

А.А. АВРАМЕНКО, А.И. ГОЖЕНКО, С.Н. СМОЛЯКОВ

ГИДРОКСИД АММОНИЯ КАК ФАКТОР, ВЫЗЫВАЮЩИЙ ЭРОЗИВНО-ЯЗВЕННЫЕ ПОРАЖЕНИЯ СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ (экспериментальные исследования)

Проведено експериментальне дослідження на 60 щурах для визначення ролі гідроксиду амонію і соляної кислоти, які утворюються у шлунку людини, у процесі формування ерозивно-виразкових уражень слизової гастродуоденальної зони. Підтверджено роль гідроксиду амонію як чинника цих уражень

* * *

ВСТУП

В 1910 году Шварц вывел постулат "Без кислоты нет язвы", который стал руководящей идеей для терапевтов и хирургов по тактике лечения язвенной болезни (ЯБ) [17]. Данное мнение породило такие хирургические способы лечения как резекция желудка и селективная проксимальная ваготомия и применение в терапевтической практике препаратов, подавляющих выработку соляной кислоты париетальными клетками, из которых сейчас широко применяются ингибиторы протонной помпы (ИПП) [4,16,18]. Однако подтвержденные неоднократно данные о том, что формирование эрозивно-язвенных поражений слизистой происходят при любом уровне кислотности, а также нерешённость роли НР-инфекции в механизме язвообразования, заставляют ещё раз вернуться к более детальному изучению возможных факторов повреждения, которые могут формироваться в результате жизнедеятельности хеликобактерной инфекции [1,4,7,11]. При проведении клинических исследований мы обратили внимание на изменение концентрации остаточного аммиака (ОА) - аммиака, который не пошёл на нейтрализацию соляной кислоты желудочного сока, а сконцентрировался в полости желудка, в зависимости от стадии развития язвенного процесса: высокая концентрация аммиака в активной фазе и достоверное снижение его концентрации в более поздних стадиях, когда патологический процесс стихает [5]. Учитывая быстрое вступление аммиака во взаимодействие с влагой с образованием гидроксида аммония - едкой щёлочи, которая повреждает медные и цинковые сплавы при влажности воздуха более 0,2%, а также высокую влажность в полости желудка (85-96%) и 12-перстной кишки (98%) [8,14,20], нами было выдвинуто предположение о том, что повреждающим фактором слизистой является не кислотно-пептический фактор, а формирующийся при определённых условиях в определённом месте концентрированный гидроксид аммония. Проверка этой гипотезы и стала поводом для проведения экспериментальной работы на животных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная работа проводилась на 60 беспородных крысах (25 самцов, 35 самок) в возрасте от 3,5 до 5 мес., весом от 120 г до 180 г, которые содержались на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Для проведения исследований животным вводились растворы гидроксида аммония и соляной кислоты.

Введение растворов проводилось по разработанной нами методике: под поверхностным эфирным наркозом в полость желудка крыс, которые 1 сутки находились без пищи, с помощью зонда вводилось 2,0 мл раствора нужного вещества нужной концентрации, после чего животных помещали в помещения без доступа к пище и воде сроком максимум на 1 сутки [15].

Все подопытные крысы были разделены на 3 группы: в 1-ой группе (20 крыс) животным вводилось по 2,0 мл 1% раствора гидроксида аммония (58,8 ммоль/л); во 2-ой группе (20 крыс) животным вводилось по 2,0 мл 2% раствора гидроксида аммония (117,6 ммоль/л); в 3-ей группе (20 крыс) животным вводилось по 2,0 мл 0,3% раствора соляной кислоты (83 ммоль/л). Концентрации гидроксида аммония были близки к расчётным концентрациям, при которых у людей выявлялись эрозивно-язвенные повреждения, а концентрация соляной кислоты соответ-

ствовала максимально выявляемой концентрации свободной HCl желудочного сока при проведении клинических исследований у больных хроническим хеликобактериозом.

После введения растворов все крысы находились под динамическим наблюдением. Забой крыс проводился через 1 час, через 6 часов, через 12 часов и через 24 часа после введения растворов (в каждой временной подгруппе - по 5 крыс). Под эфирным наркозом проводилась декапитация животных с последующим вскрытием брюшной полости и извлечением желудка и 12-перстной кишки. Желудок и 12-перстная кишка вскрывались по большой кривизне, их слизистая подвергалась макроскопическому исследованию (определялось наличие или отсутствие визуальных повреждений). Гистологические исследования проводились по общепринятой методике. Забор материала для гистологических исследований у подопытных животных проводился из зон желудка и 12-перстной кишки, где визуально определялось повреждение слизистой. Исследования слизистой на наличие НР не проводились ввиду отсутствия хеликобактерной инфекции на слизистой желудка у крыс в естественных условиях, что подтверждалось и нашими предыдущими исследованиями [1,4,10,19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении экспериментальной работы до забоя все животные остались живыми. При динамическом наблюдении за поведением крыс в группах, где животным вводился гидроксид аммония, отмечалось отсутствие активного поведения: животные сидели неподвижно, сжавшись в комок; неохотно реагировали на звуковые раздражители (голос исследователя, постукивание по стенке помещения, где содержались животные); у 11 (27,5%) крыс отмечалось хриплое дыхание и кашель. Крысы, которым вводился раствор соляной кислоты, после выхода из эфирного наркоза, наоборот, проявляли активность: активно передвигались по помещению, где их содержали; исследовали (обнюхивали) все отделы помещения; активно ухаживали за своей шерстью.

Результаты визуального обследования слизистой представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Результаты визуального обследования слизистой желудка у крыс после проведения экспериментальной работы (сводные данные по группам)

Время, через которое проводился забой крыс	Экспериментальные группы					
	Группа, в которой применялся 1% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 2% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 0,3 % р-р соляной кислоты	
	Кол-во крыс с повреждениями слизистой	Кол-во крыс без повреждений слизистой	Кол-во крыс с повреждениями слизистой	Кол-во крыс без повреждений слизистой	Кол-во крыс с повреждениями слизистой	Кол-во крыс без повреждений слизистой
через 1 ч	5	0	5	0	0	0
через 6 ч	5	0	5	0	0	0
через 12 ч	5	0	5	0	0	0
через 24 ч	5	0	5	0	0	0

Таблица 2. Результаты визуального обследования слизистой 12-перстной кишки у крыс после проведения экспериментальной работы (сводные данные по группам)

Время, через которое проводился забой крыс	Экспериментальные группы					
	Группа, в которой применялся 1% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 2% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 0,3 % р-р соляной кислоты	
	Кол-во крыс с повреждениями слизистой	Кол-во крыс без повреждений слизистой	Кол-во крыс с повреждениями слизистой	Кол-во крыс без повреждений слизистой	Кол-во крыс с повреждениями слизистой	Кол-во крыс без повреждений слизистой
через 1 ч	5	0	5	0	0	0
через 6 ч	5	0	5	0	0	0
через 12 ч	5	0	5	0	0	0
через 24 ч	5	0	5	0	0	0

через 1 ч	5	0	5	0	0	0
через 6 ч	0	5	5	0	0	0
через 12 ч	0	5	0	5	0	0
через 24 ч	0	5	0	5	0	0

Данные гистологических исследований слизистой желудка и 12-перстной кишки представлены в табл. 3 и 4.

Таблица 3. Результаты гистологического исследования слизистой желудка у крыс после проведения экспериментальной работы (сводные данные по группам)

Время, через которое проводился забой крыс	Экспериментальные группы					
	Группа, в которой применялся 1% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 2% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 0,3 % р-р соляной кислоты	
	Кол-во крыс с эрозивными поражениями слизистой	Кол-во крыс с язвенными поражениями и слизистой	Кол-во крыс с эрозивными поражениями слизистой	Кол-во крыс с язвенными поражениями и слизистой	Кол-во крыс с эрозивными поражениями слизистой	Кол-во крыс с язвенными поражениями и слизистой
через 1 ч	5	0	5	0	0	0
через 6 ч	5	0	5	0	0	0
через 12 ч	5	0	5	0	0	0
через 24 ч	5	0	0	5	0	0

Таблица 4. Результаты гистологического исследования слизистой 12-перстной кишки у крыс после проведения экспериментальной работы (сводные данные по группам)

Время, через которое проводился забой крыс	Экспериментальные группы					
	Группа, в которой применялся 1% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 2% р-р гидроксида аммония		Группа, в которой применялся 0,3 % р-р соляной кислоты	
	Кол-во крыс с эрозивными поражениями слизистой	Кол-во крыс с язвенными поражениями и слизистой	Кол-во крыс с эрозивными поражениями слизистой	Кол-во крыс с язвенными поражениями и слизистой	Кол-во крыс с эрозивными поражениями слизистой	Кол-во крыс с язвенными поражениями и слизистой
через 1 ч	5	0	5	0	0	0
через 6 ч	0	0	5	0	0	0
через 12 ч	0	0	0	0	0	0
через 24 ч	0	0	0	0	0	0

При анализе визуальной картины повреждений слизистой в 12-перстной кишке в группах, где в качестве повреждающего фактора применялся раствор гидроксида аммония, у 15 (37,5%) крыс определялись повреждения в виде отдельных очагов в количестве от 2 до 7, размерами от 0,1 до 0,6 см.

При анализе визуальной картины повреждений слизистой в желудке в группах, где в качестве повреждающего фактора применялся раствор гидроксида аммония, у 31 (77,5%) крысы определялись повреждения в виде отдельных очагов в количестве от 6 до 13, размерами от 0,3 до 1,2 см, у 9 (22,5%) - в виде тотального повреждения всей слизистой желудка.

При анализе визуальной картины состояния слизистой в группе, где в качестве повреждающего фактора применялся 0,3% раствор соляной кислоты, ни в 12-перстной кишке, ни в желудке повреждений не было выявлено ни в одном случае.

При проведении гистологического исследования слизистой в группах, где в качестве повреждающего фактора применялся гидроксид аммония, в 12-перстной кишке в 15 (37,5%) случаях и в желудке в 35 (87,5%) случаях определялась типичная картина острого эрозивного поражения: некроз слизистой оболочки до собственной пластинки, кровоизлияния в виде геморрагий, нарушение микроциркуляции. У 5 крыс (12,5%) в желудке определялась типичная картина острого язвенного поражения: некроз слизистой оболочки, некроз собственной пластинки слизистой оболочки, некроз подслизистой оболочки, инфильтрация полиморфными лейкоцитами подлежащих тканей, отёк подлежащих тканей.

Определяется тенденция к уменьшению характера повреждения слизистой в 12-перстной кишке относительно времени, прошедшего после введения раствора гидроксида аммония, и его концентрации: в группе, где вводился 1% раствор, через 1 час у 5 крыс (25%) выявлялся некроз глубиной на $\frac{2}{3}$ толщины слизистой, в то время как у 15 крыс (75%) через 6, 12 и 24 часов после введения раствора повреждений вообще не было выявлено. В группе, где вводился 2% раствор, через 1 час у 5 крыс (25%) выявлялся некроз глубиной на $\frac{2}{3}$ толщины слизистой, у 10 крыс (50%) через 6 и 12 часов - некроз глубиной на $\frac{1}{3}$ толщины слизистой, у 5 крыс (25%) через 24 часа повреждений выявлено не было.

Определяется тенденция к углублению характера повреждения слизистой в желудке относительно времени, прошедшего после введения раствора гидроксида аммония, и его концентрации: в группе, где вводился 1% раствор, через 1 час у 4 крыс (20%) выявлялся некроз глубиной на $\frac{1}{3}$ толщины слизистой, а у одной (5%) - глубиной на $\frac{2}{3}$ толщины слизистой; через 6 часов у одной крысы (5%) выявлялся некроз глубиной на $\frac{1}{3}$ толщины слизистой, а у 4 (20%) - глубиной на $\frac{2}{3}$ толщины слизистой; через 12 часов у 5 крыс (25%) выявлялся некроз глубиной на $\frac{2}{3}$ толщины слизистой; через 24 часа у 5 крыс (25%) выявлялся некроз глубиной на всю толщину слизистой. В группе, где вводился 2% раствор, через 1 час у 3 крыс (15%) выявлялся некроз глубиной на $\frac{2}{3}$ толщины слизистой, у 2 (10%) - некроз глубиной на всю толщину слизистой; через 6 часов у 2 крыс (10%) выявлялся некроз глубиной на $\frac{2}{3}$ толщины слизистой, у 3 (15%) - некроз глубиной на всю толщину слизистой; через 12 часов у 5 крыс (25%) выявлялся некроз глубиной на всю толщину слизистой; через 24 часа у 5 крыс (25%) выявлялся некроз глубиной на всю толщину слизистой, некроз собственной пластинки слизистой оболочки, некроз подслизистой оболочки, инфильтрация полиморфными лейкоцитами подлежащих тканей, отёк подлежащих тканей.

При проведении гистологического исследования слизистой в группе, где в качестве повреждающего фактора применялся 0,3% раствор соляной кислоты, ни в 12-перстной кишке, ни в желудке патологических изменений тканей не было выявлено ни в одном случае.

Данные гистологических исследований представлены на микрофотографиях гистологических срезов 1,2,3,4,5; внешний вид поражений слизистой желудка и 12-перстной кишки, возникающих под воздействием гидроксида аммония, а также внешний вид слизистой желудка и 12-перстной кишки после воздействия 0,3% раствора соляной кислоты представлен на макрофотографиях 6,7,8,9,10,11. Также для сравнительной характеристики нами представлена фотография 12, на которой изображён некроз, покрывающий язвенные дефекты у человека.

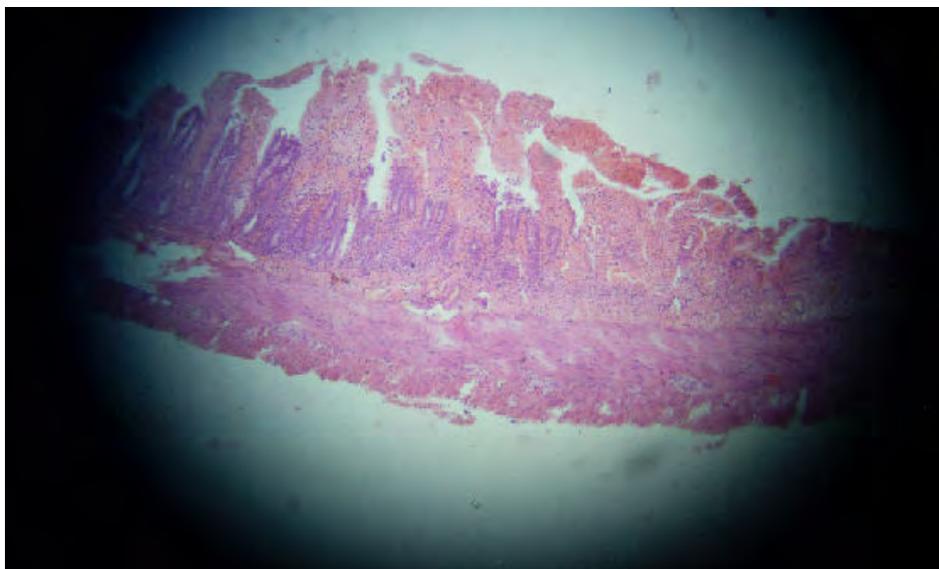


Рис.1. Эрозивное поражение слизистой 12-перстной кишки в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 2% раствор гидроксида аммония. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 80.

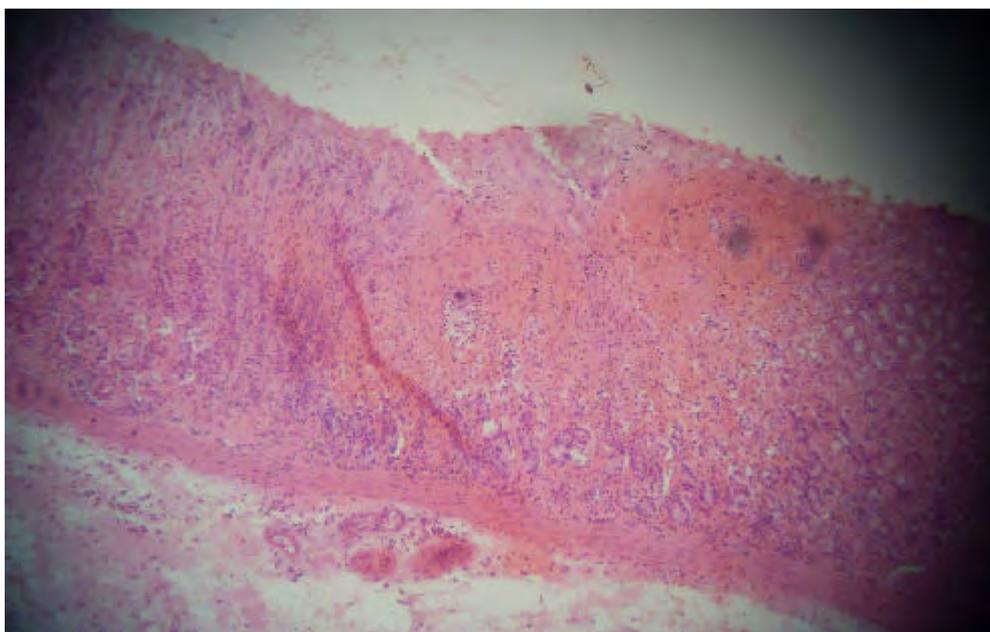


Рис.2. Эрозивное поражение слизистой желудка в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 2% раствор гидроксида аммония. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 80.

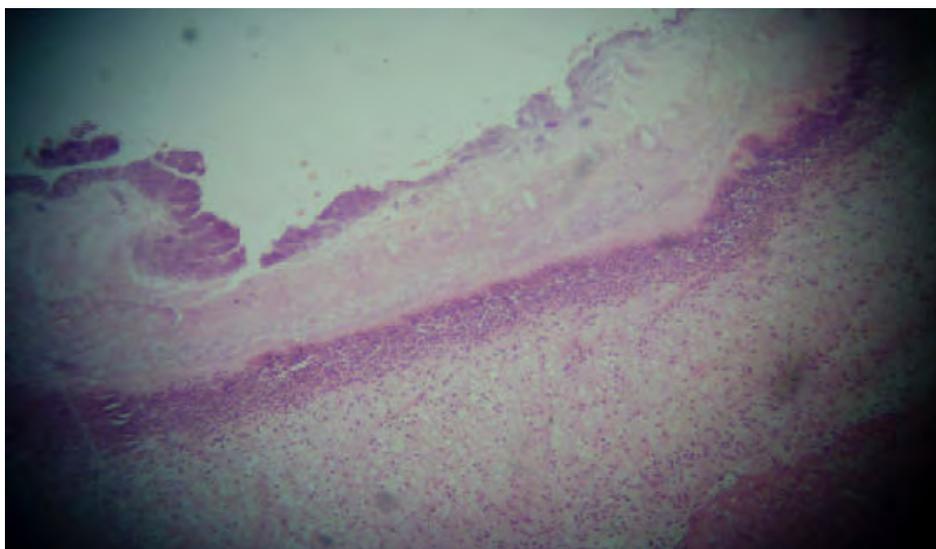


Рис.3. Язвенное поражение слизистой желудка в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 2% раствор гидроксида аммония. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 80.

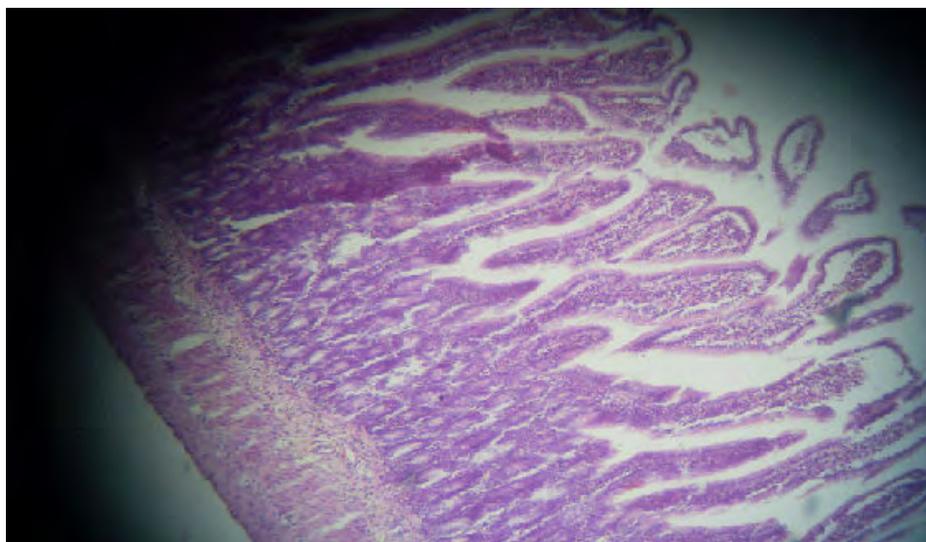


Рис.4. Неизменённая слизистая 12-перстной кишки в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 0,3% раствор соляной кислоты. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 80.

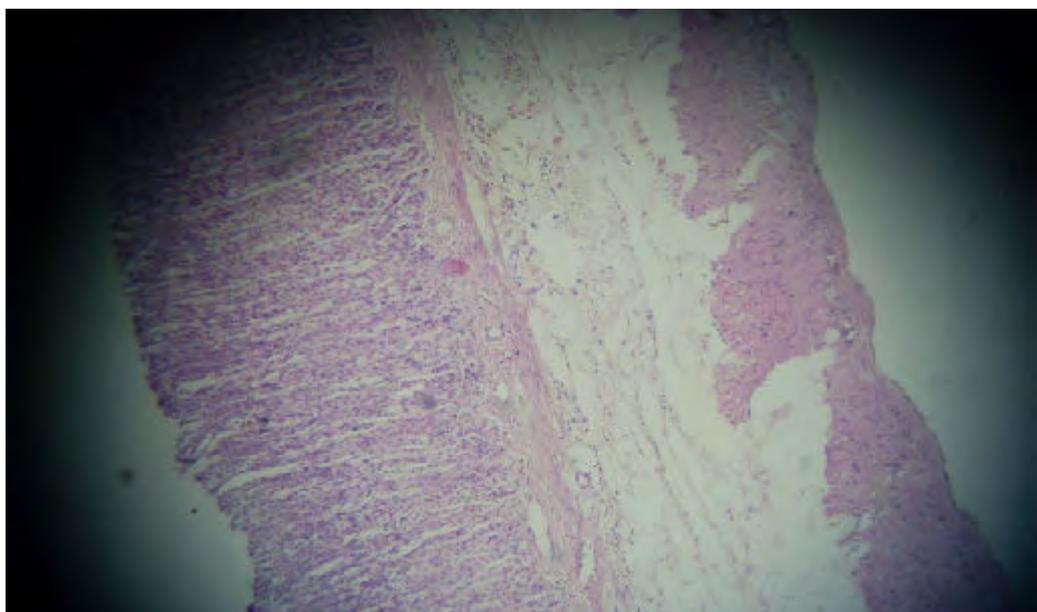


Рис.5. Неизменённая слизистая желудка в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 0,3% раствор соляной кислоты. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: x 80.



Рис.6. Эрозивное поражение слизистой 12-перстной кишки в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 1% раствор гидроксида аммония. Макроснимок.



Рис.7. Эрозивное поражение слизистой желудка в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 1% раствор гидроксида аммония. Макроснимок.

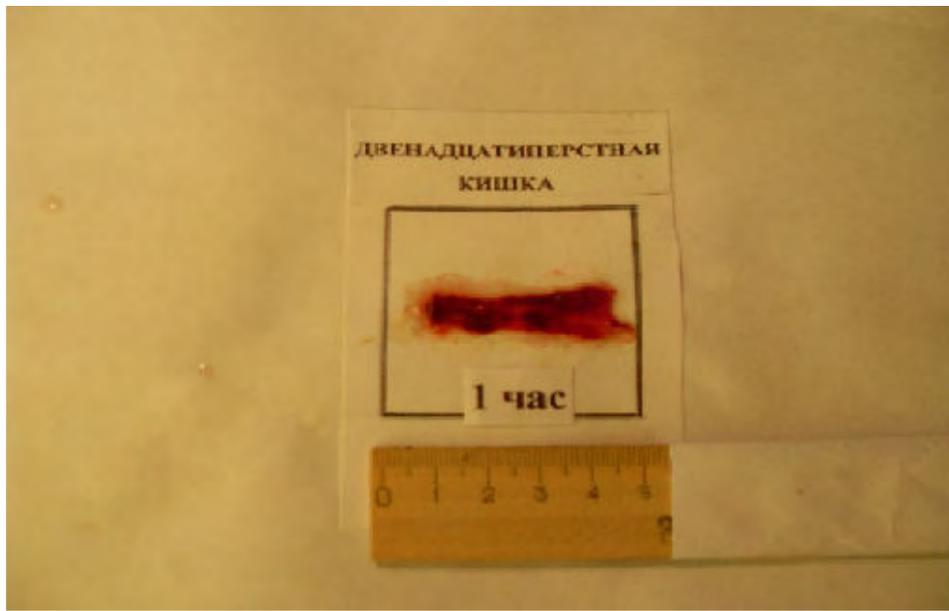


Рис.8. Эрозивное поражение слизистой 12-перстной кишки в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 2% раствор гидроксида аммония. Макроснимок.



Рис.9. Язвенное поражение слизистой желудка в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 2% раствор гидроксида аммония. Макроснимок.



Рис.10. Неизменённая слизистая 12-перстной кишки в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 0,3% раствор соляной кислоты. Макроснимок.



Рис.11. Неизменённая слизистая желудка в группе крыс, где в качестве повреждающего фактора применялся 0,3% раствор соляной кислоты.
Макроснимок.



Рис.12. Вид некроза, покрывающего язвенные дефекты, образующиеся у человека.
Макроснимок.

Данные результаты объяснимы с точки зрения воздействия гидроксида аммония, как едкой щёлочи, на слизистую. Рыхлый некроз, глубокие повреждения с выраженным перифокальным воспалением, тенденция к глубоким повреждениям характерны для повреждений едкими щелочами. Щёлочи действуют своими гидроксильными ионами (ОН-ионами). В отличие от кислот, щёлочи, действуя на белок высокими концентрациями гидроксильных ионов, вызывают его набухание, затем расплавление и разжижение с образованием щелочных альбуматов, легко растворимых в воде. Благодаря растворяющему действию, щёлочи легко проникают в глубину тканей, образуя толстый слой влажного (колликвационного) некроза, который характеризуется рыхлостью, что определяет большую глубину повреждения и длительный период заживления. Едкие щёлочи легко растворяют не только слизистую оболочку, но и мышечную ткань, что часто приводит к перфорации органов [2,6,13]. Единственным веществом, которое образуется в полости желудка у человека при хроническом гастрите типа В и которое в водном растворе относится к едким щёлочам, является остаточный аммиак (при контакте с влагой газовой смеси полости желудка, с нашей точки зрения, образует гидроокись аммония - нашатырный спирт, отличающийся особо раздражающим и глубоким прижигающим действием, при продолжительном воздействии которого происходит отслоение слизистой оболочки в виде пузырей с последующим развитием рыхлого некроза) [6,13]. Тому подтверждением является образование рыхлого, легко снимаемого некроза на слизистой желудка у 5 крыс, у которых развилась картина острой язвы через 24 часа после введения 2% раствора гидроксида аммония в полость желудка. Отсутствие повреждений слизистой гастродуоденальной зоны у крыс при введении максимальной концентрации соляной кислоты, которая образуется в полости желудка у человека, является ещё одним подтверждением непричастности кислотно-пептического фактора к процессу эрозивно-язвенного поражения и дополнением к уже признанному факту о том, что процесс язвообразования протекает при любом уровне кислотности [1,3,4,9,11].

Вялое поведение животных, их хриплое дыхание и кашель является следствием попадания паров аммиака из желудка крыс в их лёгкие при дыхании. При дыхании срабатывает явление эжекции, когда мощный поток воздуха, поступающий в лёгкие при вдохе, "засасывает" аммиак, диффундирующий из желудка в пищевод [12]. Аммиак соединяется с H₂O и образует гидроксид аммония уже в бронхах, раздражая и вызывая щелочной ожог их слизистой, который проявляется в виде хриплого дыхания и кашля. Аммиак, всасывающийся через лёгкие, попадает в малый круг кровообращения, а затем, минуя барьеры печени, в большой круг - к органам и тканям, оказывая на них токсическое воздействие и, в первую очередь, на центральную нервную систему животных, что и обуславливает их вялое поведение [13].

ВЫВОДЫ

1. Гидроксид аммония является фактором повреждения, приводящим к эрозивно-язвенным поражениям слизистой гастродуоденальной зоны.
2. Соляная кислота при той максимальной концентрации, которая образуется в полости желудка у человека, не является фактором повреждения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авраменко А.О. Роль хеликобактерной инфекции в этиологии и патогенезе язвенной болезни двенадцатиперстной кишки: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.- Одеса, 2001.- 16 с.
2. Авраменко А.А. К вопросу о механизме заживления язвенных дефектов при язвенной болезни, ассоциированной с хеликобактерной инфекцией, при применении ингибиторов "протоновой помпы" // Украинский медицинский альманах.- 2007.- 10, №2.- С. 10-12.
3. Авраменко А.А. Топографическое различие локализации язвенных дефектов при язвенной болезни как отражение стадийности развития хронического гастрита типа В: Материалы IV конгрессу патофизиологов Украины (Чернівці, 26-28 травня 2004 р.) // Клінічна та експериментальна патологія.- 2004.- 3, №2.- Ч.2.- С. 409-410.
4. Авраменко А.А., Гоженко А.И. Хеликобактериоз.- Одесса, 2007.- 324 с.
5. Авраменко А.А., Петрашенко Н.П., Жуков В.А. К вопросу о концентрации "остаточного" аммиака в полости желудка у больных язвенной болезнью 12-ти перстной кишки в разные фазы патологического процесса // Актуальні проблеми транспортної медицини.- 2006.- №3 (5).- С. 86-89.
6. Богоявленский В.Ф., Богоявленский И.Ф. Острые отравления (диагностика и доврачебная помощь).- С.-Пб.: Гиппократ, 1999.- 158 с.
7. Бойко В.В. Некоторые аспекты хирургической доктрины при язвенной болезни желудка // Клінічна хірургія.- 2001.- №6.- С.19-24.
8. Верткин А.Л., Машарова А.А. Лечение язвенной болезни в современной клинике // Лечащий врач.- 2000.- № 8.- С.14-19.
9. Гоженко А.І., Авраменко А.О. До питання про взаємовідношення НР-інфекції та кислотнопептичного чинника при різних стадіях і періодах виразкової хвороби дванадцятипалої кишки // Буковинський медичний вісник.- 2003.- №2.- С.43-48.
10. Гоженко А.И., Авраменко А.А., Смоляков С.Н. Особенности этиологии и патогенеза экспериментальных иммобилизационных язв у крыс // Труды Крымского государственного медицинского университета им. С.И. Георгиевского "Проблемы, достижения и перспективы развития медико-биологических наук и практического здравоохранения".- 2001.- Т.137, часть 3.- С. 17-21.
11. Григорьев П.Я., Исаков В.А. Современные представления об этиологии и патогенезе язвенной болезни // Вестник АМН СССР.- 1990.- № 3.- С.60-63.
12. Дейч М.Е. Техническая газодинамика.- М.: Энергия, 1974.- 592 с.
13. Жамгоцев Г.Г., Предтеченский М.Б. Медицинская помощь поражённым сильнодействующими ядовитыми веществами (СДЯВ).- М.: Медицина, 1993.- 207с.
14. Захаров Ю.В. Судовые установки кондиционирования воздуха и холодильные машины.- Л.: Судостроение, 1972.- 568 с.
15. Заявка на винахід № А 2008 12569 "Спосіб експериментального моделювання ерозивно-виразкових уражень слизової шлунка та дванадцятипалої кишки у щурів за допомогою гідроксиду амонію" від 26.10.2008 р.
16. Ивашкин В.Т., Мегро Ф., Лапина Т.Л. Helicobacter pylori: революция в гастроэнтерологии.- Москва, 1999.- 255 с.
17. Передерий В.Г. Язвенная болезнь или пептическая язва?- К.: Б/и, 1997.- 158 с.

18. Передерий В.Г., Кляритская И.А., Передерий О.В. и др. Эффективность эрадикации *Helicobacter pylori* при тройной терапии пантопрозолом, клацидом и амоксициллином // Український медичний часопис.- 2000.- № 2.- С. 30-32.
19. Чопей І.В., Колесник П.О., Кузьмик В.М. и др. Сучасні погляди на епідеміологію інфекції *Helicobacter pylori* // Сучасні інфекції.- 2000.- № 4.- С. 65-69.
20. Hori Y., Takeyama Y., Shinkai M. et al. Inhibitory effect of vacuolating toxin of *Helicobacter pylori* on enzyme secretion from rat pancreatic acini // *Pancreas*.- 1999.- 18 (3).- P. 324-327.

A.A. AVRAMENKO, A.I. GOZHENKO, S.N. SMOLYAKOV

HYDROXIDE AMMONIA AS A FACTOR CAUSING EROSIVE-ULCERATIVE LESIONS OF GASTRIC AND DUODENAL MUCOUS MEMBRANE (experimental investigations)

Experimental investigations on 60 rats for the determination of the role of hydroxide ammonia and hydrochloric acid being formed in the person's stomach in the process of formation of erosive-ulcerative lesions of mucous membrane in gastro-duodenal area has been carried on. The role of hydroxide ammonia as a cause of these lesions has been confirmed.

ГП Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта МЗО Украины, Одесса

Дата поступления: 15.12.2008 р.