



Антимикробный эффект оксида азота

Чернеховская Н. Е.¹, Еряшев А. Ф.², Поваляев А. В.¹, Пекшев А. В.³

¹ ФГБОУ ДПО Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, ул. Баррикадная, д. 2/1, стр. 1, г. Москва, 125993, Россия

² ФГБУ «З Центральный военный госпиталь им. А. А. Вишневого» МО РФ, Московская область, городской округ Красногорск, п. Новый, д. 1, 143420, Россия

³ Московский государственный технический университет им. Н. Э. Баумана (национальный исследовательский университет), 2-я Бауманская ул., д. 5, стр. 1, Москва, 105005, Россия

Для цитирования: Чернеховская Н. Е., Еряшев А. Ф., Поваляев А. В., Пекшев А. В. Антимикробный эффект оксида азота. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2022;201(5): 59–63. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-201-5-59-63

✉ Для переписки:

Чернеховская

Наталья Евгеньевна

chernekhovskaya

@mail.ru

Чернеховская Наталья Евгеньевна, д.м.н., профессор кафедры эндоскопии

Еряшев Александр Федорович, врач 5 отделения полостной хирургии

Поваляев Алексей Владимирович, д.м.н., доцент кафедры эндоскопии

Пекшев Александр Валерьевич, зав. лабораторией

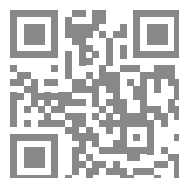
Резюме

Проведено лечение 138 больных, у которых во время ЭГДС диагностировали язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. Включение экзогенного оксида азота в противоязвенное лечение больных способствовало эрадикации Нр, восстановлению мембранного компонента поврежденных клеток, стабилизации местных иммунных реакций и гуморального иммунитета. NO-терапия ускорило эпителизацию язв в 2 раза по сравнению с пациентами, не получавшими в комплексной терапии оксид азота.

Ключевые слова: эзофагогастродуоденоскопия, язвы желудка и двенадцатиперстной кишки, *Helicobacter pylori*, NO-терапия, иммунитет

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

EDN: RVSRPQ



<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-201-5-59-63>

Antimicrobial effect of nitric oxide

N. E. Chernekhovskaya¹, A. F. Eryashev², A. V. Povalyaev¹, A. V. Pekshev³

¹ Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, 2/1, build. 1, st. Barrikadnaya, Moscow, 125993, Russia

² "3 Central Military Hospital named after A. A. Vishnevsky" of the Ministry of Defense of the Russian Federation, build.1, vill. Novy, Moscow region, city district Krasnogorsk, 143420, Russia

³ Moscow State Technical University named after N. E. Bauman (National Research University, build. 5/1, 2nd Baumanskaya st., Moscow, 105005, Russia

For citation: Chernekhovskaya N. E., Eryashev A. F., Povalyaev A. V., Pekshev A. V. Antimicrobial effect of nitric oxide. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2022;201(5): 59–63. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-201-5-59-63

✉ *Corresponding author:*

Natalia

E. Chernekhovskaya
chernekhovskaya
@mail.ru

Natalia E. Chernekhovskaya, MD, Professor of the Department of Endoscopy

Alexander F. Eryashev, doctor of the 5th Department of abdominal Surgery

Alexey V. Povalyaev, MD, Associate Professor of the Department of Endoscopy

Alexander V. Pekshev, head of laboratory

Summary

138 patients who were diagnosed with gastric and duodenal ulcers during EGDS were treated. The inclusion of exogenous nitric oxide in the anti-ulcer treatment of patients contributed to the eradication of Hp, restoration of the membrane component of damaged cells, stabilization of local immune reactions and humoral immunity. NO-therapy accelerated the epithelialization of ulcers by 2 times compared to patients who did not receive nitric oxide in complex therapy.

Keywords: esophagogastroduodenoscopy, gastric and duodenal ulcers, *Helicobacter pylori*, NO-therapy, immunity

Conflict of interest. Authors declare no conflict of interest.

В конце 80-х годов было совершено открытие, сыгравшее огромную роль в дальнейшем развитии физиологии и медицины – было установлено, что регуляцию разнообразных биологических и физиологических процессов в организме человека и животных осуществляет оксид азота [1, 2]. Оксид азота постоянно продуцируется ферментативным путем в одних клетках и регулирует функции других клеток. Многие авторы считают, что NO – один из древних и универсальных регуляторов систем внутриклеточной и межклеточной сигнализации [3, 4].

Оксид азота – это газообразное неорганическое соединение, плохо растворимое, способное окисляться или соединяться с другими биомолекулами [5]. В клетках млекопитающих синтез NO осуществляет фермент NO-синтаза (NOS) [6]. Существует три основных изоформы NOS: нейрональная NOS (или NOS I), обнаруженная в 50 клетках центральной и вегетативной нервной системы, индуцибельная (или макрофагальная) NOS или NOS II, первоначально найденная в макрофагах, а впоследствии и во многих других клетках млекопитающих (гепатоцитах, нейтрофилах, микроглиальных клетках мозга и др.) и эндотелиальная NOS (или NOS III), впервые идентифицированная в клетках сосудистого эндотелия [7]. С учетом того, что интенсивность образования NO в ходе нитритредуктазной реакции,

по крайней мере, в 1000 раз выше аналогичной величины для NO-синтазной реакции, высказываются предположения о существовании в организме млекопитающих замкнутого цикла оксида азота, регулирующего внутриклеточный уровень данного соединения независимо от внешних факторов [8].

Оксид азота угнетает синтез белка и коллагена в мышечных клетках, митоз клеток и пролиферацию атипических клеток, регулирует апоптоз при ремоделировании грануляционно-фиброзной ткани, активирует антиоксидантную защиту [9]. Являясь антикоагулянтом, NO подавляет адгезию и активацию специфических гемопоэтических клеток, в том числе тромбоцитов и лейкоцитов [10]. В желудочно-кишечном тракте NO образуется в эпителиальных, гладкомышечных и тучных клетках, в сосудистом эндотелии и форменных элементах крови, стабилизируя функцию тучных клеток и эпителия. Оксид азота продуцируется всеми эндотелиальными клетками микроциркуляторного русла во всех органах пищеварения и влияет на процессы коагуляции и тромбоза. Влияние NO-терапии на эндотелий микрососудов осуществляется через специфические рецепторы, расположенные на апикальной поверхности клетки. Если подавляется оксид азота, то повреждается слизистая [11]. В результате гипоксии происходит резкое

снижение эндогенного оксида азота, что приводит к истощению и извращению компенсаторной способности эндотелия [12].

Под влиянием оксида азота происходит резкая вазодилатация, усиливается сосудистая проницаемость, формируется отек и последующее развитие воспалительной реакции. Оксид азота синтезируется фагоцитами и способствует гибели микроорганизмов (прямое действие) [13]. В реакции окислительного стресса $\text{NO} + \text{O}_2^- > \text{OONO}$ происходит образование такого токсического соединения, как пероксинитрит (опосредованное действие оксида азота) [14]. Пероксинитрит оказывает влияние на хемоаттракцию эозинофилов – эотаксина, IL-5, RANTES, уменьшая их активность, индуцирует повреждение ДНК и мутацию.

Оксид азота регулирует иммунные нарушения. В основе механизма иммуномодулирующего действия оксида азота лежит прямая активация фагоцитирующих клеток и естественных киллеров, а также стимуляция антителообразования.

В октябре 1998 г. Нобелевский комитет присудил Нобелевскую премию в области медицины и физиологии R. F. Furchgott, F. Murad и L. J. Ignarro за исследование роли оксида азота в регуляции сердечно-сосудистой системы [15]. В настоящее время проблема оксида азота является одной из ключевых в физиологии и медицине. NO-терапия может быть включена в комплексное лечение различных заболеваний. Это объясняется многообразием функций NO в норме и при патологии, и тем, что при всех этих заболеваниях такие общепатологические процессы, как воспаление, регенерация и фиброз, являются определяющими [16].

Отечественные ученые пошли по пути изучения экзогенного оксида азота. В 1997 г. инженерами МГТУ им. Н. Э. Баумана был создан воздушно-плазменный аппарат «Плазон» для деструкции и коагуляции тканей (регистрационное удостоверение № ФСР 2007/00583 от 21 марта 2013 г.) [17].

В процессе использования аппарата для обработки гнойных ран был открыт неизвестный ранее феномен выраженной стимуляции заживления ран, особенно длительно незаживающих, периферийной (охлажденной) областью воздушно-плазменного потока аппарата «Плазон». Совокупность имеющихся данных позволила выдвинуть подтвержденную в дальнейшем гипотезу о доминирующей роли NO в обнаруженном эффекте биостимуляции и предложить принципиально

новый способ лечения раневой патологии острых и хронических воспалительных процессов. Воздушно-плазменный аппарат «Плазон» оказался уникальным генератором оксида азота из воздуха.

В основу действия аппарата «Плазон» положено воздействие на ткани человеческого организма потока воздушной плазмы для получения хирургического эффекта, и потока газа, образованного путем охлаждения воздушной плазмы и содержащего молекулы монооксида азота – для получения терапевтического эффекта (NO-терапия). Работа была удостоена премии Правительства РФ 2003 года в области науки и техники.

Для эрадикации Hр со слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки применяют различные антибактериальные препараты (антибиотики, сульфаниламиды), причем часто в больших дозах. Действие этих препаратов на организм человека, в частности, на слизистую оболочку пищеварительного тракта, неоднозначно. При подавлении патогенных микроорганизмов сказывается отрицательное влияние антибиотиков на нормальную функцию кишечника. Возможны осложнения в виде индивидуальной непереносимости антибактериальных препаратов. Наконец, у Hр может возникать резистентность к определенным антибиотикам в процессе эрадикационной терапии. Такая резистентность становится проблемой, когда она приобретает клиническое значение, или если распространенность резистентных штаммов в популяции высока.

Колонизация слизистой оболочки желудка Hр сопровождается не только инфильтрацией иммунокомпетентными клетками, но и повышением в крови циркулирующих антител. По данным Л. И. Аруина и соавт. [18], отмечено повышение в крови титра IgG у больных язвами желудка и двенадцатиперстной кишки как свидетельство выраженной пенетрации микроорганизмов. На фоне повышения IgG отмечается низкий титр IgA и IgM.

Для эрадикации Hр и воздействия на процессы иммунологической защиты, а значит, и репаративной регенерации слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки, у больных с язвами желудка и луковицы двенадцатиперстной кишки мы применили интрагастральное введение экзогенного оксида азота от аппарата «Плазон».

Цель исследования: оценить эффективность оксида азота в комплексном лечении больных с язвами желудка и двенадцатиперстной кишки.

Материалы и методы

Под наблюдением находилось 138 больных с язвами желудка и двенадцатиперстной кишки. Мужчин было 86, женщин – 52 в возрасте от 21 до 70 лет. 76 пациентов (55,9%) предъявляли жалобы на умеренные боли в эпигастальной области, изжога беспокоила 59 больных (42,8%), слабость и снижение работоспособности отмечали 18 (13,04%) пациентов.

Всем больным выполняли эзофагогастродуоденоскопию видеоэндоскопом фирмы «Fujinon» EG-530WR. В процессе ЭГДС выполняли биопсию

слизистой антрального отдела желудка. Для определения Hр с биопсийного фрагмента делали мазок-отпечаток на предметное стекло с последующей окраской по Паппенгейму.

Изучали влияние оксида азота на процессы иммунологической защиты. Для изучения влияния оксида азота на клеточный иммунитет у 30 больных с язвами желудка и двенадцатиперстной кишки определяли степень иммунных нарушений с помощью моноклональных антител (реакция PCNA).

Рисунок.
Аппарат «Плазон»
Apparatus "Plazon"



Для изучения динамики изменений показателей гуморального иммунитета на фоне противоязвенной терапии с включением оксида азота в сыворотке крови определяли иммуноглобулины А, М и G с помощью иммуноферментного анализа (ИФА).

В зависимости от характера лечения все больные были разделены на 2 группы. В основной группе на фоне традиционной противоязвенной терапии

(без антибактериальных препаратов) выполняли инсuffляцию оксида азота от аппарата «Плазон» (рис. 1). Оксид азота подавали по каналу эндоскопа в желудок в течение 1 минуты. Содержание NO в газовом потоке составило 300 ppm. Лечение проводили через день. В группе сравнения (20 больных) проводили только традиционную противоязвенную терапию.

Результаты

Во время диагностической ЭГДС у 47 больных (34,1%) обнаружены множественные острые язвы в теле и антральном отделе желудка, у 91 пациента (65,9%) – язвы луковицы двенадцатиперстной кишки. Размеры язв были от 0,5 до 1 см в диаметре.

У 98 больных (71%) имела место выраженная обсемененность Нр (+++), умеренно выраженная обсемененность Нр (++) – у 30 (21,7%) и слабая обсемененность Нр (+) – у 10 пациентов (7,3%).

При исследовании клеточного звена иммунитета до лечения обнаружено достоверное снижение показателей относительного и абсолютного количества Т-лимфоцитов в периферической крови. Относительное содержание Т-лимфоцитов у больных с язвами желудка и двенадцатиперстной кишки (при сравнении с группой здоровых лиц) было ниже нормы на 18,2%, абсолютное количество Т-лимфоцитов – на 35,1%. Содержание относительного и абсолютного количества Тхелп. значительно отличалось от нормы соответственно на 21,1% и 38,9%. Содержание относительного количества Тсупр. было ниже нормы на 15,1%, абсолютного количества Тсупр. – на 28,8% ($p < 0,01$).

Изучение гуморального звена иммунитета у больных до лечения выявило пониженную концентрацию иммуноглобулинов класса А в периферической крови у 48% больных до $1,07 \pm 0,63$ г/л (норма $2,68 \pm 0,23$ г/л). Была понижена концентрация иммуноглобулинов класса М у 65% пациентов до $0,37 \pm 0,09$ г/л (норма $1,49 \pm 0,71$ г/л). Содержание иммуноглобулинов класса G у 83% больных было повышено до $17,41 \pm 1,14$ г/л (норма $11,21 \pm 0,81$ г/л). В сравнении с группой здоровых лиц имела статистически достоверная разница ($p < 0,05$). Таким образом, можно отметить, что в зоне патологического

очага имела место аутоиммунная агрессия, и создавались благоприятные условия для нарушения микроциркуляции и трофики.

Эрадикацию Нр в основной группе проводили благодаря бактерицидному действию оксида азота. После 5 сеансов NO-терапии ни у одного пациента не было выраженной обсемененности слизистой Нр, а умеренно выраженная и слабая обсемененность Нр диагностирована у 6 больных (4,3%).

После проведенной комплексной терапии с включением оксида азота относительное и абсолютное количество Т-лимфоцитов и его субпопуляций достоверно увеличилось в периферической крови соответственно на 11,2% и 12,1%. Отмечено увеличение популяции Т-хелперов на 32,3% и снижение Т-супрессоров на 28,1%. Таким образом, ИРИ составил 1,1, что характеризовало снижение напряженности ишемии слизистой оболочки желудка.

Через 2 недели после проведенного курса комплексной терапии с включением оксида азота отмечено умеренное снижение концентрации иммуноглобулина класса G до $11,21 \pm 0,81$ ($p < 0,05$), тогда как показатели концентрации иммуноглобулинов класса А повысились до $2,74 \pm 0,41$ (на 11,5%), концентрация иммуноглобулинов класса М повысилась до нормы ($1,49 \pm 0,71$) (на 11,1%).

У больных группы сравнения отмечено незначительное повышение концентрации иммуноглобулинов А, М и снижение иммуноглобулина G.

Полная эпителизация язв желудка наступала в среднем за $8,0 \pm 0,6$ дн., язв луковицы двенадцатиперстной кишки – за $10,0 \pm 0,5$ дн. В группе сравнения, не получавших оксид азота, язвы желудка эпителизировались за $15,0 \pm 0,7$ дн., язвы луковицы двенадцатиперстной кишки – за $18,0 \pm 0,2$ дн.

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что на фоне терапии экзогенным оксидом азота происходит эрадикация Нр благодаря бактерицидному действию оксида азота как прямому, так и опосредованному (за счет образования пероксинитрита). Экзогенный оксид азота способствует восстановлению мембранного компонента поврежденных

клеток, стабилизации местных иммунных реакций и гуморального иммунитета. Включение экзогенного оксида азота в комплексное лечение больных с язвами желудка и двенадцатиперстной кишки ускоряет эпителизацию язв в 2 раза по сравнению с пациентами, не получавшими в комплексной терапии оксид азота.

Литература | References

1. Vanin A.F. [NO-therapy: theoretical aspects, clinical experience and problems of using exogenous nitric oxide in medicine. Materials of the scientific and practical conference December 4–5, 2001]. Moscow. 2001. 190 p. (in Russ.)
Ванин А. Ф. NO-терапия: теоретические аспекты, клинический опыт и проблемы применения экзогенного оксида азота в медицине // Материалы научно-практической конференции 4–5 декабря 2001 г. М. 2001. 190 с.
2. Bian K., Murad F. Nitric oxide (NO)—biogenesis, regulation, and relevance to human diseases. *Front Biosci.* 2003;8: d264–d278. Published 2003 Jan 1. doi:10.2741/997
3. Severin E.S., Muizhnek E.L., Severin S.E. [The concept of secondary messengers: from fundamentals to clinical practice]. Moscow. Dimitrea Graph Group Publ., 2005. 336 p. (in Russ.)
Северин Е. С., Муйжнек Е. Л., Северин С. Е. Концепция вторичных мессенджеров: от фундаментальных основ к клинической практике. – М.: Димитреа График Групп. – 2005. – 336 с.
4. Tack J., Demedts I., Meulemans A., Schuurkes J., Janssens J. Role of nitric oxide in the gastric accommodation reflex and in meal induced satiety in humans. *Gut.* 2002;51(2):219–224. doi:10.1136/gut.51.2.219
5. Takeuchi K., Kagawa S., Mimaki H., Aoi M., Kawauchi S. COX and NOS isoforms involved in acid-induced duodenal bicarbonate secretion in rats. *Dig Dis Sci.* 2002;47(9):2116–2124. doi:10.1023/a:1019601702559
6. Arzamashev A.P., Severina I. S., Grigoriev N. B., Granik V. G. Exogenous donors of nitric oxide and inhibitors of NO-synthesis (chemical aspects). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2003;(12):88–95. (in Russ.)
Арзамасев А. П., Северина И. С., Григорьев Н. Б. и др. Экзогенные доноры оксида азота и ингибиторы NO-синтаз (химический аспект) // Вестн. РАМН. – 2003. – № 12. – С. 88–95.
7. Pal'tsev M.A., Ivanov A. A., Severin S. E. [Intercellular interactions]. Moscow. Medicine Publ., 2003. 288 p. (in Russ.)
Межклеточные взаимодействия / М. А. Пальцев, А. А. Иванов, С. Е. Северин. – М.: Медицина. – 2003. – 288 с.
8. Pokrovsky V.I., Vinogradov N. A. [Nitric oxide, its physiological and pathophysiological properties]. *Terapevticheskii arkhiv.* 2005;77(1):82–85. (in Russ.)
Покровский В. И., Виноградов Н. А. Оксид азота, его физиологические и патофизиологические свойства // Тер. архив. – 2005. – № 1. – С. 82–85.
9. Granik V.G., Grigoriev N. B. [Nitric oxide (NO)]. Moscow. University Book Publ., 2004. 359 p. (in Russ.)
Граник В. Г., Григорьев Н. Б. Оксид азота (NO). – М.: Вузовская книга. – 2004. – 359 с.
10. Golikov P.P. [Nitric oxide in the clinic of urgent diseases]. Moscow. MEDPRAKTIKA-M. Publ., 2004. 179 p. (in Russ.)
Голиков П. П. Оксид азота в клинике неотложных заболеваний. – М.: МЕДПРАКТИКА-М. – 2004. – 179 с.
11. Chernekhovskaya N.E., Shishlo V. K., Chomaeva A. A. [Endothelium of blood and lymphatic vessels]. Moscow. Institute of Animal Husbandry Publ., 2010. 182 p. (in Russ.)
Чернеховская Н. Е., Шишло В. К., Чомаева А. А. Эндотелий кровеносных и лимфатических сосудов. – М.: ВНИИ животноводства. – 2010. – 182 с.
12. Vinogradov N. A. Antimicrobial properties of nitrogen oxide and regulation of its biosynthesis in macroorganism. *Antibiotic. and chemother.* 1998;43(2):24–29. (in Russ.)
Виноградов Н. А. Антимикробные свойства окиси азота и регуляция ее биосинтеза в макроорганизме // Антибиот. и химиотер. – 1998. – Т. 43. – № 2. – С. 24–29.
13. Alam M.S., Akaike T., Okamoto S., et al. Role of nitric oxide in host defense in murine salmonellosis as a function of its antibacterial and antiapoptotic activities. *Infect Immun.* 2002;70(6):3130–3142. doi:10.1128/IAI.70.6.3130–3142.2002
14. Ignarro L.J. Physiology and pathophysiology of nitric oxide. *Kidney Int Suppl.* 1996;55: S2–S5. PMID: 8743501.
15. Vyrenkov Yu.E., Esipov A. V., Musailov V. A., et al. The application of nitrogen oxide. *Russian Journal of Physiotherapy, Balneology and Rehabilitation.* 2014;(1): 33–40. (in Russ.)
Выренков Ю. Е., Есипов А. В., Поваляев А. В. Применение монооксида азота в хирургической практике // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. – 2014. – № 1. – С. 33–40.
16. Pekshev A.V., Kozlov N. P., Vagapov A. B., et al. [The Plason apparatus – principles of formation of air-plasma and NO-containing gas flows]. Conference [NO-therapy: theoretical aspects, clinical experience and problems of the application of exogenous nitric oxide in medicine]. Moscow. 2001, pp. 60–63. (in Russ.)
Пекшев А. В., Козлов Н. П., Вагапов А. Б. и др. Аппарат «Плазон» – принципы формирования воздушно-плазменных и NO-содержащих газовых потоков // Мат. конф. NO-терапия: теоретические аспекты, клинический опыт и проблемы применения экзогенного оксида азота в медицине. – М., 2001. – С. 60–63.
17. Aruin L. I., Kapuller L. L., Isakov V. A. [Morphologic diagnosis of diseases of the stomach and intestines]. Moscow. Triada-Kh. Publ., 1998. 496 p. (in Russ.)
Аруин Л. И., Капуллер Л. Л., Исаков В. А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Триада-Х., 1998. – 496 с.