

УДК 616.097+616-092+615.2

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНОГО ТИМОМИМЕТИКА НА ТЕЧЕНИЕ ЭРОЗИВНОГО ГАСТРИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Щербак В.А.

*ГБОУ ВПО «Читинская государственная медицинская академия», Чита,
e-mail: shcherbak2001@mail.ru*

Цель состояла в изучении влияния вилон на течение эрозивного гастрита и иммунный ответ в эксперименте. Исследования проведены на 58 беспородных белых крысах-самцах (возраст 3-5 мес.) весом 160 – 200 гр. Для создания эрозивного процесса в слизистой желудка использовали острый иммобилизационный стресс. Животные были разделены на 2 группы: 1- получала физраствор (1,0 мл внутримышечно), 2 – вилон в дозе 10 мкг. Вилон или физраствор вводили 1 раз в сутки на протяжении 10 дней подряд. Материал забирали на 2, 9 и 21 сутки эксперимента. Острый иммобилизационный стресс сопровождался значительными нарушениями системы иммунитета. Наибольшие изменения наблюдались у крыс, получавших физраствор. Если же в комплексе лечения включали вилон, то отклонения от исходных величин были менее выражены, а нормализация изучаемых показателей наступала значительно раньше. Острый иммобилизационный стресс у крыс характеризуется развитием эрозий и иммунными нарушениями в слизистой оболочке желудка. Тимоиметик вилон ликвидирует нарушения, вызванные стрессом, и оказывает протекторное действие при введении его до стресса.

Ключевые слова: стресс, пептиды, тимоиметик, вилон, крысы, желудок, иммунитет, протекция

EFFECT OF PEPTIDE TIMOMIMETIK ON THE COURSE OF EROSIIVE GASTRITIS IN THE EXPERIMENT

Shcherbak V.A.

Chita State Medical Academy, Chita, e-mail: shcherbak2001@mail.ru

The purpose of this study was to investigate the effect on vilon for erosive gastritis and immune response in the experiment. Research conducted on 58 mongrel white male rats (age 3-5 months), weighing 160 – 200 g. To create erosive process in the gastric mucosa using acute immobilization stress. Animals were divided into 2 groups: 1 received saline (1.0 ml i.m.), 2 – vilon a dose of 10 micrograms. Vilon or saline was injected 1 time per day for 10 consecutive days. Material for the study were taken at 2, 9 and 21 days of experiment. Acute immobilization stress was accompanied by a significant impairment of the immune system. The greatest changes were observed in rats treated with saline. If in the complex treatment includes vilon, the deviation from the initial values were less pronounced, and the normalization of the studied parameters came much earlier. Acute immobilization stress in rats is characterized by the development of immune disorders and erosions in the gastric mucosa. Timomimetik vilon eliminates disorders caused by stress, and has a protective effect when administered before stress.

Keywords: stress, peptides timomimetik, vilon, rat, stomach immunity, protection

К настоящему времени сложилась общепринятая точка зрения о том, что стресс-реакции служат одной из причин развития эрозивно-язвенных процессов в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), ибо этот симптом включен в классическую триаду общего адаптационного синдрома Г. Селье. При стрессе активизируется реакция гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы, сопровождающаяся повышенным выбросом в кровь гормонов надпочечников. Это приводит к нарушениям тех локальных процессов в слизистой оболочке желудка (СОЖ), которые обеспечивают поддержание ее целостности, преимущественно иммунной системы.

Цель исследования состояла в изучении влияния вилон на течение эрозивного гастрита и иммунный ответ в эксперименте.

Материалы и методы исследования

Исследования проведены на 58 беспородных белых крысах-самцах (возраст 3–5 мес.) весом 160 – 200 гр. С целью создания эрозивного процесса в слизистой желудка использовали острый иммобили-

зационный стресс (ОИС) по О.Н. Забродину [1]. За сутки до эксперимента крысы лишались пищи при свободном доступе к воде. Затем животных фиксировали на деревянных станках в положении на спине, привязывая конечности. Для профилактики некрозов через каждые 2 часа конечность (последовательно по одной) освобождалась от лигатур на 5 минут. Фиксация продолжалась 24 часа. После снятия со станков животные были разделены на 2 группы: 1 – получала физраствор (1,0 мл внутримышечно), 2 – вилон в дозе 10 мкг. Пептидный тимоиметик вилон (Lys-Glu) получен путем направленного химического синтеза на основании аминокислотного анализа комплексного препарата тимуса – тималина [7]. Вилон или физраствор вводили 1 раз в сутки на протяжении 10 дней подряд. Материал для исследования забирали на 2, 9 и 21 сутки эксперимента. Сравнение проводили с интактными крысами. Для изучения протекторного действия вилон вводили 1 раз в сутки в течение 3 дней, предшествующих эксперименту, и во время стресса каждые 6 часов по 10 мкг внутримышечно.

Результаты исследования и их обсуждение

В первые сутки после ОИС у крыс наблюдалась общая реакция в виде затормо-

женности, снижения аппетита, жажды, у некоторых животных отмечалось затруднение движений вследствие синюшности и отека дистальных отделов конечностей.

Гистологическое строение органов животных контрольной группы соответствовало вариантам нормы. Стенка желудка и двенадцатиперстной кишки интактных животных построена из 4 оболочек – слизистой, подслизистой основы, мышечной и серозной. Поверхность слизистой оболочки неровная, имела многочисленные складки, особенно по малой кривизне. Микроскопически слизистая оболочка желудка состояла из эпителия, соединительнотканной основы и мышечной пластинки, образованной гладкой мышечной тканью.

На вторые сутки после ОИС при макроскопическом исследовании внутренней поверхности желудка и ДПК отмечены общие и местные изменения. Общие изменения наблюдались на всем протяжении слизистой в виде отека и усиления кровенаполнения сосудов. Выраженность их варьировала от гиперемии до геморрагического пропитывания СОЖ.

Местные изменения были представлены эрозиями линейной или округлой формы длиной от 1 до 15 мм, шириной 0,5–2 мм, располагающимися на вершинах складок. Эрозии были заполнены геморрагическим содержимым черного цвета, не смываемым потоком воды. Наиболее часто эрозии формировались в антральном отделе желудка.

Максимальная интенсивность изменений наблюдалась на вторые сутки после иммобилизации. Число эрозивных поражений было примерно одинаковым и составляло в среднем на одно животное 8,80 ± 0,37 в первой группе и 7,40 ± 0,24 во второй (табл. 1).

Положительным результатом действия вилоня явилась наименьшая поражаемость СОЖ эрозиями, ибо эрозии в этой группе регистрировались в 82,3% случаев, тогда

как в первой – в 90,7%. На 9 день количество острых эрозий снижалось во второй группе до 1,60 ± 0,67 на одно животное, в первой – до 5,4 ± 1,12. Поражаемость эрозиями слизистой оболочки желудка крыс второй группы на 9 день после ОИС составила 46,2%, тогда как в первой группе она достигала 77,4%. На 21 день у животных, леченных вилонем, эрозивных поражений желудка не отмечено, а в 1 группе они сохранялись в 8,7% случаев в виде единичных эрозий размером 1–3 мм в стадии заживления. Таким образом, у крыс, получавших вилон, наблюдалось ускорение репаративной регенерации СОЖ, что выражалось более быстрой эпителизацией эрозивных дефектов.

С целью выявления протекторных свойств вилоня его предварительно вводили крысам в дозе 10 мкг 1 раз в сутки внутримышечно в течение 3 дней до иммобилизации и через каждые 6 часов (всего 4 раза) во время ОИС. Контрольной группой служили крысы, получавшие физраствор. Результаты этой серии опытов свидетельствовали о том, что вилон обладает выраженным протекторным действием, ибо его предварительное введение резко снижало поражаемость СОЖ крыс после ОИС.

Эрозии в опытной группе зарегистрированы в 61,7% случаев, а в контрольной группе в 86,6%. Кроме того, у экспериментальных животных реже формировались крупные эрозии. Отмечено также меньшее количество эрозий в среднем на одно животное: в экспериментальной группе оно составило 1,5 ± 0,9, а в контрольной 9,7 ± 0,4.

При микроскопическом исследовании желудка и двенадцатиперстной кишки на вторые сутки после ОИС выявлены одноптипные деструктивно-воспалительные изменения слизистых оболочек у животных обеих групп. Несмотря на большое количество эрозивных поражений, все они характеризовались относительно малой глубиной распространения, не проникая в подслизистую и мышечную оболочки.

Таблица 1

Количество острых эрозий слизистой оболочки желудка у крыс в различные сроки после ОИС (M ± m)

День эксперимента	Крысы, получавшие физраствор (1 группа)	Крысы, получавшие вилон (2 группа)
2 день	8,80 ± 0,37 (n = 5)	7,40 ± 0,24 (n = 5) p > 0,05
9 день	5,40 ± 1,12 (n = 6)	1,60 ± 0,67 (n = 6) p < 0,05
21 день	1,50 ± 0,50 (n = 6)	0 ± 0 (n = 5) p < 0,05
Протекторное действие	9,67 ± 0,42 (n = 6)	1,16 ± 0,40 (n = 6) p < 0,001

Примечание. p – значимость различий по сравнению с крысами, получавшими физраствор.

Таблица 2

Толщина слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки крыс в разные сроки после острого иммобилизационного стресса ($M \pm m$, мкм)

Условия опыта	Фундальный отдел желудка	Антральный отдел желудка	Двенадцатиперстная кишка
Интактные животные (n = 6)	582 ± 22	598 ± 12	714 ± 16
Вторые сутки			
1 группа (n = 6)	742 ± 15 $p_1 < 0,05$	759 ± 21 $p_1 < 0,05$	882 ± 17 $p_1 < 0,05$
2 группа (n = 7)	731 ± 19 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	744 ± 16 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	868 ± 19 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
Девятые сутки			
1 группа (n = 5)	628 ± 14 $p_1 < 0,05$	651 ± 19 $p_1 < 0,05$	813 ± 24 $p_1 < 0,05$
2 группа (n = 7)	594 ± 17 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	616 ± 11 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	752 ± 14 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
Двадцать первые сутки			
1 группа (n = 6)	607 ± 19 $p_1 < 0,05$	627 ± 16 $p_1 < 0,05$	745 ± 15 $p_1 < 0,05$
2 группа (n = 5)	594 ± 17 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	616 ± 11 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$	752 ± 14 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,01$
Протекторное действие			
1 группа (n = 6)	745 ± 20 $p_1 < 0,05$	761 ± 19 $p_1 < 0,05$	901 ± 18 $p_1 < 0,05$
2 группа (n = 6)	588 ± 19 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	608 ± 19 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$	703 ± 24 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$

Примечания. p_1 – достоверность различий по сравнению с интактными крысами; p_2 – значимость различий между группами, получавших вилон и физраствор.

Покровно-ямочный эпителий желудка был уплощен, почти кубической формы, местами слущен. Гистохимически в клетках покровно-ямочного и железистого эпителия выявлено некоторое уменьшение ШИК-позитивных веществ и рибонуклеопротеидов, что свидетельствовало о резком снижении регенераторных возможностей СОЖ после стресса. Железы менее извиты, общая поверхность желез на 1 мкм² СОЖ снижена на 17,2% ($p < 0,001$) в результате развившегося мукоидного отека СОЖ.

Стресс-реакция сопровождалась выраженными изменениями кровеносных сосудов в слизистой и подслизистой оболочках органов. Характерна артериальная и венозная гиперемия, большинство артерий имели расширенный просвет, внутренняя оболочка их утолщена, а периваскулярно отмечалось накопление ШИК-позитивных веществ. В сосудах микроциркуляторного русла наблюдалось очаговое утолщение стенок, расширение просвета и полнокровные капилляры и венул. Базальные мем-

браны сосудов микроциркуляторного русла утолщены.

В глубоких отделах собственной пластинки слизистой тела желудка и в составе ворсинок ДПК выявлялись реактивные изменения артериол и прекапиллярных артерий в виде появления светлых крупных ядер эндотелия. В субэпителиальных слоях и базальных отделах слизистой оболочки в просвете венул и мелких вен отмечался стаз клеток крови с образованием в некоторых сосудах пристеночных агрегатов из эритроцитов или формированием микротромбов. Это существенно затрудняло кровоток в терминальном отделе внутриорганный сосудистого русла и способствовало повышению сосудистой и тканевой проницаемости.

Микрососудистые нарушения и развитие отека ухудшали трофику СОЖ и ДПК. Интегральным количественным показателем трофических изменений слизистых оболочек считается их толщина. Сравнительная оценка этого параметра приведена в табл. 2.

Анализ данных морфометрического исследования показал достоверное увеличение толщины слизистых оболочек фундального, антрального отделов желудка и ДПК на вторые сутки после стресса у животных обеих групп вследствие экссудативно-воспалительной инфильтрации. Изучение динамики этого показателя свидетельствовало о последующем прогрессивном уменьшении толщины слизистых, причем во второй группе она практически достигала исходных величин уже к девятому дню, в то время как умеренно выраженная экссудативно-воспалительная инфильтрация у крыс первой группы сохранялась до 21 дня.

На вторые сутки после ОИС отмечалась выраженная инфильтрация собственной пластинки слизистой и подслизистой основы желудка и ДПК. Плотность клеточного инфильтрата у крыс, получавших вилон, была в 2–2,5 раза больше, чем у интактных животных, особенно в субэпителиальном слое и базальных отделах слизистой. Среди клеток преобладали мононуклеарные элементы, такие как нейтрофильные лейкоциты, плазматические клетки и особенно лимфоциты, которые диффузно пропитывали всю слизистую оболочку.

Микроскопические исследования подтвердили макроскопическую картину. При введении вилона быстрее нормализовалось количество соединительнотканых компонентов желудка и ДПК, что свидетельствует об ускорении процессов регенерации по сравнению с контролем. Толщина СО желудка и ДПК также быстрее достигала исходных цифр во второй группе животных.

Представленные данные свидетельствуют о том, что ОИС сопровождался значительными нарушениями системы иммунитета. Наибольшие изменения наблюдались у крыс, получавших физраствор. Если же в комплекс лечения включали вилон, то отклонения от исходных величин были менее выражены, а нормализация изучаемых показателей наступала значительно раньше.

Обращает внимание тот факт, что у крыс, получавших физраствор, т.е. служивших контролем, параметры иммунитета к 21 дню не достигали нормы. Полученные данные могут патогенетически обосновать продолжительность лечения у больных людей с эрозивным гастритом. Традиционное лечение обычно длится 21 день, что оказывается недостаточным для восстановления нарушенных показателей этих систем. Включение вилона позволит нормализовать иммунитет в эти сроки, следовательно, при использовании вилона будет сокращен койко-день, и улучшатся результаты лечения. Наши данные согласуются с мнением

Т.В. Поливановой о важной роли коллагеновых волокон в патологии желудка у людей [3].

Важное значение в минимизации последствий негативного действия стресса играет предварительное введение вилон. Тимоиметик, примененный до ОИС, приводил к менее выраженным изменениям показателей иммунитета и липопероксидации. Это позволяет отнести вилон к цитопротекторам, способным защитить клетки от повреждающего действия стресса.

Таким образом, выявленные эффекты вилон имеют важное практическое значение. Основными этиологическими факторами развития эрозивных гастродуоденитов у людей являются инфекция *H. pylori* [9, 15] и стрессовые ситуации [6], а основным методом лечения больных – эрадикация *H. pylori* [12, 14]. Развитие хеликобактерной инфекции у людей сопровождается иммунодефицитом [10, 11, 13]. Использование антибактериальных средств, а в настоящее время рекомендуется четырехкомпонентная схема терапии для борьбы с *H. pylori*, может еще больше усугублять иммунодефицит и вызывать развитие антибиотикоустойчивых штаммов микроорганизма. Примененная нами модель гастрита у крыс показывает, что стресс приводит к выраженным эрозивным изменениям слизистой желудка. В современных условиях стрессовые ситуации у человека встречаются очень часто и являются одним из факторов, способствующих развитию эрозивно-язвенных изменений желудка. Это подтверждается и данными других авторов, получивших положительный эффект от применения вилон при других заболеваниях у людей [2]. Также перспективным представляется применение других иммуномодуляторов [4, 5, 8].

Назначение вилон людям, больным гастродуоденитом, имеет двоякое положительное действие. С одной стороны, он ликвидирует иммунные нарушения, а с другой – способствует лучшей переносимости стрессовых ситуаций. Это позволяет нам рекомендовать тимоиметик вилон для лечения эрозивных гастродуоденитов у человека и для предупреждения формирования иммунодефицита при различных заболеваниях, в том числе и эрозивных повреждениях слизистой оболочки верхних отделов пищеварительного тракта. На наш взгляд, хорошим дополнением, а иногда и альтернативой антибиотикам должна являться биорегулирующая терапия. Мы не отрицаем необходимость эрадикации *H. pylori*, а полученные данные позволяют создавать схемы терапии с включением, как антибиотиков, так и иммуномодуляторов.

Список литературы

1. Забродин О.Н. Роль адренергических механизмов в развитии и заживлении экспериментальных нейрогенных повреждений слизистой желудка (фармакологический анализ): Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Л., 1982. – 42 с.
2. Лиханов И.Д., Цепелев В.Л. Синдром системного воспалительного ответа у больных с перитонитом и возможности его коррекции // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2007. – Т. 68, № 1. – С. 21–23.
3. Поливанова Т.В. Гистоархитектоника коллагеновых волокон в слизистой оболочке желудка у детей с синдромом диспепсии // Забайкальский медицинский вестник. – 2015. – № 2. – С. 94–98.
4. Степанов А.В., Цепелев В.Л. Влияние синтетических пептидов сумки Фабрициуса на функциональную активность макрофагов // Забайкальский медицинский вестник. – 2014. – № 2. – С. 44–47.
5. Степанов А.В., Цепелев В.Л. Иммуностимулятор из центрального органа гуморального иммунитета – сумки Фабрициуса // Сибирский медицинский журнал. – 2013. – № 2. – С. 32–34.
6. Степанов О.Г. Синдром раздраженного кишечника. – Челябинск: Пирс, 2011. – 159 с.
7. Хавинсон В.Х., Соловьев А.Е., Тарновская С.И., Линькова Н.С. // Механизм биологической активности коротких пептидов: проникновение в клетку и эпигенетическая регуляция экспрессии генов // Успехи современной биологии. – 2013. – Т. 133, № 3. – С. 310–316.
8. Цепелев В.Л., Степанов А.В. Влияние регуляторных пептидов на продукцию провоспалительных цитокинов // Забайкальский медицинский вестник. – 2015. – № 2. – С. 147–150.
9. Щербак В.А. Динамика интерлейкинов при лечении детей, больных хроническим гастродуоденитом // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2003. – № 1. – С. 120–121.
10. Щербак В.А. Роль иммуномодуляторов в комплексной терапии детей с хроническим гастродуоденитом, ассоциированным с *Helicobacter pylori* // Вопросы практической педиатрии. – 2008. – Т. 3, № 1. – С. 30–35.
11. Щербак В.А. Современные проблемы детской гастроэнтерологии // Забайкальский медицинский вестник. – 2012. – № 2. – С. 128–137.
12. Щербак В.А. Терапия *Helicobacter pylori*-ассоциированного эрозивного гастродуоденита у детей с использованием цитаминов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2004. – № 1. – С. 180.
13. Щербак В.А., Витковский Ю.А., Кузник Б.И. Иммунные нарушения и обоснование их коррекции при хроническом гастродуодените у детей // Медицинская иммунология. – 2008. – Т. 10, № 1. – С. 59–66.
14. Щербак В.А., Хышиктуев Б.С., Аксенова Т.А., Малужик Л.П. Влияние вентрамина на перекисное окисление липидов у детей, больных эрозивным гастродуоденитом // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 1. – С. 12–14.
15. Shcherbak V.A. Lymphocyte-thrombocyte rosette adhesion in children with chronic gastritis // Journal of Thrombosis and Haemostasis. – 2005. – Vol. 3, Suppl. 1. – P. 1559.