

УДК 612.015:544

М. В. Маркіна, О. К. Вяткін, В. П. Ляшенко, А. І. Руденко

*Дніпропетровський регіональний державний  
науково-технічний центр стандартизації, метрології та сертифікації  
Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара  
Інститут гастроентерології АМН України*

### **ФУНКЦІОНАЛЬНІ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ШЛУНКА ПРИ ТРИВАЛОМУ ЗАСТОСУВАННІ БЛОКАТОРА ВОДНЕВОЇ ПОМПИ**

Вивчено зміни слизової оболонки шлунка щурів після тривалого застосування інгібітора протонної помпи – омепразолу. Встановлено підвищення концентрації пепсину, об'єму та *pH* як у тощаковій, так і у базальній порціях шлункового соку щодо контролю. При дослідженні вмісту нітратів та нітритів у шлунковому соку та змішаній слині щурів після 12-ї доби введення блокатора водневої помпи співвідношення показників складає 3 : 1.

М. В. Маркина, А. К. Вяткин, В. П. Ляшенко, А. И. Руденко

*Днепропетровский региональный государственный  
научно-технический центр стандартизации, метрологии и сертификации  
Днепропетровский национальный университет им. Олеся Гончара  
Институт гастроэнтерологии АМН Украины*

### **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ БЛОКАТОРА ВОДОРОДНОЙ ПОМПЫ**

Выявлены изменения слизистой оболочки желудка крыс после длительного применения ингибитора протонной помпы – омепразола. Наблюдали повышение концентрации пепсина, объема и *pH* как в тощачевой, так и в базальной порциях желудочного сока по сравнению с контролем. Содержание нитратов и нитритов в желудочном соке и смешанной слюне крыс после 12-го дня введения блокатора водородной помпы составляет 3 : 1.

М. V. Markina, A. K. Vyatkin, V. P. Lyashenko, A. I. Rudenko

*Dnipropetrovsk Regional State Scientific and Technical Centre  
of Standardization, Metrology and Certification  
Oles' Gonchar Dnipropetrovsk National University  
Institute of Gastroenterology, AMS of Ukraine*

### **FUNCTIONAL AND MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE MUCOUS MEMBRANE OF THE STOMACH AFTER LONG APPLICATION OF PROTON PUMP INHIBITORS**

Changes of mucous membrane of rats' stomach after long term application of proton pump inhibition – Omeprazole. Increase of pepsin concentration, volume and *pH* in both fasting and basal gastric juice

in comparison with the control was observed. It is established that the content of nitrates and nitrites in gastric juice and in the rats' mixed saliva after the 12th day of introduction of proton pump inhibitors is 3:1.

### Введение

В развитии ряда патологических состояний верхних отделов пищеварительного тракта (к которым относятся гастрит, язвенная болезнь и гастроэзофагальная рефлюксная болезнь) желудочной гиперацидности отводится важное место. Эти заболевания нередко объединяются в одну группу так называемых «кислотозависимых состояний». Одними из базисных препаратов, которые применяются при лечении «кислотозависимых заболеваний», являются антисекреторные препараты: блокаторы  $H_2$ -гистамино-рецепторов (ранитидин, фамотидин, циметидин) и ингибиторы протонной помпы – ИПП (омепразол (омез), лансопризол) [4; 10]. Антисекреторные препараты надежно подавляют секрецию соляной кислоты и длительно удерживают в желудке нейтральные значения  $pH$ . В отличие от других антисекреторных препаратов, омез подавляет секрецию соляной кислоты в ответ на все известные стимулы. Использование омепразола, который является наиболее мощным ингибитором желудочной секреции [1] из препаратов ИПП в составе антигеликобактерной схемы у больных язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки в фазе обострения, позволяет добиться высоких клинических результатов. Влияние омепразола на последнюю стадию процесса образования желудочной кислоты является дозозависимым и контролирует процесс секреции в течение 24 часов [2; 3; 9].

В последнее время стали появляться данные, что широкое использование антисекреторных средств имеет и негативные аспекты, которые сопровождаются выраженным усилением морфологических и иммунологических проявлений воспаления слизистой оболочки желудка [6; 11; 12]. Это может быть связано как с механизмом действия препарата, так и с длительностью его применения. Решение данной проблемы и стало целью наших исследований.

### Материал и методы исследований

Эксперимент проводили на белых крысах-самцах массой 200 г. В работе придерживались рекомендаций по проведению медико-биологических исследований с использованием животных согласно с Европейской конвенцией [7].

Изучены изменения слизистой оболочки желудка крыс после применения антисекреторного препарата – 5-метокси-2-[[[4-метокси-3,5-диметил-2-пиридинил]метил]сульфинил]-1Н-бензимидазол (омепразол) на 6-е и 12-е сутки введения. Обследовано 40 крыс, 20 из которых представляли контрольную группу. Крысам экспериментальной группы ежедневно вводили омепразол в концентрации 20 мг/кг. На 6-й и 12-й дни проводили забор слюны и желудочного сока. Исследовали его по кислотности, объему, концентрации пепсина, гликомукопротеинов, электролитному составу.

Проводили световую и электронную микроскопию биоптатов антрального отдела желудка на 12-й день введения омепразола. Эвтаназию животных проводили с помощью передозировки эфирного наркоза. После эвтаназии желудок разрезали по малой кривизне; для фиксации использовали 10 % формалин (1 часть концентрированного формалина, 9 частей 0,01 М PBS (фосфатного буфера);  $pH = 7,2-7,4$ ).

Проводили макроскопическую оценку полученного препарата желудка. В работе использовали окраску образцов гематоксилином, эозином по методу ван Гизона. Этот метод имеет ряд преимуществ по сравнению с окраской гематоксилин-эозином, так как по-разному окрашиваются различные компоненты ткани. При окраске по методу ван Гизона употребляются два раствора: железистый гематоксипин Вейгерта и кислая

смесь пикрофуксина. Проводили реакцию шифф-йодной кислотой (ШИК-реакция) и окраску альциановым синим по Стивдену.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты и их обсуждение

Проведенные эксперименты по изучению показателей состояния желудочной секреции у крыс при длительном введении 5-метокси-2-[[[(4-метокси-3,5-диметил-2-пиридинил)метил]сульфинил]-1Н-бензимидазола показали, что объем и *pH* желудочного сока на 6 и 12-е сутки введения увеличивался как в тощачевой, так и в базальной порциях желудочного сока по сравнению с контролем (табл. 1, 2).

Таблица 1

#### Состояние желудочной секреции крыс при длительной блоировке водородной помпы, тощачевая порция желудочного сока

Показатели желудочной секреции	Контрольная группа	6-й день	12-й день
<i>V</i> , мл/10 мин.	0,25 ± 0,10	0,71 ± 0,33	0,36 ± 0,14
<i>pH</i>	1,69 ± 0,57	1,92 ± 0,80	3,47 ± 0,91*
Пепсин, мг/мл	0,71 ± 0,25	1,22 ± 0,51	0,97 ± 0,27
Гликопротеиды, мг/мл	0,032 ± 0,013	0,010 ± 0,004*	0,034 ± 0,009

Примечание: \* – *p* < 0,05 по отношению к контролю.

Таблица 2

#### Состояние желудочной секреции крыс при длительной блоировке водородной помпы, базальная порция желудочного сока

Показатели желудочной секреции	Контрольная группа	6-й день	12-й день
<i>V</i> , мл/ч	1,53 ± 0,60	2,11 ± 0,87	1,99 ± 0,76
<i>pH</i>	1,71 ± 0,44	2,34 ± 1,07	2,99 ± 0,95
Пепсин, мг/мл	0,81 ± 0,24	1,10 ± 0,45	0,92 ± 0,28
Гликопротеиды, мг/мл	0,032 ± 0,009	0,012 ± 0,005*	0,027 ± 0,008

Примечание: см. табл. 1.

Известно, что пепсин действует только в желудке; при попадании в среду, близкую к щелочной, он становится неактивным. Процесс активации идет в несколько стадий и катализируется соляной кислотой желудочного сока. Поэтому, чем выше *pH*, тем меньше концентрация пепсина. Протеолитическая активность пепсина наблюдается при *pH* < 6, достигая максимума при *pH* = 1,5–2,0 [5].

Концентрация пепсина увеличивалась по сравнению с контролем как в тощачевой, так и в базальной порциях на 6-й день введения препарата. Но при исследовании слизеобразующей функции желудка установлено ее снижение, особенно выраженное на 6-е сутки. В базальной порции желудочного сока уменьшалась концентрация гликопротеидов и на 12-е сутки введения блокатора водородной помпы, в то время как в тощачевой порции наблюдалась тенденция к увеличению данного показателя.

Так как гликопротеиды необходимы для усваивания витамина *B*<sub>12</sub> и их отсутствие приводит к развитию *B*<sub>12</sub>-дефицитной анемии, можно предположить, что повышение концентрации гликопротеидов в желудочном соке на 12-й день сказывается на усилении действия антианемического фактора Касла.

У крыс при длительной блокировке водородной помпы отмечено выраженное повышение концентрации нитритов и нитратов по сравнению с контрольной группой животных как в смешанной слюне, так и в желудочном соке (табл. 3).

Таблица 3

**Содержание нитритов и нитратов в слюне и желудочном соке (тощаковая порция) крыс при длительном введении блокатора водородной помпы**

Анионы	Смешанная слюна		Желудочный сок		
	контроль	12-й день	контроль	6-й день	12-й день
Нитриты, мг/л	3,12 ± 0,13	8,46 ± 0,26*	28,01 ± 0,03	43,60 ± 1,33*	52,92 ± 3,16*
Нитраты, мг/л	1,26 ± 0,04	3,60 ± 0,09*	2,14 ± 0,01	4,66 ± 0,18*	6,92 ± 0,01*

Примечание: \* –  $p < 0,001$  по отношению к контролю.

На 6-й день введения блокатора водородной помпы количество слюны у крыс было минимальным. На 12-й день слюноотделение животных восстановилось, именно поэтому были проанализированы данные по количеству анионов. Определение содержания нитритов и нитратов в смешанной слюне и в тощаковой порции желудочного сока крыс показало, что после 6 и 12-го дней введения 5-метокси-2-[[[4-метокси-3,5-диметил-2-пиридирил]метил]сульфинил]-1Н-бензимидазола наблюдалось достоверное ( $p < 0,001$  по отношению к контролю) увеличение массовой концентрации этих элементов.

Из литературных источников известно, что оксид азота является аутокринным и паракринным медиатором, так как, будучи синтезирован в каких-либо клетках, он способен влиять на метаболические процессы как в самих этих клетках, так и в клетках, расположенных по соседству. Реакция оксида азота с кислородом сопровождается образованием стабильных конечных продуктов (нитрита и нитрата), которые являются косвенными маркерами концентрации оксида азота в организме. Нитриты могут генерировать NO при ацидификации, что происходит в полости желудка [8].

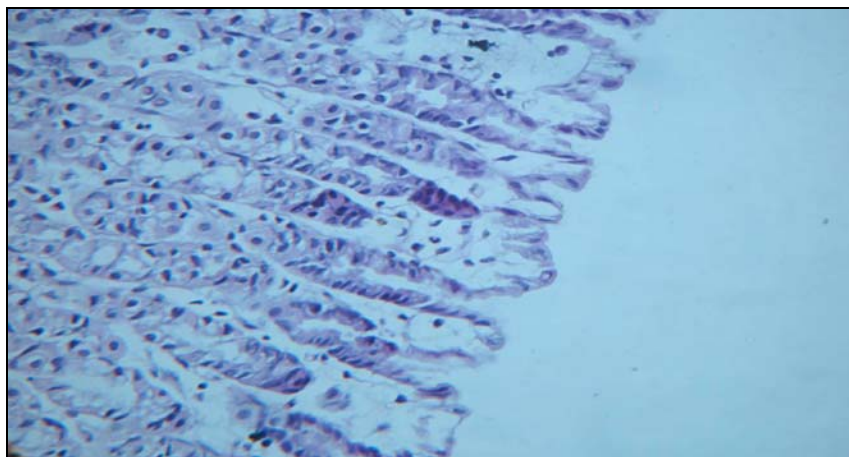
Как видно из таблицы 3, содержание нитритов в слюне на 12-й день введения омепразола увеличилось в 2,7 раза по сравнению с контролем, в то время как в желудочном соке оно увеличилось лишь в 1,9 раза. Также наблюдается увеличение концентрации нитритов в желудочном соке на 6-й день приема антисекреторного препарата омепразола в 1,6 раза по сравнению с контролем. При исследовании содержания концентрации нитратов в желудочном соке и смешанной слюне на 12-й день введения блокатора водородной помпы установлено, что соотношеное показателей составило 3 : 1. В результате проведенных исследований особенно ярко выражены изменения на 12-е сутки введения 5-метокси-2-[[[4-метокси-3,5-диметил-2-пиридирил]метил]сульфинил]-1Н-бензимидазола.

При морфологическом исследовании желудка экспериментальных животных определено, что в железах слизистой оболочки хорошо определялись главные, париетальные и дополнительные клетки. Наблюдалась воспалительная инфильтрация в подслизистом и в слизистом слое; вакуолизация цитоплазмы париетальных клеток, расширен просвет желез нижней трети (рис. 1).

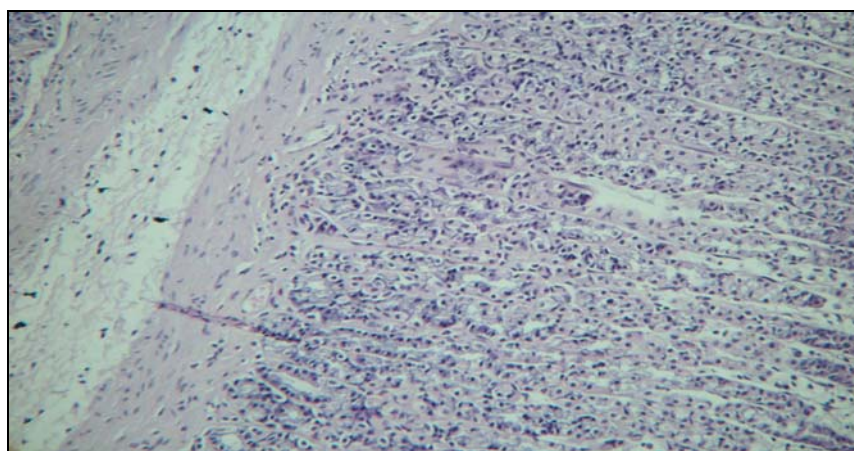
Соединительная ткань у мышечной пластины развита очагово, тяжи до средней трети желез (рис. 2); присутствуют нейтрофилы – признак острого воспаления.

Лейкоцитарная и эозинофильная инфильтрация наиболее выражена в зоне ямок, у мышечной пластины зона главных клеток укорочена, железы очагово кистозно расширены, в том числе в средней трети; клеточные границы отдельных желез стерты, цитоплазма париетальных клеток «запустевшая», в виде бокалов. Сосуды мышечной

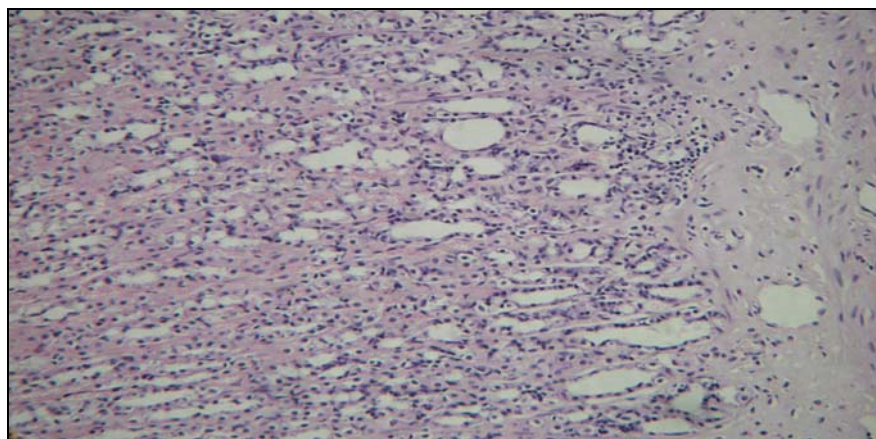
пластины расширены (рис. 3). Поверхностно-ямочный эпителий в норме, количество главных клеток снижено.



**Рис. 1. Просвет желез нижней трети с кистозным расширением**



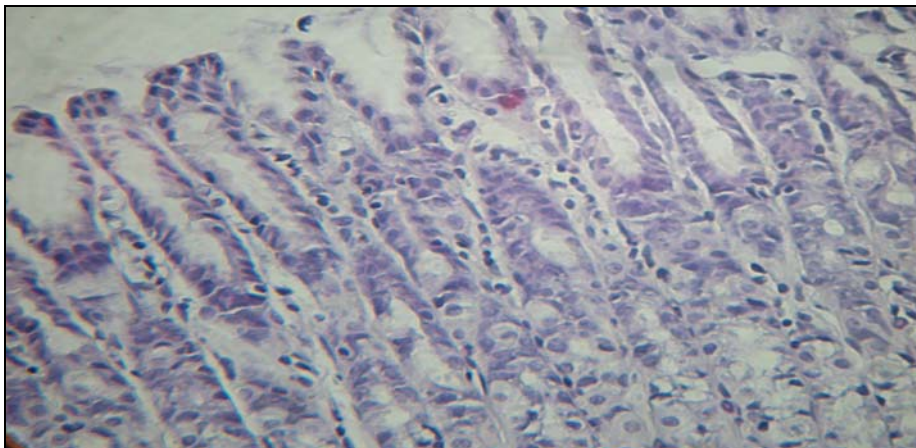
**Рис. 2. Соединительная ткань у мышечной пластины**



**Рис. 3. Лейкоцитарная и эозинофильная инфильтрация в зоне ямок**

Расширение просветов некоторых желез происходит одновременно с уплощением составляющих их клеток. В выстилке кистозных полостей значительно снижается

ферментативная активность. В процессе кистообразования большое значение имеют дисрегенеративные нарушения, начальные фазы которых могут даже сопровождаться гиперплазией железистой ткани (рис. 4).



**Рис. 4. Инфильтрация ямочной зоны**

Усиление пролиферации специализированных клеток приводит к увеличению количества недифференцированных и добавочных клеток, достигающих дна желудка. Гиперплазия добавочных клеток приводит к пилоризации фундальных желез, с последующим расширением их просветов.

#### **Выводы**

В течение первых 6 дней применения ингибитора протонной помпы омепразола наблюдались начальные процессы нарушения деятельности клеточных структур. Наряду с морфологическими происходили и функциональные изменения секреторной деятельности желудка крыс при длительном введении блокатора водородной помпы. На 12-й день введения установлено нарушение обменных и метаболических процессов; наблюдалось снижение кислотообразующей функции, активность главных клеток оставалась высокой. При длительном введении омепразола содержание нитратов и нитритов имеет разную направленность и больше изменяется в смешанной слюне, чем в желудочном соке. Можно предположить, что повреждающий фактор связан именно с работой *NO*-эргической системы. Подобная тенденция изменений может наблюдаться у людей, что требует дальнейших более детальных исследований в данной области.

#### **Библиографические ссылки**

1. **Абдулхаков Р. А.** Резистентность *Helicobacter pylori* к основным компонентам эрадикационной схемы / Р. А. Абдулхаков, Л. В. Кудрявцева, В. А. Исаков // Педиатрия им. Г. Н. Сперанского. – 2002. – № 2. – С. 21–22.
2. **Брискин Б. С.** Возможности использования ингибитора протонной помпы омепразола для лечения кровоточащих дуоденальных язв // Фарматека. – 2005. – № 4–5. – С. 100.
3. **Всероссийская конференция хирургов.** Современные проблемы экстренного и планового хирургического лечения больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки // Хирургия. – 2004. – № 3. – С. 86–87.
4. **Голубчиков М. В.** Статистичний огляд захворюваності населення України на хвороби органів травлення // Сучасна гастроентерологія і гепатологія. – 2000. – № 1. – С. 17–20.
5. **Исаков В. А.** Ингибиторы протонного насоса: их свойства и применение в гастроэнтерологии. – М. : Академкнига, 2001. – 304 с.

6. **Лопина О. Д.** Механизм действия ингибиторов протонного насоса // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. – 2002. – Т. 12, № 2. – С. 38–44.
7. **Международные** рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. – 1993. – № 1. – С. 29.
8. **Ткач С. М.** Новые генерации ИПП в лечении больных с кислотозависимыми заболеваниями // Новые медицинские технологии. – 2002. – № 2. – С. 35–37.
9. **Харченко Н.** Порівняльна ефективність препаратів – блокаторів протонної помпи // Вісник фармакології та фармації. – 2002. – № 8. – С. 2–5.
10. **Чернякевич С. А.** Результаты лечения ингибиторами протонной помпы осложненных дуоденальных язв // Клиническая медицина. – 2002. – № 9. – С. 52–54.
11. **Щербиніна М. Б.** Вплив антисекреторних препаратів різних груп на морфологічні зміни слизової оболонки шлунка при експериментальній виразці у щурів // Фізіол. журн. – 2002. – № 3. – С. 72–75.
12. **Kristin G.** Molecular characterization of rat gastric mucosal response to potent acid inhibition / G. Kristin, K. A. Sandvik // *Physiol. Genomics*. – 2005. – № 4. – P. 24–32.
13. **Miyaoka Y.** Transgenic overexpression of Reg protein caused gastric cell proliferation and differentiation along parietal cell and chief cell lineages // *Oncogene*. – 2004. – N 23. – P. 3572–3579.
14. **Natale G.** Mechanisms of gastroprotection by lansoprazole pretreatment against experimentally induced injury in rats: Role of mucosal oxidative damage and sulfhydryl compounds // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* – 2004. – Vol. 195. – P. 62–72.
15. **CXCL12 activation** of CXCR4 regulates mucosal host defense through stimulation of epithelial cell migration and promotion of intestinal barrier integrity / J. M. Smith, P. A. Johanesen, M. K. Wendt et al. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* – 2005. – Vol. 19. – P. 16–26.
16. **Tohyama Y.** B cell responses to oxidative stress // *Curr. Pharm.* – 2004. – № 10. – P. 35–39.
17. **Syk tyrosine kinase** participates in  $\beta_1$ -integrin signaling and inflammatory responses in airway epithelial cells / M. Ulanova, L. Puttagunta, M. Marcet-Palacios et al. // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* – 2005. – № 18. – P. 7–19.

*Надійшла до редколегії 21.04.2010*