

© Євтушенко Н.В., Іліка В.Г., Говоруха Т.М., Бабан В.М., Весельський С.П.

УДК: 616.33.002.44:539.1.047

Євтушенко Н.В., * Іліка В.Г., Говоруха Т.М., Бабан В.М., Весельський С.П.

НДІ фізіології імені академіка Петра Богача Київського національного університету ім. Тараса Шевченка (проспект академіка Глушкова 2, м. Київ, Україна, 5220828), *Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ОСОБЛИВОСТІ ПОЄДНАНОЇ ДІЇ ОМЕПРАЗОЛУ І ФАМОТИДИНУ НА ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ШЛУНКОВОГО СОКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІМУНОДЕПРЕСІЇ

Резюме. Показано, що через 21 день поєднаного впливу омепразолу з фамотидином збільшувалися вдвічі значення рН шлункового соку тварин, а також відмічалися зміни в складі білків останнього. Додатковий вплив антитимоцитної сироватки (імунодепресія) і етанолу погіршували ефект використаних препаратів, про що свідчить подальше пошкодження слизової оболонки шлунку і наявність низькомолекулярних білкових фракцій у шлунковому соку тварин.

Ключові слова: *Helicobacter pylori*, омепразол, фамотидин, ССК-2/гастриновий рецептор, H₂-гістаміновий рецептор.

Вступ

Відомо, що високий рівень секреції соляної кислоти є основним чинником ураження слизової оболонки шлунку (СОШ) при ослабленні факторів захисту останньої. Серед лікарських препаратів, які суттєво знижують рівень секреції соляної кислоти у шлунку, є похідне бензімідазолу - омепразол. Ефективність дії його, як інгібітора протонної помпи, визначається швидкістю синтезу нових молекул соляної кислоти, а також тривалістю циркуляції омепразолу в крові [Wolfe, Sachs, 2000]. Показано, що при довготривалому безперервному застосуванні омепразолу у хворих спостерігається гіпергастринемія, що проявляється явищами атрофічного гастриту, розвитком вузлової гіперплазії ентерохромозиноподібних клітин СОШ [Renga et al., 1997]. За розвитком шлункової метаплазії, дисплазії, карциноми *in situ* та раку шлунку спостерігали утрансгенних (INS-GAS) мишей після внутрішньовенного навантаження омепразолом [Takaishi et al., 2005]. Автори дійшли до висновку, що хронічна гіпергастринемія у мишей разом із інфекцією *Helicobacter pylori* може призвести до зменшення кількості парієтальних клітин та розвитку раку шлунку. Крім своєї участі у секреції шлункового соку, парієтальні клітини виділяють ще певні фактори росту, які впливають на диференціацію головних клітин СОШ.

Подальшими дослідженнями на моделі трансгенних мишей ці вчені встановили, що омепразол самостійно не здатний викликати атрофію слизової оболонки шлунку і канцерогенез в інфікованих мишей. Комбіноване ж використання антагоністів ССК-2/гастринового й гістамінового H₂-рецепторів (синергічний інгібіторний ефект) може спричинити розвиток атрофії та рак шлунку [Takaishi et al., 2005]. Існує також синергізм між інфекцією *Helicobacter pylori* та нестероїдними протизапальними засобами (НПЗЗ) в розвитку виразкової хвороби та виразкових кровотеч [Huang et al., 2002]. У літературі є дані щодо змін показників рівнів базальної та стимульованої секреції соляної кислоти в залежності від кількості гастрину в плазмі крові при періодичному прийомі омепразолу [Hewson, Yeomans, 1988].

Зокрема, у пацієнтів із гастроєзофагальною реф-

люксною хворобою впродовж двох тижнів проводили щодобові дослідження рН шлункового соку з метою оцінки ефективності курсу лікування інгібітором протонної помпи. Крім цього, цікавим є факт впливу надвисоких доз омепразолу в поєднанні з фамотидином (блокатором H₂ гістамінових рецепторів) на функціональний стан СОШ [Warrington et al., 2002].

Мета роботи - дослідити, як за умов імунодепресії поєднана дія омепразолу і фамотидину впливає на характеристики шлункового соку щурів.

Матеріали та методи

Були запропоновані різні схеми введення омепразолу для відтворення моделі гіпергастринемії [Kiilerich et al., 1995; Liu et al., 1998]. В експериментах було застосовано як принцип "уїкендової терапії" - послідовне (через шість годин) та переривчасте введення омепразолу і фамотидину, так і феномен "рикошетного спалаху", що є наслідком введення щурам *per os* дози омепразолу, яка у 5,7 рази перевищувала рекомендовану фармакологічну (400 мкмоль/кг=13,8 мг/кг маси тіла) дозу. Впродовж 21 доби ми досліджували на фоні імунодепресії спільну дію фамотидину й омепразолу на секрецію HCl, якісні характеристики білкових фракцій шлункового соку та вільно-радикальне окиснення ліпідів. У роботі були використані реактиви вітчизняного та іноземного виробництва кваліфікації ч.д.а., омепразол (Dr.Reddy's Labs., Індія), фізіологічний розчин стерильний, фамотидин (ДНЦЛЗ, м. Харків, Україна), етанол 96 відсотковий. Дослідження проводили на 90 білих самицях щурів лінії Westar (масою 150-180 г) із дотриманням нормативів конвенції Ради Європи з біоетики (1997), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію з 24-годинною харчовою депривацією і

вільним доступом до води перед початком спроби. Експериментальну виразку шлунку моделювали визнаним пероральним введенням впродовж 1 доби 0,5 мл 80% етанолу. Щурів поділили на групи по 18 тварин. Першій групі щоденно протягом 21 доби вводили вранці омепразол (400 мкмоль/кг), а ввечері - фамотидин (175 мкмоль/кг). Щурам другої групи зі штучною етаноловою виразкою вводили препарати за схемою першої групи. Тваринам третьої і четвертої (з етаноловою виразкою) груп, окрім вищезазначених препаратів, вранці вводили 0,1 мл антитимощитної сироватки (АТС) на 0; 6; 13 та 20 добу експерименту [Bailly et al., 1991]. Контролем слугували тварини, які не отримували жодних препаратів. Антитимощитну сироватку одержували за відомими рекомендаціями Р.В.Петрова. Титр АТС, який визначали за допомогою імуноферментного аналізу [Рохлин, 1991], коливався в межах 1:4096 - 1:2048. Перед використанням її розводили у 8 разів. Імунодепресію у тварин моделювали, використовуючи схему, запропоновану авторами [Bailly et al., 1991]. Після певних етапів досліджу щурів декапітували на 7, 14 та 21 добу експерименту. Вплив поєднаної дії омепразолу і фамотидину на стан СОШ оцінювали за змінами значень рН та за якісними характеристиками білкових фракцій шлункового соку. Вимірювання рН шлункового соку виконували за методом Langhans [Langhans et al., 1997]. Шлунковий сік отримували після центрифугування шлункового вмісту впродовж 10 хв. при 3000 об/хв. Кислотність останнього визначали за титруванням рідкого компонента 0,01 н NaOH і виражали в мікроеквівалентах Н⁺. Точку еквівалентності фіксували за допомогою рН-метра при нейтральній реакції середовища (рН=7,0) [Kiilerich et al., 1995]. Електрофорез шлункового соку проводили за методом Laemmly [Остерман, 1981]. Були застосовані такі білки-маркери: каталаза із крові бика з молекулярною масою 240 кДа; альдолаза із м'язів кроля -

160 кДа; альбумін із крові бика - 67 кДа; яєчний альбумін - 45 кДа; білок із еритроцитів бика - 30 кДа; хімотрипсин - 25 кДа; кінський міоглобін - 17,8 кДа; цитохром С - 12,3 кДа і апротинін із крові бика - 6,5 кДа. Вміст білка у пробі визначали за методом Бредфорда [Досон с соавт., 1991]. Дію омепразолу і фамотидину на окиснювальний статус органів травлення оцінювали за вмістом тіобарбітурат-реактивних продуктів у тканині печінки щурів [Куклей и др., 1995].

Результати досліджень обробляли статистично, використовуючи t-критерій Стьюдента.

Результати. Обговорення

Із отриманих результатів, відображених на рисунку 1, видно, що через тиждень після введення тваринам омепразолу разом із фамотидином відбуваються зміни значення рН шлункового соку, щодо контролю. За нашими результатами шлунковий сік у контролі має рН 3,0±0,19, що також узгоджується з даними літератури [Kiilerich et al., 1995]. Так, у тварин 1 і 2 груп підвищується рН шлункового соку відповідно на 100 і 66% щодо контролю при застосуванні медпрепаратів впродовж 7 діб. У 3 групі тварин на фоні імунодепресії значення рН соку залишаються без змін, а в 4 групі тварин з виразкою та зниженим імунітетом рН шлункового соку зростає на 50% у порівнянні з контрольним показником.

Слід зауважити, що через два тижні дії вищезгаданих чинників на організм тварин величина рН шлункового соку лише в 4 групі суттєво знижується (на 67%), тоді, як у щурів 1 і 2 груп залишається без змін, а в третій наближається до контрольної величини. При продовженні терміну навантаження препаратом щурів (21 доба) середні значення рН шлункового соку дорівнювали 5,0±0,9 (р<0,05) та 6,25±0,25 (р<0,05), відповідно, у тварин 1 і 3 груп. Останнє свідчить, що омепразол разом із фамотидином пригнічує секрецію соляної кислоти. Це знаходить підтвердження в роботі Roh et al [2004] про те, що у пацієнтів із виразкою й ерозіями шлунку вдвічі зростає значення рН шлункового соку при введенні 20 мг або 40 мг омепразолу.

Відомо, що при підвищеній секреції гастрину клітинами антрального відділу шлунку відбувається надмірна продукція соляної кислоти, значно знижується рівень рН шлункового соку і спостерігається зворотна дифузія іонів водню [Roh et al., 2004]. Це може спричинити запалення, ерозії слизової оболонки шлунку і згодом викликати утворення виразки. Проведені нами пробні морфологічні дослідження та виявлене зниження рН шлункового соку (рН=2, р<0,05) свідчать про вищезазначене, оскільки в 4 групі тварин, де застосовувалась антитимощитна сироватка, через три тижні використання препаратів спостерігалась виразка шлунку з гістіоцитарно-плазмощитарною інфільтрацією. Були виявлені набряки, а в деяких клітинах залоз, котрі розташовані ближче

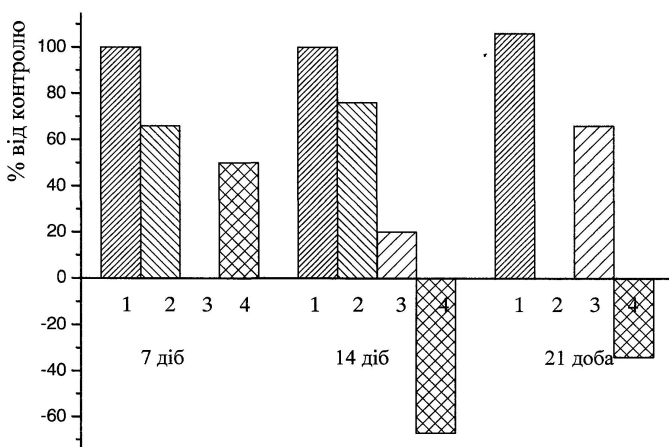


Рис. 1. Зміна значень рН шлункового соку щурів після введення препаратів (% від контролю).

Примітка. * - р<0,05; 1-4 - групи тварин (пояснення у тексті).

Таблиця 1. Інтенсивність ПОЛ (%) у тканині печінки щурів 1-4 груп на 21 добу експерименту ($M \pm m$, $n=3$; * - $p < 0,05$ у порівнянні з контролем).

| Контроль | 1 група | 2 група | 3 група | 4 група |
|----------|-----------|----------|-----------|-----------|
| 100 | 172±10,4* | 182±4,6* | 176±11,7* | 247±12,8* |
| | 100 | 106±0,5* | 107±1,4* | 143±5,8* |
| | | 100 | 98±0,1 | 134±4,9 |
| | | | 100 | 140±3,1* |

до просвіту шлунку, помічено поодинокі клітини бокалоподібної форми, які властиві епітелію кишківника, що може бути провісником метаплазії за кишковим типом.

Електрофоретичне дослідження білкового складу шлункового соку у тварин із виразкою (2 група, 7 і 14 доби) дозволило виявити високомолекулярну білкову фракцію (160кДа) та білкові фракції з молекулярною масою 50-60кДа. За даними літератури [Алиев, 1978] такі маси відповідають фракціям Z і M_4 . У нормі вміст високомолекулярних поліпептидних фракцій (Z) у шлунковому соку є в 4 рази меншим за кількість мукопротеоз (фракції M_1 - M_4). Через 21 добу на електрофореграмах фракції Z і M_4 виявлялись лише в слідових кількостях. Згідно з твердженням Геллера [1975], зниження кількості фракції M_4 або навіть відсутність її, розглядається як ознака заживлення виразки шлунку. У шлунковому соку тварин 4 групи на 14 і 21 доби було виявлено білкову фракцію з молекулярною масою 17,8 кДа та фракції з молекулярною масою 6-12 кДа, тоді як у шлунковому соку всіх груп тварин на початку введення препаратів низькомолекулярних білкових фракцій практично не спостерігалось.

Відомо, що в ураженому шлунку із запаленням, набряками або виразкою спостерігається підвищення інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Водночас при виразковому утворенні та імунідепресії спостерігаються зрушення біохімічних процесів, що позначається і на інших органах шлунково-кишкового тракту. Тому доцільно було паралельно відслідкувати зміни інтенсивності ПОЛ у тканині печі-

нки. Введення омепразолу і фамотидину впродовж 21 доби супроводжувалося незначним підвищенням накопичення ПОЛ у печінці тварин 1 групи. Це можна пояснити токсичною дією даних препаратів на організм щурів. У таблиці 1 представлені дані порівняльної оцінки інтенсивності ПОЛ контрольних даних і таких, що отримані через три тижні експерименту.

Це пов'язано з тим, що використовувані препарати протягом 21 доби могли або загоїти виразку, або призвести до утворення нової. Із таблиці 1 видно, як кожний із чинників досліджуваної моделі впливає на інтенсивність ПОЛ.

Відтак, можна констатувати, що у 4 групі тварин інтенсивність вільнорадикального окиснення ліпідів у печінці залишається високою і перевищує контрольні значення на 147 відсотків.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Результати проведених досліджень свідчать, що омепразол у поєднанні з фамотидином на фоні імунідепресії через три тижні викликають такі зміни у рівні рН шлункового соку й загальному складі білків клітин слизової оболонки шлунку, що, на нашу думку, можуть характеризувати процес розвитку гострої виразки шлунку із запальною, поліморфноклітинною інфільтрацією.

У перспективі, з урахуванням запропонованих нами відповідних моделей і подразників, доцільно провести морфологічні дослідження слизової шлунку після введення вищезазначених препаратів на фоні імунідепресії.

Приведені дані є лише першим кроком, який дозволить нам достовірніше підтверджувати дії вищезазначених чинників на функціональний і патологічний/морфологічний стан білків клітин слизової оболонки шлунку і тканини печінки з урахуванням встановленого нами патологічного зрушення в ній антиоксидантно-прооксидантної рівноваги.

Список літератури

- Алиев А.И. Влияние селективной ваготомии на белковый и аминокислотный состав желудочного сока // Физиол. журнал СССР им. И.М.Сеченова. - 1978. - №6. - С. 766-769.
- Антителя. Методы; ред. О.В.Рохлина. - М.: Мир, 1991. - С. 156-159.
- Остерман Л.А. Методы исследования белков и нуклеиновых кислот: электрофорез и ультрацентрифугирование /Остерман Л.А. - М.: Наука, 1981. - 288 с.
- Перекисное окисление липидов в мозге крыс при ишемии /М.Л.Куклей, С.Л.Стволинский, В.Х.Шавратский, Ю.В. Шатрова //Нейрохимия. - 1995. - Т.12, №2. - С. 28-35.
- Справочник биохимика [Р.Досон, Д.Эллиот, У.Эллиот, К.Джонс]. - М.: Мир, 1991. - С. 466-467.
- Bailly M. Human tumor spontaneous methastasis in immunosuppressed newborn rats 1. Characterization of the bioassay /M.Bailly, S.Bertrand, J.F.Dore //Int. J. Cancer. - 1991. - Vol.49. - P. 457-466.
- Effects of rabeprazole, 20 mg, or esomeprazole, 20 mg, on 24-h intragastric pH and serum gastrin in healthy subjects /S.Warrington, K.Baisley, M.Boyce [et al.] //Aliment. Pharmacol. Ther. - 2002. - Vol.16, №7. - P.1301-7.
- Famotidine for the prevention of peptic ulcers and oesophagitis in patients taking low-dose aspirin (FAMOUS): a phase III, randomised, double-blind, placebo-controlled trial /A.S.Taha, C.McCloskey, R.Prasad [et al.] //Lancet. - 2009. - Vol.374, №11. - P. 119-125.
- Hewson E.G.,Yeomans N.D. Effect of weekend therapy with omeprazole on basal and stimulation acid secretion and fasting plasma gastrin in duodenal ulcer patients //Gut - 1988. - 29, №12. - P.1715-1720.
- Huang J.Q. Role of Helicobacter pylori infection and non-steroidal anti-inflammatory drugs in peptic-ulcer disease: a meta-analysis /J.Q.Huang, S.Sridhar, R.H.Hunt //Lancet. - 2002. - №5, Vol.359(9300). - P. 14-22.
- Kiilerich S. Effect of intravenous infusion of omeprazole and ranitidine on twenty-four-hour intragastric pH in patients with a history of duodenal ulcer /S.Kiilerich, T.Rannem, L.Elsborg //Digestion. -

1995. - 56, №1. - P. 25-30.
- Langhans N. Abnormal gastric histology and decreased acid production in cholecystokinin-B/gastrin receptor-deficient mice /N.Langhans // Gastroenterology. - 1997. - Vol.112. - P. 280-286.
- Liu Guo-Shi. Experimentyal study on mechanism and protection of stress ulcer produced by explosive noise /Liu Guo-Shi, Huang Yu-Xin [et al.] //W. J. G. - 1998. - Vol.4, №6. - P. 519-523.
- Omeprazole treatment of Korean patients: effects on gastric pH and gastrin release in relation to CYP2C19 geno- and phenotypes /H.K.Roh, P.S.Kim, D.H.Lee [et al.] //Basic Clin Pharmacol Toxicol. - 2004. - Vol.95(3). - P. 112-9.
- Renga M. Rectal cell proliferation and colon cancer risk in patients with hypergastrinemia /M.Renga, G.Brandi, G.M.Paganelli [et al.] //Gut. - 1997. - Vol41. - P.330-332.
- Synergistic inhibitory effects of gastrin and histamine receptor antagonists on Helicobacter-induced gastric cancer / S.Takaishi, G.Cui, D.M.Frederick [et al.] //Gastroenterology. - 2005. - Vol.128, №7. - P.1965-1983.
- Wolfe M.M. Acid suppression: optimizing for gastroduodenal ulcer healing, gastroesophageal reflux disease, and stress-related erosive syndrome / M.M.Wolfe, G.Sachs // Gastroenterology. - 2000. - Vol.118. - S9-S31.

Евтушенко Н.В., Илика В.Г., Говоруха Т.М., Бабан В.М., Весельский С.П.

ОСОБЕННОСТИ СОЧЕТАЕМОГО ДЕЙСТВИЯ ОМЕПРАЗОЛА И ФАМОТИДИНА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА КРЫС ПРИ ИММУНОДЕПРЕССИИ

Резюме. Показано, что через 21 день сочетаемого действия омепразола с фамотицином увеличивается в два раза значение pH желудочного сока животных, а также отмечается изменение в составе белков последнего. Дополнительное воздействие антитимоцитной сыворотки (иммунодепрессия) и этанола усугубляли эффект использованных препаратов, о чем свидетельствует дальнейшее поражение слизистой оболочки желудка и наличие низкомолекулярных белковых фракций в желудочном соке животных.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, омепразол, фамотидин, ССК-2/гастриновый рецептор, гистаминовый рецептор.

Yevtushenko N. V., Ilika V. G., Govorukha T. N., Baban V. N., Veselskiy S. P.

THE PECULIARITIES OF COMBINED ACTION OF OMEPRAZOLE AND FAMOTIDINE ON THE PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES OF RAT GASTRIC JUICE AT THE IMMUNODEPRESSION

Summary. It has been shown that after 21 days, the combined action of omeprazole and famotidine increases twice the value of pH gastric juice of animals, as well as indicates a change in the composition of proteins of the latter. Additional influence of antitymocyte serum (immunodepression) and ethanol aggravated the effect of the used preparations, to what the further defeat of gastric mucosa and presence of low-molecular protein factions testifies in gastric juice.

Key words: SSK-2/gastrine receptors, H2-histamine receptors, M1-choline receptors, phamotyidine, omeprazole.

Стаття надійшла до редакції 30.11.2012 р.

© Кириченко Ю.В.

УДК: 616.12-008.3-073.96:796/799

Кириченко Ю.В.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра фізичного виховання та лікувальної фізичної культури (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

ЗВ'ЯЗКИ АМПЛІТУДНИХ ЕЛЕКТРОКАРДІОГРАФІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ З СОМАТОМЕТРИЧНИМИ ПАРАМЕТРАМИ У СПОРТСМЕНОК І ДІВЧАТ, ЯКІ НЕ ЗАЙМАЮТЬСЯ СПОРТОМ

Резюме. У статті висвітлені особливості кореляцій між ЕКГ показниками та антропометричними розмірами, компонентами соматотипу і маси тіла, показниками кистьової та станової динамометрії у спортсменок юнацького віку високого рівня спортивної майстерності та дівчат, які не займаються спортом.

Ключові слова: кореляції, ЕКГ, антропометрія, соматотип, компоненти маси тіла, спортсмени, дівчата, юнацький вік.

Вступ

У структурі захворювань хвороби серцево-судинної системи займають одне із провідних місць і значною мірою визначають рівень тимчасової та постійної втрати працездатності і смертності населення [Белоцерковский, 2005]. За розповсюдженістю, важкістю ускладнень, збитками, завданими суспільству, захворювання серцево-судинної системи є однією з головних медико-соціальних проблем сучасного суспільства. А вирішити дану проблему можливо при застосуванні різних програм кардіологічних обстежень, що спрямовані на виявлення основних серцево-судинних захворювань і факторів, які їх викликають, з метою масо-

вої профілактики виникнення та розвитку цих захворювань [Горбась, 2008]. Однак відомо, що фактори, які викликають розвиток захворювання, на кожну людину діють виключно індивідуально, і необхідні певні критерії, для того щоб ефективно використовувати первинну профілактику і оцінювати її результати. Такими критеріями може бути індивідуальна антропосоматотипологічна характеристика організму. При вивченні кардіометричних показників встановлено, що багато з них виявляють певний зв'язок з конституційними параметрами [Евтушенко, 2010; Маевский, 2011]. За даними ряду авторів [Владимирова, 2004; Hense et