



УДК 616.33/.342:616.379-008.64

А. В. Вахненко

## ПАТОГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ УШКОДЖЕННЯ СЛИЗОВОГО БАР'ЄРА ШЛУНКА ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ У ПОЄДНАННІ З ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

Вищий державний навчальний заклад України  
«Українська медична стоматологічна академія», Полтава

Цукровий діабет (ЦД) є одним із найрозповсюдженіших захворювань людини і характеризується зростанням захворюваності в усьому світі. За даними ВООЗ, нині нараховується 130 млн хворих на ЦД, а за розрахунками експертів ВООЗ, їх кількість у 2025 р. становитиме 300 млн осіб [8; 9; 17]. Слід враховувати, що ЦД супроводжується не лише мікро- та макроангіопатіями, але й нерідко трапляється його поєднання з ураженням інших органів і систем [6]. Проте в літературі відсутня вичерпна інформація, яка стосується даної проблеми, зокрема недостатньо вивчені патогенетичні зміни з боку шлунка та дванадцятипалої кишки при ЦД. Незважаючи на понад 65-річний досвід вивчення поєднаного перебігу ЦД і пептичної виразки (ПВ), відсутні чіткі уявлення щодо причинно-наслідкових взаємозв'язків, особливостей патогенезу та перебігу поєднаних захворювань, що необхідно враховувати з метою обґрунтування нових шляхів розв'язання проблеми ефективного лікування та профілактики.

**Метою** даного дослідження є вивчення патогенетичних механізмів розвитку ерозивно-ви-

разкових уражень слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки у щурів за моделювання експериментальної виразки в поєднанні з ЦД.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконані на статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar (41 особина) масою 180–220 г. Проведений кількісний розподіл експериментальних тварин за групами: I група (n = 8) — інтактні тварини (контроль), II група (n = 12) — експериментальна виразка шлунка, III група (n = 10) — ЦД, IV група (n = 11) — експериментальна виразка шлунка + ЦД.

При виконанні експериментального фрагмента роботи дотримувалися рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин згідно з Європейською конвенцією [11]. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію.

В експерименті на щурах ПВ у поєднанні з ЦД відтворювали за власними розробленими способами моделювання [12] таким чином. Перед початком відтворення експерименталь-

ної виразки всі тварини голодували протягом 24 год без обмеження пиття. Тваринам щодня протягом 12 діб перорально через зонд вводили 10%-й розчин консервованої бичачої жовчі (1 мл/100 г маси тіла) на фоні дозованого голодування (зменшення стандартного раціону на третину). Через 1 год після перорального введення розчину жовчі, що відтворює цитотоксичну та детергентну дію на слизову оболонку шлунка (СОШ), тварин піддавали впливу хронічного іммобілізаційного стресу за К. Kurijama et al. (1984) зі зростаючою експозицією: 1-й день — 15 хв, 2-й день — 30 хв, 3-й день — 45 хв, з 4-го по 12-й дні — 60 хв, іммобілізуючи щурів у спеціальних посудинах із зануренням їх у воду при температурі +22 °С. Після закінчення дії стресорних подразників тварин поміщали на 2 год у звичайні клітки.

На шостий день з метою відтворення ЦД щурам одноразово внутрішньочеревно вводили алоксан дозою 100 мг/кг.

Розроблена експериментальна модель ПВ у поєднанні з ЦД створювалася з метою максимального наближення її за провідними патогенетични-



ми механізмами до розвитку захворювання у людини.

Евтаназію тварин проводили під гексеналовим наркозом (50 мг/кг маси тіла внутрішньочеревинно) шляхом кровопускання. Після евтаназії шлунок розтинали за великою кривизною та промивали ізотонічним розчином натрію хлориду ( $t = 37^\circ\text{C}$ ). За допомогою лупи проводили макроскопічну оцінку препарату шлунка, враховуючи частоту, множинність і тяжкість виразок.

Тяжкість виразкових уражень шлунка оцінювали у балах за кількістю виразок: 1–5 виразок — 1–5 балів, 6–10 — 6 балів, 10–15 — 7 балів, 16–20 — 8 балів, 21–30 — 9 балів. Множинність виразкових уражень шлунка розраховували за відношенням кількості виразок у всіх щурів до кількості тварин у групі [5]. Планіметричним методом розраховували також площу виразкових уражень СОШ [13].

Стан сполучнотканинних структур у щурів у експерименті оцінювали на підставі визначення вмісту N-ацетилнейрамінової кислоти (NANA) за методом Гесса [7] і гексуранових кислот (глюкуронової та ідуранової) карбазоловим методом [2] у сироватці крові та гомогенаті СОШ. Шлунковий слиз для біохімічного дослідження відокремлювали шляхом зіскрібання.

У сироватці крові та гомогенаті тканин щурів визначали загальну протеолітичну активність за методом Мура і Стейна [16] і активність  $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора ( $\alpha_1$ -ПІ) методом К. Н. Веремєєнка [4]. Проводили визначення концентрації глюкози в крові [7].

Отримані результати клініко-експериментальних досліджень проаналізовані з використанням методів варіаційної статистики. Вірогідність різниці при порівнянні середньоарифметичних величин визначали за допомогою t-критерію Стьюдента. Всі обчислення виконані за допомогою статистичного пакета прикладних програм "Statistica 5.3" (версія 3.6) на

персональному комп'ютері IBM PC/AT.

### Результати дослідження та їх обговорення

За експериментальної ПВ і за умов моделювання ПВ у поєднанні з ЦД у 100 % щурів II і IV груп встановлено наявність ульceraцій СОШ. Так, у тварин IV групи з поєднанням ПВ із ЦД множинність виразок (кількість виразок на 1 щура) становить  $13,13 \pm 2,76$ , а тяжкість —  $(6,80 \pm 0,75)$  бала (табл. 1), що відповідно в 3,7 і 2,7 разу вище зазначених показників II групи, яка зазнала моделювання ПВ. При цьому у тварин IV групи загальна площа виразок шлунка була вищою в 4,6 разу порівняно з II групою (див. табл. 1).

Слід зазначити, що на 6-й день після введення алоксану

з метою моделювання ЦД рівень глікемії становив  $(11,04 \pm 0,57)$  ммоль/л у щурів IV групи,  $(10,50 \pm 0,44)$  ммоль/л у щурів III групи порівняно з  $(6,00 \pm 0,91)$  ммоль/л у щурів II групи ( $P < 0,05$ ).

Біополімери шлункового слизу, утворюючи водонерозчинний гель, забезпечують цілісність і резистентність слизового бар'єра, здатного затримувати високомолекулярні речовини, зокрема пепсин [3].

За ПВ і ПВ у поєднанні з ЦД відбувається зростання вмісту NANA в гомогенаті СОШ в 1,7 і 2,1 разу відповідно порівняно з інтактними тваринами (табл. 2), що свідчить про підсилення деполімеризації сіалопротеїнів, яке призводить до зниження резистентності слизового бар'єра шлунка до протеолітичних фер-

Таблиця 1

#### Показники виразкоутворення у щурів за умов експериментальної виразки шлунка у поєднанні з цукровим діабетом, $M \pm m$

Показники	Експериментальна виразка шлунка, n = 12	Експериментальна виразка шлунка + цукровий діабет, n = 11
Частота виразок, %	100	100
Множинність виразок, кількість на 1 щура	$3,51 \pm 1,24$	$13,13 \pm 2,76^*$
Тяжкість виразкового процесу, бали	$2,50 \pm 0,45$	$6,80 \pm 0,75^*$
Загальна площа виразок, мм <sup>2</sup> на 1 тварину	$4,45 \pm 1,56$	$20,56 \pm 4,46^*$

Примітка. \* — вірогідні відмінності ( $P < 0,05$ ).

Таблиця 2

#### Біохімічні показники шлункового слизу та сироватки крові щурів за умов експериментальної виразки з супровідним цукровим діабетом, $M \pm m$

Показники	Інтактні щури, n = 8	Експериментальна виразка, n = 12	Цукровий діабет, n = 10	Експериментальна виразка + цукровий діабет, n = 11
N-ацетилнейрамінова кислота				
Кров, ммоль/л	$1,94 \pm 0,18$	$2,34 \pm 0,14^*$	$2,18 \pm 0,10$	$3,17 \pm 0,22^*, **$
слиз, мкмоль/г	$3,55 \pm 0,36$	$5,94 \pm 0,27^*$	$4,08 \pm 0,20$	$7,36 \pm 0,21^*, **$
Гексуранові кислоти				
Кров, ммоль/л	$0,74 \pm 0,10$	$0,41 \pm 0,11^*$	$0,69 \pm 0,15$	$0,38 \pm 0,12^*, **$
Шлунок, мкмоль/г	$6,98 \pm 0,77$	$5,24 \pm 1,14$	$5,68 \pm 1,01$	$4,18 \pm 0,94^*$

Примітка. У табл. 2 і 3: \* — вірогідні відмінності показників між групою інтактних щурів і дослідними групами; \*\* — між показниками II та IV груп.



**Протеолітична активність і активність  $\alpha_1$ -інгібітора протеїназ у сироватці крові та шлунковому слизі щурів,  $M \pm m$**

Показники	Інтактні щури, n = 8	Експериментальна виразка, n = 12	Цукровий діабет, n = 10	Експериментальна виразка + цукровий діабет, n = 11
Протеолітична активність				
Кров, мкмоль/(хв·мл)	0,41±0,04	0,59±0,07*	0,51±0,08	0,78±0,05*, **
Слиз, мкмоль/(хв·г)	0,65±0,11	0,94±0,06*	0,75±0,09	1,2±0,1*, **
Активність $\alpha_1$ -інгібітора протеїназ				
Кров, мкмоль/(хв·мл)	2,69±0,18	1,74±0,25	1,98±0,35	1,58±0,19*
Шлунок, мкмоль/(хв·г)	40,5±3,2	30,7±2,6*	36,9±2,9	19,6±2,0*, **

ментів і зменшення його захисних властивостей [10; 15].

Водночас у щурів II і IV груп збільшується вміст NANA в 1,2 і 1,6 разу в сироватці крові (див. табл. 2), що відображає системний характер реакцій сполучнотканинних структур і сприяє підвищеному надходженню олігополімеризованих сіалових кислот у сироватку крові.

Конформаційні зміни структури глікопротеїнів і підвищення у складі шлункового слизу питомої ваги їх низькомолекулярних фракцій призводить до зниження в'язкості та гелеутворення слизового бар'єра [3; 14].

У щурів за ПВ відсутні вірогідні зміни вмісту гексуронової кислоти, які є складовою частиною протеогліканів, у гомогенаті СОШ, а у щурів за ПВ у поєднанні з ЦД спостерігається зниження їх вмісту в 1,7 разу порівняно з інтактними (див. табл. 2).

Зниження концентрації гексуронової кислоти у сироватці крові в 1,8 і 1,9 разу у щурів II і IV груп (див. табл. 2), порівняно з інтактними, не узгоджується з характером змін NANA і свідчить про пригнічення синтезу глікозаміногліканів, якщо враховувати, що джерелом синтезу гексуронової кислоти є глюкоза і за ПВ активація симпатико-адреналової системи сприяє мобілізації та перерозподілу енергетичних ресурсів у тканинах [10]. Отже, зниження рівня гексуронової кислоти у сироватці крові за ПВ і ПВ у поєднанні з ЦД може бути наслідком інгібування біосинтезу глікозаміногліканів.

Надзвичайно важливе вивчення стану протеїназно-інгібіторного балансу в тканинах СОШ і крові з метою розкриття провідних механізмів патогенезу ПВ у поєднанні з ЦД.

Встановлено зростання загальної протеолітичної активності в гомогенаті СОШ у щурів за ПВ і ПВ у поєднанні з ЦД в 1,4 і 1,8 разу на фоні одночасної активації протеолітичної активності сироватки крові, про що

свідчить підвищення активності протеїназ у крові в 1,4 і 1,9 разу порівняно з інтактними тваринами (табл. 3). Надмірна активація протеїназ є патогенетичним фактором розвитку ПВ за рахунок порушення резистентності СОШ і слизової оболонки дванадцятипалої кишки (СОДК) [1].

За умов системної та місцевої активації протеолізу відбувається інгібування активності  $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора в гомогенаті СОШ щурів II і IV груп відповідно в 1,3 і 2,1 разу, порівняно з інтактними (див. табл. 3), за рахунок його споживання для зв'язування з активними протеїназами. Однотипний характер змін встановлений у сироватці крові — зменшення активності  $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора в 1,5 і 1,7 разу у щурів II і IV груп порівняно з інтактними.

Таким чином, одним із провідних механізмів розвитку ПВ, особливо ПВ у поєднанні з ЦД, є активація протеолітичних процесів у СОШ за одночасного зниження активності  $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора на фоні системної активації протеолізу.

Отже, провідні патогенетичні механізми ушкодження слизового бар'єра шлунка за ПВ у поєднанні з ЦД — це підвищення катаболізму захисних білків шлункового слизу за одночас-

ного протеїназно-інгібіторного дисбалансу. Максимально виражений ступінь порушення метаболічних процесів спостерігається за умов поєднання ПВ і ЦД, порівняно з групою щурів із модельованою ПВ, що необхідно враховувати при виборі методів лікування поєднаної патології.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Акбашева О. Е. Фенотипи  $\alpha_1$ -протеїназного інгібітора і активність протеолітичних ферментів плазми крові при язвенній хворобі / О. Е. Акбашева, Е. В. Пехтерева, Т. М. Скороходова // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. — 2001. — Т. 11, № 2. — С. 44-46.
2. Архипова О. Г. Методи досліджень в профпатології / О. Г. Архипова. — М.: Медицина, 1988. — 208 с.
3. Вахрушев Я. М. Исследование слизиобразующей функции желудка при лечении больных язвенной болезнью различными антисекреторными препаратами / Я. М. Вахрушев, О. В. Муравцева // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2002. — № 2. — С. 29-31.
4. Веремеенко К. Н. Протеолиз в норме и при патологии / К. Н. Веремеенко, О. П. Голобородько, Л. М. Кизим. — К.: Здоров'я, 1988. — 200 с.
5. Виноградов В. А. Влияние нейрорепептидов на экспериментальную дуоденальную язву у крыс / В. А. Виноградов, В. М. Полонский // Патол. физиол. и эксперим. терапия. — 1983. — № 1. — С. 3-6.



6. Зиннатуллин М. Р. Сахарный диабет и язвенная болезнь / М. Р. Зиннатуллин, Я. С. Циммерман, В. В. Трусов // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2003. — № 5. — С. 17-24.

7. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников. — Т. 2. — Минск : Беларусь, 2000. — 463 с.

8. Колесникова Е. В. Диабетическая гастропатия: современный взгляд на этиопатогенез, диагностику и лечение / Е. В. Колесникова // Здоров'я України. — 2007. — № 7/1. — С. 62-63.

9. Медик В. А. Руководство по статистике здоровья и здравоохранения / В. А. Медик, М. С. Токмачев. — М. : Медицина, 2006. — 582 с.

10. Меерсон Ф. З. Развитие адаптации к стрессу в результате курса транскраниальной электростимуляции / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова, Б. А. Кузнецова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1994. — Т. 119, № 1. — С. 16-18.

11. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. — 1993. — № 1. — С. 29-30.

12. Патент на корисну модель 37739 Україна, МПК(2006) А61В 10/00. Спосіб моделювання пептичної виразки шлунка у поєднанні з цукровим діабетом / Скрипник І. М., Непорада К. С., Гопко О. Ф., Вахненко А. В., Давиденко С. В., Давиденко О. В.; заявник та патентовласник автори. — № u2008 07638; заявл. 04.06.08; опубл. 10.12.08, Бюл. № 23.

13. Пшенникова М. Г. Оксид азота как фактор генетически детерминированной устойчивости к стрессорным повреждениям и адаптационной защиты / М. Г. Пшенникова, Н. А. Бондаренко, М. В. Шимкович // Бюллетень экспериментальной биологии и

медицины. — 2001. — Т. 132, № 11. — С. 510-513.

14. Скрипник І. М. Клініко-експериментальне обґрунтування патогенетичних механізмів пептичної виразки / І. М. Скрипник // Галицький лікарський вісник. — 2002. — Т. 9, ч. 2. — С. 72-74.

15. Скрипник І. М. Роль дезадаптації в розвитку пептичної виразки: від експерименту до клініки / І. М. Скрипник, К. С. Непорада, О. Ф. Гопко // Гастроентерологія. — 2009. — Вип. 43. — С. 40-46.

16. Уголев А. М. Исследования пищеварительного аппарата у человека / А. М. Уголев, Н. Н. Иезуитова, У. Г. Масевич. — Л. : Наука, 1969. — 216 с.

17. King H. Global burden of diabetes, 1995–2025. Prevalence, numerical estimates and projection / H. King, R. E. Aubert, W. H. Herman // Diabetes Care. — 1998. — N 21. — P. 1414-1431.

УДК 577.151.121:092.9

М. Я. Головенко, І. Ю. Борисюк, Н. В. Шнейдер  
**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ  
ТА КОМП'ЮТЕРНЕ МОДЕЛЮВАННЯ  
БІОФАРМАЦЕВТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ  
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, ЯКІ МІСТЯТЬ  
ДИФЕНІЛ У СВОЇЙ МОЛЕКУЛІ**

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, Одеса

Дифеніл за хімічною будовою є здвоєним фенольним радикалом, малорозчинним у воді. Він належить до речовин, які мають середню токсичність, і розпадається біологічним шляхом до малотоксичних метаболітів.

Сполука набула широкого розповсюдження у фармацевтичній хімії як синтон для синтезу таких лікарських засобів, як лозартан, вальсартан (блокатори рецепторів ангіотензину II НТ1-рецепторів) і флурбінофен (нестероїдний протизапальний препарат). Можна припустити, що дифеніл як основоположний фрагмент молекул зазначених препаратів буде відігравати ви-

рішальну роль у виявленні їх біофармацевтичних і фізико-хімічних властивостей.

**Мета** даної роботи полягає у зіставленні біофармацевтичних і фізико-хімічних параметрів дифенілу з аналогічними показниками молекул лозартану, вальсартану та флурбінофену методами комп'ютерного моделювання з подальшим експериментальним доведенням зазначених закономірностей.

**Матеріали та методи дослідження**

У роботі було використано 4-<sup>3</sup>H-дифеніл з питомою радіоактивністю 252,6 Кі/моль. Дослідження були проведені на

нелінійних мишах-самцях масою 20–25 г, яких утримували на повноцінній лабораторній дієті при природному світловому циклі. Для вивчення процесу транзиту дифенілу вздовж шлунково-кишкового тракту (ШКТ) тваринам одноразово перорально вводили 4-<sup>3</sup>H-дифеніл дозою 100 мг/кг (0,65 мМоль/кг у твінової емульсії).

Через 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6 та 8 год тварин піддавали хлороформному наркозу, декапітували, відбирали відділи кишечника та плазму крові. Визначення вмісту радіоактивного матеріалу в плазмі крові (4 тис. об./хв, 15 хв) проводили, відбираючи аліквоту (0,2 см<sup>3</sup>) плазми крові

