового бар'єра різноспрямовану дію: фуразолідон — пригнічує, «Де-Нол» — стимулює, а тетрациклін не впливає на синтез слизового бар'єра шлунка. Однією з причин різноспрямованої дії досліджуваних препаратів на синтез слизового бар'єра є індуктивний ефект «Де-Нолу», інгібувальна дія фуразолідону на ферменти монооксигеназної системи в слизовій оболонці шлунка та інертність тетрацикліну. Для корекції порушень у системі утворення NO найефективнішим є «Де-Нол». Фуразолідон інгібує, а тетрациклін не впливає на механізми утворення NO.

Висновки. При лікуванні виразкової хвороби недоцільно використовувати схеми, які не включають фуразолідон.

Ключові слова: шлунок, цитопротекція, «Де-Нол», тетрациклін, фуразолідон.

A.V. Yakubov, N.I. Pulatova

Tashkent Medical Academy, Uzbekistan

The state of cytoprotection of gastric mucosa at the administration of some preparation with antihelicobacter effect

The aim – to study the state of some parameters of cytoprotection in gastric mucosa at the administration of components of second line therapy on the model of experimental ulcer.

Materials and methods. The investigation has been held on 72 white male rats with experimental ulcer to study the effects of the components of second-line anti-ulcer therapy, including *De-Nol*, tetracycline and furazolidone, on the state of mucosal barrier, enzymatic activity of the monooxygenase system and NO formation in gastric mucosa.

Results. The preparations of second-line therapy drugs produce differently directed effects on the state of the mucosal barrier. Furazolidone inhibits, *De-Nol* stimulates and tetracycline does not affect the synthesis of gastric mucosal barrier. One of the reasons for multidirectional effects of the investigational preparations on the synthesis of mucosal barrier is the inductive effect of *De-Nol*, the inhibitory effect of furazolidone on the enzymes in the gastric mucosal monooxygenase system and inertial of tetracycline. *De-nol* is the most effective for the correction of disturbances in the system of NO production. Furazolidone inhibits, and tetracycline has no effect on the mechanisms of NO formation.

Conclusions. In the treatment of peptic ulcer disease the use of schemes, not including furazolidone, seems to be not rational.

Key words: stomach, cytoprotection, *De-Nol*, tetracycline, furazolidone.

Контактна інформація

Якубов А.В., д. мед. н., проф., зав. кафедри

Тел. +998 (71) 150-97-55

E-mail: prof.yakubov@mail.ru

Стаття надійшла до редакції 21 березня 2013 р.