© Коллектив авторов, 2006

Т.Т. Бораева, Л.Н. Цветкова, З.К. Джагаева, Л.В. Чопикашвили, Ф.Т. Чшиева

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МУТАГЕННОГО ВЛИЯНИЯ СХЕМ ЭРАДИКАЦИОННОЙ ТЕРАПИИ У ДЕТЕЙ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ВЕРХНИХ ОТДЕЛОВ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА, АССОЦИИРОВАННЫХ С *HELICOBACTER PYLORI*, И СПОСОБЫ ИХ КОРРЕКЦИИ

Северо–Осетинская государственная медицинская академия, РСО–Алания, г. Владикавказ;
Российский государственный медицинский университет, г. Москва

Целью исследования явилось изучение мутагенного действия различных схем эрадикационной терапии на кариотип детей с патологией верхних отделов пищеварительного тракта, ассоциированной с хеликобактерной инфекцией. Выявлено, что стандартная и тройная схема и квадротерапия оказывают выраженное мутагенное влияние на уровень хромосомных аберраций. Веторон может быть рекомендован в качестве антимутагена в комплексе с эрадикационной терапией.

The aim of the study was the investigation of mutagenic action of different schemes of eradicative therapy on the cariotype of children with the pathology of upper divisions of the alimentary tract associated with helicobacter infection. It was revealed that standard triple scheme and quadrotherapy have marked mutagenic influence on the chromosome aberrations level. Vetoron may be recommended as antimutagen in the complex with eradicated therapy.

Интерес к проблеме заболеваний верхнего отдела пищеварительного тракта (ВОПТ), ассоциированных с *Helicobacter pylori* (HP), не уменьшается [1—11].

Состояние здоровья детей, как экопатологическая проблема, в последнее десятилетие является наиболее актуальной в педиатрии, отмечается тенденция к увеличению частоты и тяжести хронических заболеваний, в частности системы пищеварения, что обусловлено недостаточной адаптацией ребенка к длительному воздействию стрессогенных экзо- и эндофакторов. За последние 5 лет отмечается тенденция к ухудшению показателей здоровья детей. Болезни органов пищеварения стоят на 4-м месте, причем по сравнению с 2002 г. заболеваемость возросла в 2 раза.

Изучение интенсивности мутагенеза представляет актуальную и важную задачу. Мутационный процесс является источником, своего рода генератором, новых случаев наследственных болезней, врожденных пороков развития и злокачественных новообразований [12].

В настоящее время определенную тревогу вызывает загрязнение окружающей среды различными мутагенными факторами физической, химической и биологической природы, которые способны поражать генетический аппарат человека. Для оценки мутагенеза принято использовать частоту спонтанного мутагенеза [13].

Величина спонтанного мутагенеза лежит в основе оценки влияния внешних факторов в виде удваивающей дозы — той дозы внешнего фактора, которая приводит к повышению частоты мутирования в 2 раза по сравнению со спонтанным уровнем. Спонтанный уровень мутагенеза остается важной количественной характеристикой мутационного процесса. Для оценки величины спонтанного уровня мутагенеза у человека на хромосомном уровне используют лимфоциты периферической крови [12]: разный тип питания, экологическая обстановка, прием лекарств, различные вредные привычки, разнообразие производственных условий и др. могут оказывать влияние на интенсивность мутирования. Интенсивное развитие фармакологии, фармацевтической и химической промышленности привело к тому, что в настоящее время насчитывается более 50 000 названий лекарственных препаратов (ЛП) с учетом их комбинаций и синонимов.

Потребление ЛП в европейских странах, США, Канаде и во всем мире возросло. Возникает вопрос, как влияют лекарственные вещества на генетический аппарат человека? Отрицательные генетические эффекты лекарственных веществ могут проявляться не только у человека, принимающего эти вещества, но и у его потомства [14].

ЛП могут вызывать мутации на различных уровнях. Вполне вероятно, что разные лекарственные вещества могут вызывать одну и ту же мутацию, а одно лекарственное вещество — разные мутации. Мутационный процесс может происходить как в соматических, так и в половых клетках.

Эволюция экологии, неблагоприятные социальные факторы (частые стрессы, курение и др.)

привели к изменению внутренних структур макроорганизма и к мутациям HP с образованием новых штаммов с более агрессивными свойствами, явившихся патогенными по отношению к человеку. Биологические факторы, такие как вирусы, живые вакцины, неполноценное питание (экзогенные факторы), а также гистамин, стероидные гормоны, вырабатывающиеся в организме человека (эндогенные факторы), могут приводить к мутациям.

Хромосомные аномалии в соматических клетках возникают под влиянием разных по природе факторов внешней среды (хромосомные аберрации — ХА), с которыми в той или иной степени контактирует каждый человек. Все ХА, возникшие в соматических клетках человека, регистрируемые на стадии метафазы, разделяют на две основные группы — аберрации хромосомного и хроматидного типа [12, 13].

Подразделение ХА на спонтанные и индуцированные является чисто условным, так как возникновение любой аберрации обусловлено определенными мутагенными факторами. О спонтанных аберрациях говорят в тех случаях, когда точная причина их возникновения неизвестна. Этот термин был принят применительно к соматическим клеткам здоровых лиц. Количественные и качественные параметры спонтанных ХА принимаются в качестве контроля при исследовании индуцированных теми или иными факторами аберраций. Последние могут быть индуцированы радиацией, химическими веществами и другими факторами [5, 15, 16].

Большое количество новых мутагенов выдвинуло проблему охраны генотипов живых существ от разрушающего действия мутагенов.

В литературе отсутствуют данные о влиянии схем эрадикационной терапии на кариотип детей с хеликобактерным поражением органов пищеварения. В связи с этим основной задачей исследования было изучение влияния инфекции HP, схем эрадикационной терапии (тройной и квадротерапии) на кариотип детей и при выявлении мутагенного эффекта возможные способы коррекции.

Материалы и методы исследования

Под наблюдением находились 75 детей с заболеваниями ВОПТ, ассоциированных с HP, в возрасте от 5 до 17 лет и 30 детей с патологией ВОПТ, неассоциированных с HP (контрольная группа).

Обследование больных включало клиническое обследование, проведение ЭГДС с исследованием на наличие HP в слизистой оболочке желудка (СОЖ) гистоморфологическим методом, HELPIL-тестом, неинвазивным дыхательным тестом (Гелик-тест).

Результаты морфологического исследования биоптатов СОЖ определяли методом полуколичественной оценки морфологических показателей, предусмотренной Сиднейской системой классификации гастритов в модификации 1996 г. [1].

HELPIL-тест (быстрый уреазный тест) помещали на предметное стекло, биоптат на поверхность теста. Время экспозиции 5 мин. Если время экспозиции менее 1 мин, то инфицированность HP резко положительная (++), до 3 мин — положительная (+), от 3 до 5 мин — сомнительная (±), более 5 мин — тест отрицательный.

Неинвазивный дыхательный тест (Гелик-тест) с определением концентрации аммиака в выдыхаемом воздухе является «золотым» стандартом, состоит из микрокомпрессора ELITE и индикаторной трубки (ИТ) — NH_3. При помощи аспиратора проводили забор воздуха из ротовой полости в течение 1 мин, измеряли высоту окрашенного столба в мм при помощи линейки — базальная концентрация аммиака (C_1). Положительный результат считали при значениях более 2 мм.

Для анализа ХА в лимфоцитах периферической крови у детей с гастродуоденальной патологией, ассоциированной с HP, до эрадикационной терапии и после лечения, лимфоциты периферической крови человека культивировали макрометодом по общепринятой методике (Moorched P.S. et al., 1960) на кафедре зоологии Северо-Осетинского Государственного университета (зав. проф. Л.В. Чопикашвили).

Среда роста состояла на 10% из сыворотки крупного рогатого скота, на 90% — из среды Иглы с глютамином. Суспензионная культура лимфоцитов включала лейкоцитарную плазму и среду роста в соотношении 1:9.

Стимуляцию клеточного деления осуществляли ФГА (ФГА Difco-P, США) в дозе 1 мл культуральной среды. Культуральную суспензию помещали в пенициллиновые флаконы по 3 мл. Клетки выращивали при 37 °С в термостате. Фиксировали через 67 ч после стимуляции клеток ФГА. За 2—3 ч до фиксации добавляли колхицин по 0,5 мл для накопления метафаз. Гипотоническим раствором (0,55% KCl) клетки обрабатывали в течение 15 мин при 37 °С, после чего фиксировали свежеприготовленной смесью метанола и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1.

Хромосомные препараты готовили путем нанесения клеточной суспензии на чистые обезжиренные и охлажденные предметные стекла, сушили и окрашивали 3% красителем Гимза на фосфатном буфере при pH=6,8.

Все показатели оценивали до лечения и через 4 недели после эрадикационной терапии. Статистическую обработку полученных данных проводили в среде Windows с использованием программы («SPSS»), с определением средних значений изучаемых показателей и степени достоверности результатов с использованием критерия t Стьюдента. Достоверными считали результаты при вероятности ошибки $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение

75 детей с гастродуоденальной патологией, ассоциированной с HP, были разделены на 4 группы:

1-я группа включала 29 детей (39,6%), получивших стандартную тройную терапию (денол, амоксициллин, метронидазол);

2-ю группу составили 16 детей (21,3%), которым была назначена квадратерапия (омез, денол, амоксициллин, метронидазол);

3-я группа — 16 детей (21,3%) получили тройную терапию с димефосфоном в качестве антимутагена;

4-ю группу составили 14 детей (18,6%), принимавшие квадратерапию и Веторон.

У детей с заболеваниями гастродуоденальной области, ассоциированными с HP, уровень ХА в сред-

нем составил 3,0±0,2%, что в 1,3 раза превышает контроль (2,43±2,25%), но находится в пределах верхней границы нормы, что, возможно, свидетельствует об инфекционном мутагенезе.

После проведенного лечения тройной схемой эрадикационной терапии уровень ХА возрос в 1,8 раза и составил 5,6±2,8% ($p<0,01$).

При изучении влияния квадратерапии на кариотип наблюдаемых больных уровень ХА исходно составил в среднем 5,2±2,4% ($p<0,001$). После применения тетракомплекса нормальный уровень ХА не выявлялся. Этот факт свидетельствует о явлении комутагенности при использовании квадратерапии.

Структура ХА у детей, получавших тройную терапию, до лечения представлена следующим образом: у 40% детей уровень ХА был от 0 до 3%, у 53,3% ХА встречались с частотой от 3 до 5%, у 6,6% детей ХА варьировали с частотой от 5 до 7%. После лечения спектр ХА колебался с частотой от 0 до 3% у 27,6% детей, от 3% до 5% — у 34,5%, у 20,6% детей частота выявления ХА составила от 5% до 7%, а у 17,2% детей — превышала 7—9%.

Широкий спектр хромосомных и хроматидных аберраций свидетельствует о том, что тройная схема терапии действует на протяжении всех стадий клеточного цикла.

У больных, получивших квадратерапию, спектр ХА до лечения был следующим: у 53,3% частота ХА составила от 0 до 3%, у 53,3% — от 3% до 5% и у 6,6% — от 5% до 7%. После квадратерапии уровень ХА у 50% детей составил от 3% до 5%, у 37,5% — 5—7%, у 6,3% — 7—9% и у 6,3% — свыше 9%.

Таким образом, изученные нами схемы эрадикационной терапии (стандартная тройная и квадратерапия) обладают выраженным мутагенным эффектом.

Для снижения мутагенного влияния на кариотип детей была проведена следующая модификация схем эрадикационной терапии: тройная схема в сочетании с димефосфоном и квадратерапия — с Веторoном.

Использование димефосфона — фосфонергического соединения — основано на его способности усиливать тканевое дыхание и стабилизировать состояние клеточных мембран. Кроме того, димефосфон активирует пируваткарбоксилазу, смещая равновесие между лактатом и пируватом в сторону последнего, усиливает утилизацию пирувата в цикле Кребса. Препарат повышает активность антиоксидантных ферментов и предотвращает образование избытка свободных радикалов [4, 5, 17].

Использование Веторона — водного раствора β-каротина, состоящего из β-каротина (провитами-

ВЕТОРОН®

Веторон эффективен для укрепления иммунитета часто болеющих детей (с 3-х лет)

Применяется для укрепления иммунитета

- Поддерживает и укрепляет иммунную систему.
- Эффективен в профилактике простудных заболеваний и гриппа.
- Рекомендован часто болеющим детям.
- Не вызывает передозировок и не имеет побочных эффектов.
- Прошел клинические испытания и используется в ведущих медицинских центрах России.
- В состав входят только натуральные компоненты.

Веторон Е рекомендован для взрослых. Состав дополнен витаминами С и Е, потребность в которых заметно увеличивается с возрастом.

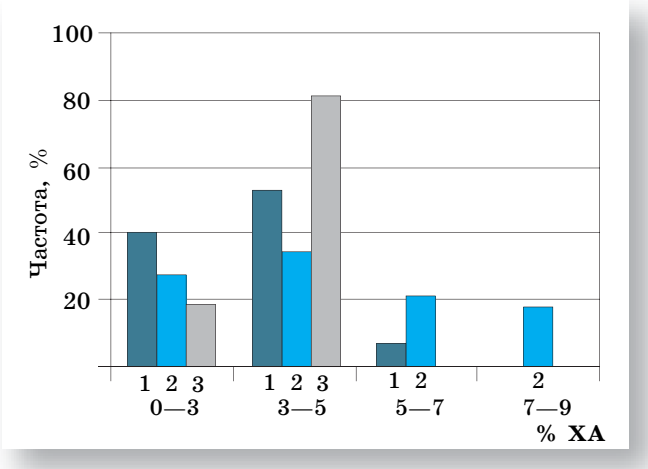

Рис. 1. Сравнительный анализ спектра ХА у больных, получавших тройную терапию и тройную схему в сочетании с димефосфоном.
1 — до лечения, 2 — после тройной терапии, 3 — после тройной терапии в сочетании с димефосфоном.

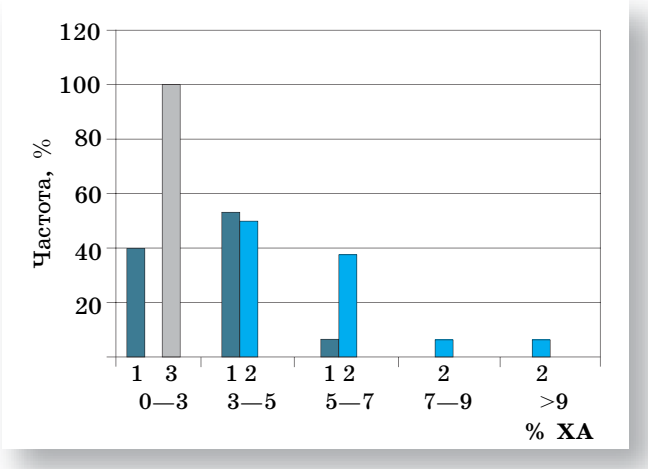

Рис. 2. Сравнительный анализ спектра ХА у больных, получавших квадратерапию и квадратерапию в сочетании с Ветороном.
1 — до лечения, 2 — после квадратерапии, 3 — после квадратерапии в сочетании с Ветороном.

на А) и витамина Е — основано на способности препарата нормализовывать липидный обмен, оказывать радиопротективное, антиоксидантное, иммуностимулирующее, противовоспалительное, адаптогенное действия. Веторон уменьшает содержание свободных радикалов, защищает клеточные структуры от разрушения, тормозит перекисное окисление липидов, уменьшает содержание холестерина в крови, нормализует соотношение липидов высокой и низкой плотности, активирует клеточный иммунитет, IgG-антителообразование, фагоцитоз, повышает адаптационные возможности и устойчивость к стрессам при интенсивных физических нагрузках и воздействии шума, вибраций и других факторов среды.

У детей, получивших тройную терапию с димефосфоном, уровень ХА в среднем составил 2,9±1,3%, а спектр ХА был представлен частотой ХА от 0 до 3% у 18,7% детей, 3—5% — у 81,3% (рис. 1).

У детей, получивших квадратерапию с Ветороном, уровень ХА составил в среднем 1,0±0,9% ($p<0,001$). При изучении структуры ХА у детей, получивших квадратерапию с Ветороном, спектр ХА у всех наблюдаемых больных составил от 0 до 3%, то есть был в пределах нормы, и отмечалось снижение уровня ХА в 3 раза (рис. 2).

Таким образом, наши данные позволяют сделать вывод, что повышение уровня ХА у детей, инфицированных HP, возможно, свидетельствует об инфекционном мутагенезе. Изученные нами схемы эрадикационной терапии (стандартная тройная и квадратерапия) обладают выраженным мутагенным эффектом, а препарат Веторон в качестве антимутагена может быть использован в сочетании с эрадикационной терапией.

ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала http://www.pediatriajournal.ru ц 6/2006, приложение ц 2.

Т.Т. Бораева, Л.Н. Цветкова, З.К. Джигаев, А.В. Чопикашвили, Ф.Т. Чшиева

ЛИТЕРАТУРА

1. Аруин Л.И. // Арх. пат.– 1990.– Т. 52, № 10.– С. 3 - 8.
2. Аруин Л.И., Григорьев П.Я., Исаков В.А., Яковенко Э.П. Хронический гастрит. – Амстердам, 1993. – 362 с.
3. Аруин Л.И., Городинская В.С., Ильченко А.А. // Арх. пат. – 1994.– Т. 56, № 1. – С. 33.
4. Аруин Л.И. // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997.– Т. 6 – 7, № 3.– С. 187, 462.
5. Бельмер С.В., Гасилина Т.В., Зверков И.В. и др. // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – Т. 7, № 5. – С. 187.
6. Корсунский А.А. // *Helicobacter pylori*: революция в гастроэнтерологии / Под ред. В.Т. Ивашкина, Ф. Мегро, Т.Л. Лапиной. – М., 1999. – С. 224 - 243.
7. Корсунский А.А., Щербаков П.Л., Исаков В.А. Хеликобактериоз и болезни органов пищеварения у детей. – М., 2002. – С. 168.
8. Щербаков П.Л. // *Helicobacter pylori*: революция в гастроэнтерологии / Под ред. В.Т. Ивашкина, Ф. Мегро, Т.П. Лапиной.– М., 1999.– С. 14-21.
9. Bodanszky H., Azato A., Szjnyi L. // Ozv Hetil. – 2000. – Vol. 141, № 15. – P. 777 - 782.
10. Мхитарова Е.В., Еголина Н.А. и др. // Бюлл. экспер. биол. – 1988. – Т. 105, № 1. – С. 63 - 65.
11. Howell W.M., Bleck D.A. // Experientia. – 1980. – Vol. 36. – P. 1014 - 1015.
12. Вейко Н.Н., Люпунова Н.А. и др. // Молекул. биол. – 1996. – Т. 30. – С. 1076 - 1085.
13. Корсунский А.А., Кубергер М.Б., Кушель В.Р. // Педиатрия. – 1989. – № 1. – С. 66 - 68.
14. Спицин В.А., Цурикова Г.В. // Вестн. РАМН. – 1992. – № 4. – С. 46 - 52.
15. Taylor E.F., Martin - DeLeon P.A. // Am. J. Hum. Genet. – 1981. – Vol. 33. – P. 67 - 76.
16. Ботвиньев О.К., Курбатова О.Л., Алтухов Ю.П. // Генетика. – 1980. – Т. 16, № 10. – С. 1884 – 1894.
17. Демина В.Ф., Ключникова С.О., Цветкова Л.Н., Мухина Ю.Г. Лекции по педиатрии. – М., 2003. – С. 319.