

АКТУАЛЬНІ ПРОБЛЕМИ СУЧАСНОЇ МЕДИЦИНИ:

Том 16, випуск 4(56) частина 3, 2016

ВІСНИК Української медичної стоматологічної академії

ISSN 2226-306X (print) / ISSN 2226-3078 (online)
Виходить 4 рази на рік

Заснований в 2001 році

Зміст

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА БІОЛОГІЯ

Kashperuk-Karpiuk I.S., Oliinyk I.Yu., Tsyhykalo O.V.5 MORPHOMETRIC CHARACTERISTICS OF THE URETHRA AND VESICourethRAL SEGMENT IN THE PERINATAL PERIOD OF ONTOGENESIS	5
Акимов О.Е., Мищенко А.В., Костенко В.А.8 ВЛИЯНИЕ СУСПЕНЗИИ НАНОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА НА ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ЦИКЛА ОКСИДА АЗОТА В СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКЕ ЖЕЛУДКА КРЫС ПРИ СОЧЕТАННОЙ НИТРАТНОЙ И ФТОРИДНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ	8
Біда О.В.12 ХАРАКТЕР ПАТОМОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН АЛЬВЕОЛЯРНОЇ КІСТКИ НА ФОНІ АТЕРОСКЛЕРОТИЧНИХ ПОРУШЕНЬ СУДИННОГО РУСЛА	12
Ваверіневич О.П., Антоненко А.М., Омельчук С.Т., Карюченко Р.М.18 ПРОГНОЗУВАННЯ НЕБЕЗПЕЧНОГО ВПЛИВУ НАЙБІЛЬШ ПОШИРЕНИХ КЛАСІВ ІНСЕКТИЦИДІВ НА ОРГАНІЗМ ЛЮДИНИ ПРИ ВИКОРИСТАННІ ҐРУНТОВИХ ТА ПОВЕРХНЕВИХ ВОД ДЛЯ ПИТНИХ ПОТРЕБ	18
Гаврелюк С.В.23 ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОЙ СИМПАТИКОТОНИИ НА РАЗВИТИЕ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	23
Гладких Ф. В., Степанюк Н. Г., Вернигородський С. В.30 ДОСЛІДЖЕННЯ АПОПТОЗМОДУЛЮЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВІНБОРОНУ ПРИ ІБУПРОФЕН-ІНДУКОВАНІЙ ГАСТРОПАТІЇ У ЩУРІВ З АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ	30
Гнатюк В.В., Кононенко Н.М.35 ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ТЕСТОСТЕРОНУ У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ТА ВІКУ НА ТЛІ ДЕСИНХРОНОЗУ ТА ВИРАЗКОВОГО УРАЖЕННЯ ШЛУНКУ	35
Дев'яткіна Н. М.39 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НОВОГО КОМБІНОВАНОГО ГЕЛЮ В УМОВАХ ЗИМОЗАНОВОГО НАБРЯКУ	39
Джалілова Е. А.42 МІКРОСТРУКТУРНА ПЕРЕБУДОВА ЛАНОК ГЕМОМІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА МІОКАРДА ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ	42
Исмайлов И.Ю.46 РОЛЬ ВЕЩЕСТВА ДИСБА-01 ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ГРЫЖ	46
Kant Sh., Davydova N.V.51 INFLUENCE OF LOW ETHANOL CONCENTRATIONS ON ACTIVITY OF SALIVARY A-AMYLASE OF HEALTHY PERSONS FROM DIFFERENT ETHNIC GROUPS OF INDIA	51
Малко Н.В.53 ОЦІНКА ВПЛИВУ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНОГО КОМПЛЕКСУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН	53
Онул Н.М.57 ВМІСТ МІДІ В СИСТЕМІ «ҐРУНТ – АТМОСФЕРНЕ ПОВІТРЯ – ВОДА – ХАРЧОВІ ПРОДУКТИ» В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОГО МІСТА	57
Скляр Н.І., Сімонова-Пушкар Л.І., Саркіс-Іванова В.В., Гертман В.З.61 МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ ФОТОДИНАМІЧНОЇ ТЕРАПІЇ НА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МОДЕЛІ ІНФІКОВАНОЇ ПРОМЕНЕВОЇ ВИРАЗКИ ШКІРИ	61

УДК:615.03:611.72-002:615.217:615.276

Гладких Ф. В., Степанюк Н. Г., Вернигородський С. В.

ДОСЛІДЖЕННЯ АПОПТОЗМОДУЛЮЮЧИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ВІНБОРОНУ ПРИ ІБУПРОФЕН-ІНДУКОВАНІЙ ГАСТРОПАТІЇ У ЩУРІВ З АД'ЮВАНТНИМ АРТРИТОМ

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Нестероїдні протизапальні засоби належать до числа найуживаніших лікарських засобів. Їх успішно застосовують в лікуванні ревматичних захворювань (ревматизм, ревматоїдний, подагричний, псоріатичний артрити, анкілозуючий спондилоартрит та ін.), неревматичних захворювань опорно-рухового апарату (остеоартроз, міозит, тендовагініт, травматичні ушкодження та ін.), неврологічних захворювань (невралгія, радикуліт та ін.), ниркової та печінкової колік, больових синдромів різної етіології, у тому числі головного та зубного білю, лихоманкових станів, з метою профілактики артеріальних тромбозів та ін. Проте притаманні нестероїдним антифлогістикам клас-специфічні побічні ефекти, зокрема гастротоксичність, суттєво обмежують їх клінічне застосування. Мета дослідження – оцінити за даними імуногістохімічного та гістохімічного досліджень вплив ібупрофену (218 мг/кг, в/ш) та його комбінації з вінбороном (11 мг/кг, в/ш) на процеси апоптозу та синтезу глікопротеїнів в слизовій оболонці шлунка у щурів з ад'ювантним артритом. Для вивчення апоптозу епітеліоцитів СО в якості маркера була вибрана каспаза-3, як ефекторна в каскаді каспаз, задіяних в апоптозі. Її активація означає незворотнє прямування клітини шляхом програмованої загибелі. Експресія каспази-3 здебільшого спостерігалась в покровно-ямковому епітелії, прилеглому до гострих ерозій та виразок. В групі щурів, які отримували ібупрофен, кількість позитивно забарвлених клітин становила понад 60% та була вірогідно вища в порівнянні з групою піддослідних тварин, що отримували ібупрофен в комбінації з вінбороном ($p < 0,05$). В інтактній групі та при комбінованому застосуванні ібупрофену та вінборону вона коливалася від 10 до 30%. Порівняльний аналіз наявності каспази-3 в ділянках слизової оболонки шлунка, які оточували ерозії та виразки, спричинені застосуванням ібупрофену, свідчить про більшу афінність її маркера до шийкових мукоцитів, ніж до інших різновидів епітелію слизової шлунка. Висновки: аналіз результатів імуногістохімічного та гістохімічного дослідження свідчить про здатність ібупрофену індукувати апоптоз епітеліоцитів слизової оболонки шлунка шляхом активації каспази-3. Гастропротекторний ефект вінборону в умовах застосування ібупрофену обумовлений послабленням апоптозу епітеліоцитів слизової оболонки шлунка у щурів з ад'ювантним артритом.

Ключові слова: вінборон, ібупрофен, слизова оболонка шлунка, апоптоз

Серед численних лікарських препаратів, які сьогодні є в арсеналі клініцистів, нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) посідають особливе місце завдяки високим лікувальним властивостям та відносній безпечності. Найчастіше ці препарати застосовують пацієнти з хронічною патологією суглобів та хребта (ревматичні захворювання), при якій біль та запалення є основними клінічними проявами. За допомогою НПЗЗ ефективно лікують болі різного ґенезу (невралгії, міалгії, головний та зубний біль та ін.), їх успішно використовують для профілактики тромбоутворення при ішемічній хворобі серця, тромбофлебітах та інших захворюваннях, які можуть ускладнюватись тромбозами та емболіями [3,7].

Однією з найважливіших проблем, пов'язаних із застосуванням НПЗЗ, виступає їх пошкоджуюча дія на шлунково-кишковий тракт (ШКТ), яка здатна призводити до важких ускладнень. У 1986 р. американський вчений-ревматолог Sanford Roth запропонував для позначення ерозивно-виразкових пошкоджень гостродуоденальної зони (ГДЗ), обумовлених застосуванням нестероїдних антифлогістиків, термін «NSAID-gastropathy» (НПЗЗ-гастропатія). Ерозивно-виразкові пошкодження СОШ мають характерну клініко-ендоскопічну картину: множинний характер, малосимптомний перебіг і високий ризик маніфестації шлунково-кишковою кровоте-

чею; встановлений зв'язок з прийомом нестероїдних атифлогістиків, локалізація в антральному відділі (рідше – в тілі шлунка і дванадцятипалій кишці), відсутність запального валу навколо виразки, відносно швидке загоєння виразкового дефекту після відмови від застосування зазначених препаратів. Гістологічною ознакою гастропатії, індукованої НПЗЗ, є фовеолярна гіперплазія слизової оболонки [3,6,7,8,12].

Згідно загальноприйнятої концепції, центральним ланцюгом патогенезу НПЗЗ-індукованих гастропатій є блокада ферменту циклооксигенази першого типу (ЦОГ-1), що призводить до зменшення локального синтезу структурних (фізіологічних) простагландинів (ПГ). Додатковими ушкоджуючими чинниками є підвищення проникності слизової оболонки шлунка (СОШ) для іонів водню і натрію на тлі прийому НПЗЗ і здатність останнього стимулювати апоптоз клітин епітелію, коагуляційні та мікроциркуляторні порушення в слизовій оболонці (СО) ШКТ, порушення активності NO-синтази, окисного фосфорилування у мітохондріях епітеліоцитів, прискорення клітинного апоптозу, вплив на моторику ШКТ та інші [3,6,8,12]. Все це призводить до значного зниження стійкості СО та потенціює її пошкодження під впливом кислотно-пептичного фактору. Однак в цілому ступінь змін агресивних факторів шлункового вмісту і захисних систем

СОШ при застосуванні НПЗЗ до кінця не з'ясовані. Подальшого вивчення потребують морфологічні критерії НПЗЗ-гастропатій. У зв'язку з цим уточнення механізмів НПЗЗ-індукованих гастропатій та пошук ефективних способів їх профілактики та лікування є актуальними [6,8].

Оптимізувати фармакотерапію гастропатій, як і посилити лікувальні властивості препаратів цієї групи, можна за допомогою лікарських засобів з політропними фармакологічними властивостями, серед яких найважливішими є протиішемічна, протизапальна та антиоксидантна. Такий підхід до зменшення частоти та ступеня тяжкості ерозивно-виразкових уражень ГДЗ цілком узгоджується з точкою зору інших дослідників про доцільність використання НПЗЗ в комплексі з H₂-гістаміноблокаторами, інгібіторами протонної помпи, інгібіторами 5'-ліпоксигенази, антагоністами лейкотрієнів, препаратами цинку, антиоксидантами, препаратами, що сприятливо впливають на систему NO та ін. [3,6,8].

З метою послаблення побічних ефектів НПЗЗ нашу увагу привернув новий вітчизняний спазмолітик вінборон (виробник – публічне акціонерне товариство "Науково-виробничий центр "Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод" (ПАТ НВЦ «БХФЗ»), м. Київ), якому притаманний цілий комплекс цінних фармакологічних властивостей: спазмолітична, протизапальна, знеболююча (місцева та центральна), протиішемічна, протиаритмічна, антигіпоксична, антиоксидантна, антиагрегантна, імуномодельюча, протимікробна, стимулюючий вплив на мікроциркуляцію та репаративні процеси. Захисна дія препарату на СО ГДЗ переконливо доведена при клінічному застосуванні у хворих на ревматоїдний артрит, які лікувались індометацином (Степанюк Н.Г., 2002) [6, 8]. В попередніх дослідженнях на моделі ібупрофен-індукованої гастропатії, яка призводила до гіперацидності шлункового соку і тим самим агресивно впливає на СОШ, нами було встановлено, що порівняно з монотерапією ібупрофеном кислотність шлункового соку у щурів з ад'ювантним артритом при комбінованому застосуванні ібупрофену в дозах 73 мг/кг і 218 мг/кг та вінборону (11 мг/кг) знизилась відповідно на 8,4% та 16,7% [9].

Мета дослідження

Оцінити за даними імуногістохімічного та гістохімічного досліджень вплив ібупрофену (218

мг/кг, в/ш) та його комбінації з вінбороном (11 мг/кг, в/ш) на процеси апоптозу та синтезу глікопротеїнів в СОШ у щурів з ад'ювантним артритом (АА).

Матеріали та методи дослідження

Для оцінки патоморфологічних змін в СОШ вивчали експериментальний матеріал, отриманий від 28 щурів, які були розділені на 4 групи: I – інтактні щури (n=7), II – щури зі змодельованим АА (n=7) без лікування (контроль), III – щури з АА (n=7), ліковані ібупрофеном (218 мг/кг, внутрішньошлунково (в/ш)), IV – щури з АА (n=7), ліковані ібупрофеном (218 мг/кг, в/ш) в комбінації з вінбороном (11 мг/кг, в/ш). Вінборон (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ), розчинений у воді *pro injectionibus* (ПАТ "Галичфарм", Україна), вводився за 60 хв. до введення ібупрофену двічі на добу.

Ібупрофен (ЗАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна) вводили внутрішньошлунково (в/ш) у вигляді суспензії на 3% крохмальному слизу двічі на добу (109 мг/кг на один прийом).

Різниця цільової концентрації речовин в крові ссавців, яка залежить від інтенсивності їх надходження та елімінації, обумовлює видові відмінності в дозах лікарських препаратів для досягнення еквівалентних ефектів. Тому, для екстраполяції середньотерапевтичних доз для людини на ізоєфективні дози для щурів нами здійснено перерахунок за методом Ю.Р. Риболовлева та співав. (1979 р.) із використанням константи видової витривалості (R), яка обчислюється окремо для кожного виду за формулою:

$R = \sqrt{Q \times V / Kc}$, де Q – основний обмін, ккал/кг × год; V – об'єм серцевої діяльності, л/кг × год; Kc = (маса мозку, г / маса тіла, кг) –

коефіцієнт церебрації [4]. Показник $\sqrt{Q \times V}$ характеризує витривалість організму до дії хімічної речовини, а коефіцієнт церебрації (Kc) дозволяє врахувати можливі зміни у функціонуванні регуляторних механізмів нервової системи в підтримці гомеостазу.

$$\text{Так для щурів } R = \sqrt{(4,8 \text{ ккал} / \text{кг} \cdot \text{год} \times 23,0 \text{ л} \cdot \text{кг} / \text{год}) / (1,68 \text{ г} / 0,2 \text{ кг})} = 3,62;$$

$$\text{для людини } R = \sqrt{(1,02 \text{ ккал} / \text{кг} \cdot \text{год} \times 6,4 \text{ л} \cdot \text{кг} / \text{год}) / (1400 \text{ г} / 70,0 \text{ кг})} = 0,57 [4].$$

Згідно методики, доза для щурів (D_2) вираховується згідно пропорції: $D_1/R_1=D_2/R_2$, де D_1 – доза для людини, *мг/кг маси тіла*; D_2 – доза для щура, *мг/кг маси тіла*; R_1 – константа видової витривалості для людини; R_2 – константа видової витривалості для щура. Відповідно D_2 (*мг/кг*) $= (D_1(\text{мг/кг}) \times R_2) / R_1 = D_1(\text{мг/кг}) \times 6,35$. Так, доза ібупрофену (ЗАТ "Фармацевтична фірма "Дарниця", Україна) для людини 2400 мг (0,8 г по 3 р/д), яка володіє достатньою протизапальною активністю і рекомендована для лікування РА [3], при перерахунку

$$((2400\text{мг} / 70\text{кг}) \times 3,62) / 0,57 = 218\text{мг} / \text{кг}$$

відповідає ізоефективній дозі для щурів 218 мг/кг. Доза вінборону (ЗАТ НВЦ "Борщагівський ХФЗ", Україна) для людини 120 мг (0,04 г по 3 р/д), яка рекомендована до застосування в лікуванні хворих на виразкову хворобу шлунка та дванадцятипалої кишки [6] відповідає дозі для щурів 11 мг/кг

$$((120\text{мг} / 70\text{кг}) \times 3,62) / 0,57 = 11\text{мг} / \text{кг}$$

АА моделювали шляхом субплантарного введення повного ад'юванту Фрейнда (Sigma, США; склад: 1 частина ланоліну, 2 частини вазелінової олії та вбита вакцина БЦЖ з розрахунку 5 мг/мл) в задню праву лапку з розрахунку 0,1 мл на щура («Доклінічні дослідження лікарських засобів» за ред. О. В. Стефанова, 2001). День введення ад'юванту вважали як «0» день експерименту. Лікування АА проводилось з 14 по 28 день шляхом внутрішньошлункового введення досліджуваних препаратів.

Екстирповані шлунки фіксували в 10,0% розчині нейтрального формаліну. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксиліном і еозином, використовували ШИК-реакцію (periodic acid Schiff (PAS)-reaction) з альціановим синім [1,5].

Імуногістохімічні дослідження виконували на парафінових зрізах з використанням стрептавідин-біотинового методу ("DAKO", Данія, LSAB2 Systems, HRP). Демаскування антигену проводили в цитратному буфері з рН 6,0. В якості первинних антитіл застосовували мишачі та кролячі моноклональні антитіла. Ядра клітин дофарбовували водним розчином гематоксиліну Майера (гематоксилін, хлоралгідрат, квасци та йодид калію) впродовж 15–60 сек [1,5].

В препаратах при 400-кратному збільшенні мікроскопа проводили оцінку експресії перинуклеарної або цитоплазматичної мітки CPP32 (caspase-3) у 5 випадково вибраних полях зору (≥ 500 клітин), використовуючи напівкількісну шкалу інтенсивності забарвлення: 0 (відсутня) – відсутність позитивної реакції в клітинах, 1 (слабка) – до 30% клітин, що відреагували позитивно, 2 (помірна) – 31–60%, 3 (сильна) – 60% і бі-

льше забарвлених клітин [10].

Експериментальні дослідження над лабораторними тваринами проводили в атестованій Головною організацією метрологічної служби Міністерства охорони здоров'я України лабораторії кафедри фармакології ВНМУ ім. М.І. Пирогова (свідоцтво про атестацію № 023/13 від 05.03.2013 р.) з урахуванням вимог належної лабораторної практики GLP (*Good Laboratory Practice*) і з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та в інших наукових цілях від 18 березня 1986 р., Директиви Європейського парламенту та Ради ЄС 2010/63/ЄС від 22 вересня 2010 р. про захист тварин, які використовуються для наукових цілей, наказу МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», та Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Імуногістохімічні та гістохімічні дослідження було виконано на базі Вінницького обласного бюро патологічної анатомії (м. Вінниця, Україна).

Мікроскопію та фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 при збільшенні у 40, 100, 200 і 400 разів. Отримували і обробляли знімки та проводили морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми «Quick PHOTO MICRO 2.3». Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (1 мм²). При виконанні морфометричних досліджень керувалися основними засадами, викладеними в керівництві Г.Г. Автандилова (2002) [1].

Результати дослідження та їх обговорення

Для вивчення апоптозу епітеліоцитів СОШ в якості маркера була вибрана каспаза-3 (CPP32, Novocastra), як ефекторна в каскаді каспаз, задіяних в апоптозі. Її активація означає незворотне прямування клітини шляхом програмованої загибелі [2].

Експресію каспази-3 (CPP32) було виявлено переважно в покривно-ямковому епітелії, прилеглому до гострих ерозій та виразок. В групі монотерапії ібупрофеном кількість позитивно забарвлених клітин складала більше 60% (рис. 1) та була вірогідно вища в порівнянні з групою піддослідних тварин, що отримували ібупрофен в комбінації з вінбороном ($p < 0,05$). В інтактній групі та при комбінованому застосуванні ібупрофену та вінборону експресія CPP32 коливалася від 10 до 30% (рис. 2).

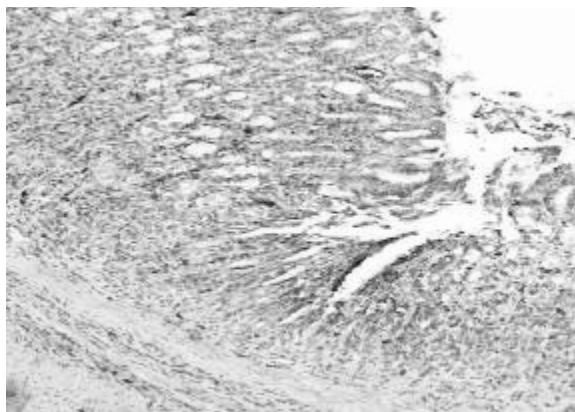


Рис. 1. Гостра виразка СОШ. Сильна експресія каспази-3 (СРР32) переважно в базальних відділах СОШ. Ібупрофен, 14 доба. Імуногістохімічне забарвлення СРР32 x 200.

Порівняльний аналіз наявності каспази-3 в ділянках СО, що оточувала ерозії та виразки, які виникали на тлі застосування ібупрофену, свід-

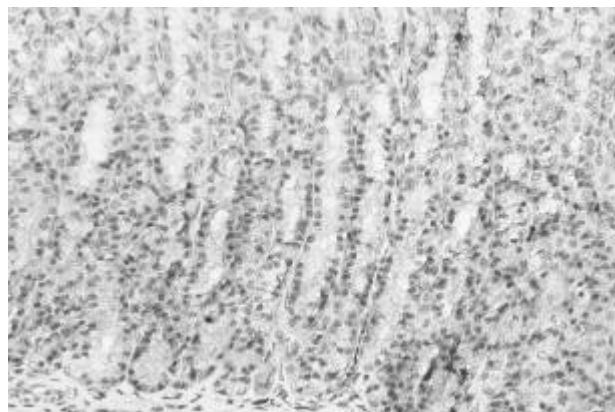


Рис. 2. Слабка експресія СРР32 в перинуклеарних відділах екзокриноцитів головних залоз. Ібупрофен+вінборон, 14 доба. Імуногістохімічне забарвлення СРР32 x 200.

чить про більшу афінність її маркера (СРР32) до шийкових мукоцитів, ніж до інших різновидів епітелію СОШ (табл. 1).

Таблиця 1.
Експресія рецепторів каспази-3 (СРР32) в епітеліоцитах СОШ

№ групи	Умови досліджу	Типи клітин слизової оболонки шлунка				
		ПЯЕ	ШМ	ГЕ	ПЕ	ПлЕ
I	Інтактні щури	-	-	-	-	+/-
II	Контроль (АА без лікування)	-	+/-	-	-	-
III	АА +Ібупрофен (218 мг/кг, в/ш)	++	+++	+/-	+/-	++
IV	АА +Ібупрофен (218 мг/кг, в/ш) +Вінборон (11 мг/кг, в/ш)	-	+/-	-	-	-

Примітки: ПЯЕ – поверхневі епітеліоцити ямок та валиків, ШМ – шийкові мукоцити, ГЕ – головні екзокриноцити, ПЕ – паріетальні екзокриноцити, ПлЕ – пілоричні екзокриноцити; експресія слабка – «+», помірна – «++», виражена – «+++», відсутня – «-».

Результати імуногістохімічного дослідження підтверджувались даними гістохімічного дослідження, які показали, що при застосуванні ібупрофену суттєво знижується синтез нейтральних глікопротеїнів та підвищується синтез кислих глікопротеїнів. В клітинах відмічалось зменшення кількості секрету, внаслідок чого ядра переміщувалися до апікального полюсу, а клітини сплющувались. В окремих з них цитоплазма над ядром визначалася у вигляді дуже тонкого шару. Таке сплющення головних клітин і, відповідно, розширення просвіту залоз, ймовірно, пов'язано не тільки зі змінами утворення секрету, але й з апоптозом тих головних клітин, що не здатні до реактивної перебудови [14].

Одним з ключових моментів в патогенезі контактної дії НПЗЗ може бути блокування ферментних систем мітохондрій епітеліоцитів, що викликає порушення процесів окисного фосфорилування та призводить до розвитку каскаду некробіотичних процесів в клітинах. Пригнічення синтезу ПГ внаслідок інгібування ЦОГ-1 призводить до зменшення секреції слизового гелю та зниження секреції бікарбонатів, погіршення кровотоку СОШ, в результаті чого відбувається порушення захисних і репараційних властивостей її клітин, що в свою чергу призводить до утворення ерозій і виразок. Ймовірно, ПГ є пусковим механізмом порушення трофіки СОШ, який веде до індуративних змін і клітинної деструкції з утворенням ерозій. [2,8,11].

Крім того, препарати цієї групи у кислому шлунковому середовищі мають здатність безпосередньо проникати в клітини СО, порушуючи слизово-бікарбонатний бар'єр і зумовлюючи зворотну дифузію іонів водню, пошкоджуючи таким чином клітини покривного епітелію. В результаті токсичної дії НПЗЗ утворюються продукти вільнорадикального окислення ліпідів, що беруть участь в ураженні СОШ та руйнуванні мукополісахаридів. Доведено, що деякі НПЗЗ безпосередньо можуть інгібувати синтез муцину і секрецію бікарбонатів, а хімічний зв'язок цих речовин з фосфоліпідами шлункового слизу знижує її гідрофобність. В той же час НПЗЗ здатні впливати на проліферацію епітеліоцитів, знижуючи тим самим захисні властивості епітелію та здатність до адекватної репарації [13].

Індукція процесів апоптозу – один з головних механізмів порушення тканинного гомеостазу при НПЗЗ-гастропатіях [10,11]. При цьому має місце підвищення експресії білків-активаторів апоптозу (Bax і Bak) і пригнічення білків-супресорів апоптозу (Bcl-2 і BclxL). Молекулярні механізми НПЗЗ-індукованого апоптозу припускають два основні шляхи: мітохондріальний (внутрішній) і рецепторний (зовнішній). При мітохондріальному шляху зміна проникності цитоплазматичної мембрани і подальше підвищення концентрації внутрішньоклітинного Ca²⁺ активізує апоптоз-індуковані транскрипційні фактори, які ініціюють експресію p53 (білка-стимулятора апоптозу), транслокацію і ак-

тивацію Вах, що веде до дисфункції мітохондрій [7,11,12], вивільненню цитохрому С з послідовною активацією каспаз-9 і каспаз-3 – безпосереднього індуктора апоптозу [12,13]. Зовнішній шлях ініційований при контакті Fas-ліганда апоптозу з відповідним рецептором та олігомеризацією останнього і активацією каспази-8, яка або активує каспазу-3, або знову через мітохондріальний шлях призводить до апоптозної загибелі [11,12].

Висновки

Аналіз результатів імуногістохімічного та гістохімічного досліджень свідчить про здатність ібупрофену індукувати апоптоз за рахунок активації каспази-3. Гастропротекторний ефект вінборону в умовах застосування ібупрофену обумовлений послабленням апоптозу епітеліоцитів слизової оболонки шлунка у щурів з ад'ювантним артритом.

Література

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии / Автандилов Г. Г. // М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. Аруин Л. И. Апоптоз при патологических процессах в органах пищеварения / Л. И. Аруин // Клиническая медицина. – 2000. – Т. 78, № 1. – С. 5–10.
3. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов. Клинические рекомендации / [А. Е. Каратеев, Н. Н. Яхно, Л. Б. Лазебник и др.] – Москва.: ИМА-ПРЕСС. – 2009. – 168 с.
4. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // Доклады АН СССР. – 1979. – Т. 247. – № 6. – С. 1513-1516.

5. Сапожников А. Г. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство. / А. Г. Сапожников, А. Е. Доросевич – Смоленск. : САУ, 2000. – 476 с.
6. Черноіван Н. Г. «Вінборон» – новий вітчизняний спазмолітик з гастропротекторною дією / Н. Г. Степанюк, В. М. Чернобровий, Г. І. Степанюк [та ін.] // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – № 3 (53). – С. 54-57.
7. Fornai M. Effects of esomeprazole on healing of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced gastric ulcers in the presence of a continued NSAID treatment: Characterization of molecular mechanisms / M. Fornai, R. Colucci, L. Antonioli // Pharmacol Res. – 2011. – Vol. 63, № 1. – P. 59-67.
8. Hladkykh F. V. New approaches to easing gastrointestinal lesions nonsteroidal anti-inflammatory drugs: achievements, unsolved issues and ways to optimize / F. V. Hladkykh, N. H. Stepaniuk // Zaporozhye Medical Journal. – 2014. – № 2. – P. 82-86.
9. Hladkykh F. V. The study of the gastric secretion in rats with adjuvant arthritis against the application of ibuprofen and its combination with vinboron / F. V. Hladkykh, N. H. Stepaniuk // Pharmacology and Drug Toxicology. – 2016. – № 3(49). – P. 34-40.
10. Cass M. Indefinite for non-invasive neoplasia lesions in gastric intestinal metaplasia: the immunophenotype / M. Cassaro, M. Rugge, C. Tieppo [et al.] // J. Clin. Pathol. – 2007. – Vol. 60. – P. 615-621.
11. Maity P. Indomethacin, a non-steroidal anti-inflammatory drug, develops gastropathy by inducing reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathology and associated apoptosis in gastric mucosa: a novel role of mitochondrial aconitase oxidation / P. Maity, S. Bindu, S. Dey [et al.] // J. Biol. Chem. – 2009. – Vol. 284, № 5. – P. 3058-3068.
12. Lichtenberger L. M. NSAID injury to the gastrointestinal track; evidence that NSAIDs interact with phospholipids to weaken hydrophobic surface barrier and induce formation of unstable pores in membranes / L. M. Lichtenberger [et al.] // J. Pharm. Pharmacol. – 2006. – Vol. 58. – P. 1421-1428.
13. Yu Ri Protective effect of Platycodin D in the acute gastric ulcer induced by ibuprofen in rats / Ri Yu [et al.] // J. Vet. Clin. – 2013. – № 30 (1). – P. 5-11.
14. Sinha K. Targeting oxidative stress and inflammation in NSAIDs induced gastropathy: a plausible therapeutic approach / K. Sinha, C. P. Sil // Inflammation & Cell Signaling. – 2015. – № 2. – P. 1-6.

Реферат

ИССЛЕДОВАНИЕ АПОПТОЗМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ВИНБОРОНА ПРИ ИБУПРОФЕН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГАСТРОПАТИИ У КРЫС С АДЪЮВАНТНЫМ АРТРИТОМ

Гладких Ф.В., Степанюк Н.Г., Вернигородский С.В.

Ключевые слова: вінборон, ібупрофен, слизиста оболочка желудка, апоптоз

Нестероидные противовоспалительные препараты относятся к числу наиболее употребляемых лекарственных средств. Их успешно применяют в лечении ревматических заболеваний (ревматизм, ревматоидный, подагрический, псориатический артрит, анкилозирующий спондилоартрит и др.), неревматических заболеваний опорно-двигательного аппарата (остеоартроз, миозит, тендовагинит, травматические повреждения и др.), неврологических заболеваний (невралгия, радикулит и др.), почечной и печеночной колики, болевых синдромов различной этиологии, в том числе головной и зубной боли, лихорадочных состояний, с целью профилактики артериальных тромбозов и др. Однако, присутствие нестероидным антифлогистикам класс-специфические побочные эффекты, в частности гастро-токсичность, существенно ограничивают их клиническое применение. Цель исследования – оценить по данным иммуногистохимического и гистохимического исследований влияние ибупрофена (218 мг / кг, в / ш) и его комбинации с вінбороном (11 мг / кг, в / ш) на процессы апоптоза и синтеза гликопротеинов в слизистой оболочке желудка у крыс с ад'ювантним артритом. Для изучения апоптоза эпителиоцитов слизистой оболочки в качестве маркера была выбрана каспаза-3, как эффекторная в каскаде каспаз, задействованных в апоптозе. Ее активация означает необратимое следование клетки путем запрограммированной гибели. Экспрессия каспазы-3 в основном наблюдалась в покровно-ямочном эпителии, прилегающем к острым эрозиям и язвам. В группе крыс, получавших ибупрофен, количество положительно окрашенных клеток составляла более 60% и была достоверно выше по сравнению с группой подопытных животных, получавших ибупрофен в комбинации с вінбороном (p<0,05). В интактной группе и при комбинированном применении ибупрофена и вінборона она колебалась от 10 до 30%. Сравнительный анализ наличия каспазы-3 в участках слизистой оболочки желудка, которые окружали эрозии и язвы, вызванные применением ибупрофена, свидетельствует о большей аффинности ее маркера к шеечным мукоцитам, чем в других разновидностях эпителиа слизистой желудка. Выводы: анализ результатов иммуногистохимического и гистохимического исследования свидетельствует о способности ибупрофена индуцировать апоптоз эпителиоцитов слизистой оболочки желудка путем активации каспазы-3. Гастропротекторный эффект вінборона в условиях применения ибупрофена обусловлен ослаблением апоптоза эпителиоцитов слизистой оболочки желудка у крыс с ад'ювантним артритом.

Summary

STUDY OF VINBORON APOPTOSIS-MODULATING PROPERTIES IN IBUPROFEN-INDUCED GASTROPATHY IN RATS WITH ADJUVANT ARTHRITIS

Hladkykh F.V., Stepaniuk N.H., Vernyhorodskiy S.V.

Key words: vinboron, ibuprofen, gastric mucosa, apoptosis

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs are one of the most commonly used drugs throughout the world. They are successfully used in the treatment of rheumatic diseases (rheumatic fever, rheumatic, gouty, psoriatic arthritis, ankylosing spondylitis, etc.), non-rheumatic diseases of the musculoskeletal system (osteoarthritis, myositis, tenosynovitis, traumatic injuries, etc.), neurological disorders (neuralgia, sciatica et al.), renal and hepatic colic, pain syndromes of different etiologies, including head and tooth pain, fever conditions, for the prevention of arterial thrombosis and others. However, the inherent class-specific side effects including gastrototoxicity considerably limit the clinical use of nonsteroidal anti-inflammatories (NSAID). The aim: to evaluate the influence of ibuprofen (218 mg/kg i.g.) and its combination with vinboron (11 mg/kg i.g.) on apoptosis and synthesis of glycoproteins in the gastric mucosa in rats with adjuvant arthritis based on findings of immunohistochemical and histochemical studies. To study apoptosis of epithelial cells of the mucous membrane we used caspase-3 as a marker because of its being an effector in the cascade involved in apoptosis. Its activation means fatal movement of a cell towards programmed death. The expression of caspase-3 was observed mostly in gastric superficial-foveolar epithelium surrounding the acute erosions and ulcers. In the group of rats treated with ibuprofen, the number of positively stained cells was 60% and was significantly higher compared with a group of experimental animals treated with ibuprofen in combination with vinboron ($p < 0.05$). It ranged from 10% to 30% in the intact group either by the combined use of ibuprofen and vinboron. Comparative analysis of the presence of caspase-3 in parts of the gastric mucosa surrounding the ulcer and erosion caused by the use of ibuprofen shows its greater affinity of its marker for cervical mucous cells than for other varieties of the stomach epithelium. Conclusions: analysis of immunohistochemical and histochemical studies suggests about ibuprofen ability to induce apoptosis of epithelial cells of the gastric mucosa by activation of caspase-3. Gastroprotective effect of vinboron under ibuprofen taking is determined by weakening of apoptosis of epithelial cells in the gastric mucosa in rats with adjuvant arthritis.

УДК 616-076:616.43-008.6:616.3-055.1

Гнатюк В.В., Кононенко Н.М.

ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ ТЕСТОСТЕРОНУ У ЩУРІВ РІЗНОЇ СТАТІ ТА ВІКУ НА ТЛІ ДЕСИНХРОНОЗУ ТА ВИРАЗКОВОГО УРАЖЕННЯ ШЛУНКУ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Враховуючи залежність захворюваності виразковою хворобою від віку та статі, а також високий рівень її розвитку саме у чоловіків, безпосередній інтерес має вивчення участі тестостерону у розвитку гастродуоденальної патології. Метою дослідження було вивчення рівня тестостерону у щурів різної статі та віку на тлі десинхронозу та виразкового ураження шлунку. Дослідження виконано на щурах різної статі віком 3, 9, 15 та 20 міс., що відповідає віку людини 14, 29-30, 43-44 та 55-56 років, методом імуноферментного аналізу. В ході проведеного експерименту було встановлено, що на тлі цілодобового освітлення (стан десинхронозу) та виразкового ураження шлунку відбувалося підвищення рівня тестостерону в усіх експериментальних групах. Достовірне підвищення тестостерону відносно контролю встановлено у щурів-самців в віці 3, 9 та 15 міс., у щурів-самок в віці 9 міс.. Проводячи аналіз між рівнями тестостерону у самців відносно самок встановлено, що у самців в віці 3, 9 та 15 міс. він вище за рівень самок з достовірною різницею між віковими групами 9 та 15 міс.

Ключові слова: тестостерон, десинхроноз, виразка шлунку, стать, вік.

Дослідження виконано в рамках НДР «Клітинні та молекулярні механізми розвитку і корекції патологічних станів» (№ держ. реєстр. 0115U000966).

Вступ

Виразкова хвороба шлунку та дванадцятипалої кишки – захворювання внутрішніх органів, що, за даними ВООЗ, зустрічається у 10% дорослого населення [9]. Ріст захворюваності на виразкову хворобу починається з 18-25 років та досягає максимуму в 35-40 років (62,6%) [4]. Особливу увагу привертає питання залежності розвитку хвороб шлунково-кишкового тракту,

особливо виразкової хвороби, від статі та віку [11,14,15]. Враховуючи високий рівень захворюваності на виразкову хворобу саме у чоловіків [4], безпосередній інтерес має вивчення участі статевих чоловічих гормонів, зокрема тестостерону, у розвитку гастродуоденальної патології. Є поодинокі роботи, де вивчалася залежність між рівнями тестостерону та розвитком виразкового ураження [2,13]. Іншим гормоном, участі якого в