

**Міністерство охорони здоров'я України  
Вінницький національний медичний університет  
ім. М.І.Пирогова**

**СКЛЯРОВ ПАВЛО ОЛЕКСАНДРОВИЧ**

**УДК 612.327.2:612.815.1**

**РОЛЬ ГАСТРИНУ В РЕГУЛЯЦІЇ ВИДІЛЕННЯ БІОЛОГІЧНО  
АКТИВНИХ РЕЧОВИН У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ ТОВСТОЇ КИШКИ**

**14.03.03 – нормальна фізіологія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата медичних наук**

**Вінниця – 2011**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті імені Данила Галицького МОЗ України.

**Науковий керівник:** доктор медичних наук, професор **Кімакович Віктор Йосипович**, Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, завідувач кафедри ендоскопії та малоінвазивної хірургії.

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор кафедри нормальної фізіології Буковинської медичної академії **Ходоровський Георгій Іванович** (м. Чернівці);

доктор медичних наук, професор **Непорада Каріне Степанівна**, Вищий державний навчальний заклад України “Українська медична стоматологічна академія”, завідувача кафедри медичної, біоорганічної та біологічної хімії (м. Полтава).

Захист відбудеться “30” листопада 2011 р. о 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.600.02 у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І.Пирогова за адресою: м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Вінницького національного медичного університету ім. М.І.Пирогова (м. Вінниця, вул. Пирогова, 56).

Автореферат розісланий “ ” жовтня 2011 р.

**Вчений секретар**  
**спеціалізованої вченої ради,**  
**к.мед.н., доцент**

**О.В. Власенко**

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Вивчення механізмів синтезу, виділення та дії місцевих тканинних біологічно активних речовин при дії гормонів є однією з ланок регуляції фізіологічних процесів в органах травної системи. При лікуванні гастро-езофагальної рефлюксної хвороби, виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, синдрому Золінгера-Елісона широко застосовують препарати (омепразол, лансопразол, рабепразол), що блокують активність  $H^+$ ,  $K^+$ -АТФази паріетальних клітин шлунка та викликають зростання рівня гастрину в плазмі крові (Hirschowitz B.I., Simmons J., Mohnen J., 2001; Piche T., Galmiche J.P., 2005; Гурленко Т.М. та співав., 2007).

Гастрин регулює не тільки фізіологічні процеси у шлунку, а також впливає на товсту кишку. Гіпергастринемія стимулює проліферацію епітеліоцитів товстої кишки та може призводити до канцерогенезу (Takhar A.S. et al., 2004; Cao J. et al., 2007; Ellrichmann M. et al., 2010).

У регуляції фізіологічних функцій товстої кишки суттєва роль належить системам - нітрогену оксид /NO-синтази (NOS) та простагландини E2/циклооксигенази (ЦОГ), які є ключовими для реалізації секреції, всмоктування, моторики, вони також беруть участь у процесах міжклітинної комунікації, цитопротекції, регуляції кровотоку, проліферації клітин (Brzozowski T., 2005, Sharma J., Al-Omran A., 2007, Takeuchi K., 2009). Гастрин є одним з чинників, що активує продукцію вмісту нітрогену оксиду та ПГЕ2 у слизовій оболонці товстої кишки (СОТК), які приймають участь у розвитку різних морфологічних та функціональних порушень товстої кишки (Yao M., Song D.H., Rana B., 2002; Huang H. et al., 2007).

Гастрин впливає на функціональний стан епітеліоцитів, у тому числі і процеси проліферації, за участю холецистокінінових рецепторів-2 (ССК-2) (Colucci R. et al., 2005; Ashurst H.L., 2008; Chao C, Hellmich MR., 2010). ССК-2 рецептори були виявлені у гіперпластичних поліпах, вони експересуються у поліморфоядерних клітинах, а також у клітинах карциноми товстої кишки (Schmitz J.-M. Otte et al., 2001; Copps J., 2009).

Вивчення впливу модуляторів активності NO-синтаз (L-аргініну та блокатора iNOS аміногуанідину), а також змін вмісту нітрогену оксиду на фоні гіпергастринемії у СОТК є важливим для оцінки перебігу фізіологічних процесів у товстій кишці.

На сьогоднішній день недостатньо вивченими залишаються механізми впливу гастрину на структуру, зміни рівня активності NO-синтаз, синтез та виділення нітрогену оксиду, ПГЕ2 та оксидативні процеси у СОТК. Потребує поглибленого вивчення роль ССК-2 рецепторів та циклооксигенази-2 при гіпергастринемії у товстій кишці.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Тема кандидатської дисертації затверджена на засіданні вченої ради факультету післядипломної освіти Львівського національного медичного університету

імені Данила Галицького МОЗ України 18 березня 2009 року, протокол № 29 та Проблемною комісією “Фізіологія людини” АМН та МОЗ України 26.05.2009 року, протокол № 4. Дисертаційна робота є фрагментом комплексної міжкафедральної теми Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького “Клініко-експериментальні обґрунтування моніторингу діагностики та лікування захворювань органів травної системи та гепатопатій”, № державної реєстрації 0100U002267.

**Мета роботи:** встановити роль гастрину в регуляції систем нітрогену оксид/NO-синтази та ПГЕ2/ЦОГ-2, процесів ліпопероксидації, активності ензимів антиоксидантного захисту в слизовій оболонці товстої кишки.

**Задачі дослідження:**

- Вивчити зміни вмісту гастрину в плазмі крові за умов блокування протонної помпи лансопразолом, ССК-2 рецепторів та активності ЦОГ-2;
- Дослідити морфологічні зміни епітеліоцитів СОТК за умов гіпергастринемії та при блокуванні ССК-2 рецепторів, активності ЦОГ-2, iNOS та введенні L-аргініну на тлі гіпергастринемії;
- Вивчити зміни активності NO-синтаз, вмісту нітрит-аніону та ПГЕ2 у СОТК та L-аргініну в плазмі крові за умов гіпергастринемії та блокуванні індукцибельної NO-синтази, активності ЦОГ-2, ССК-2 рецепторів та введенні L-аргініну на тлі гіпергастринемії;
- Вивчити процеси ліпопероксидації та активність ензимів системи антиоксидантного захисту за умов гіпергастринемії та при блокуванні ССК-2 рецепторів, активності ЦОГ-2, iNOS та введенні L-аргініну на тлі гіпергастринемії.

*Об’єкт досліджень* — механізми регуляції синтезу, виділення та дії біологічно активних речовин у слизовій оболонці товстої кишки та за умов впливу гастрину.

*Предмет досліджень* – роль гастрину у регуляції виділення оксиду азоту та простагландинів E2 у слизовій оболонці товстої кишки за умов окремого та поєданого блокування ЦОГ-2 та iNOS.

*Методи досліджень* – фізіологічні - моделювання стану гіпергастринемії, блокування ССК-2 рецепторів, циклооксигенази-2; біохімічні – визначення вмісту нітрогену оксиду, ПГЕ2, L-аргініну, рівня активності загальної NO-синтази, cNOS, iNOS, вмісту продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК), активності супероксиддисмутази (СОД), каталази; морфологічні – гістологічні та електронно-мікроскопічні; статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У результаті проведених комплексних досліджень отримані нові дані щодо ролі гастрину в регуляції систем нітрогену оксид /NO-синтази та ПГЕ2/циклооксигенази у СОТК в експерименті. Показано, що блокування  $H^+,K^+$ -АТФази лансопразолом призводить до різкого зростання концентрації гастрину в крові, що супроводжувалось структурними змінами та активацією процесів проліферації

у СОТК. Гіпергастринемія на ранніх етапах призводить до зростання вмісту нітрогену оксиду, за рахунок підвищення активності сNOS, зменшення вмісту продуктів ТБК та зростання активності ензимів антиоксидантного захисту – СОД та каталази в СОТК, концентрація L-аргініну у плазмі крові маоа напрям до зменшення.

Відзначена роль ССК-2 рецепторів у механізмі дії гастрину на СОТК, що пов'язано з зменшенням концентрації гастрину в крові, збереженням слизового бар'єру, відновленням структури епітеліоцитів, зниженням проліферативних процесів. Показано, що блокування ССК-2 рецепторів на фоні гіпергастринемії викликало зниження вмісту нітрогену оксиду та активність сNOS, активність іNOS при цьому суттєво не змінювалась, процеси ліпопероксидації зростали, активність СОД та каталази зменшувалась.

Вперше відзначена роль систем нітрогену оксид/NO-синтази та ПГЕ2/циклооксигенази у СОТК за умов одночасного блокування ССК-2 рецепторів та циклооксигенази-2.

Вперше вивчена роль NO-синтазної системи та показані зміни морфо-функціональних процесів у СОТК за умов введення L-аргініну та блокування іNOS при гіпергастринемії.

**Практичне значення отриманих результатів.** Вивчення ролі гастрину в регуляції виділення біологічно активних речовин у товстій кишці має як теоретичне, так і практичне значення. Результати досліджень впроваджені у навчальний процес кафедр нормальної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Дніпропетровської державної медичної академії, кафедри фізіології людини та тварин Київського національного університету імені Тараса Шевченка, Донецького національного медичного університету ім. М.Горького.

За результатами досліджень отриманий патент на спосіб гальмування проліферації епітеліоцитів товстої кишки за умов гіпергастринемії у експериментальних тварин (Патент на корисну модель N 46591).

Визначення рівня гастрину у крові при застосуванні блокаторів  $H^+$ ,  $K^+$ -АТФази може бути використано для ранньої діагностики поліпів та новоутворень товстої кишки.

Блокування ССК-2 рецепторів може бути одним з перспективних напрямків при лікуванні гіпергастринемій у гастроентерології.

**Особистий внесок здобувача.** Автором особисто виконано весь обсяг експериментальних досліджень на базі кафедри біологічної хімії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, проведено статистичне опрацювання одержаних результатів, самостійно підібрана та проаналізована наукова література за темою дисертації, підготовлені наукові праці до друку, оформлено дисертаційну роботу. Разом з к.б.н., ст.наук. співробітником ЦНДЛ Ковалишиним В.І. проведені морфологічні дослідження. Планування напрямків досліджень, обговорення їх результатів, формулювання висновків здійснено за участі наукового керівника.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертаційної роботи доповідалися та обговорювалися на міжнародній конференції, приуроченій до 60-ліття новоствореної кафедри фізіології людини і тварин Львівського університету імені І.Франка (Львів, 2006); IX Українському біохімічному з'їзді (Харків, 2006); науково-практичній конференції “Біологічне окиснення в нормі та патології” (Тернопіль, 2006); міжнародній конференції “Нейро-гуморальні та клітинні механізми регуляції процесів травлення” (Львів, 2007); міжнародній конференції RECOOP HST CONSORTIUM. Regional Cooperation for Health, Science and Technology (2007); Львівсько-Люблінських конференціях з експериментальної та клінічної біохімії (Люблін, 2006; Львів, 2008); 15-му Європейському Гастроентерологічному тижні (Париж, 2007); між кафедральною конференцією кафедри нормальної фізіології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (2010).

**Публікації.** За матеріалами роботи опубліковано 13 друкованих праць, з них 6 статей (4 – у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, 2 – у закордонних виданнях), 6 тез – у збірниках матеріалів вітчизняних і міжнародних наукових конференцій та з'їздів, один патент України.

**Структура та обсяг дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи викладені на 134 сторінках машинописного тексту (з низ залікового принтерного тексту 107 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, трьох розділів з викладом отриманих даних, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних літературних джерел, що містить 271 найменувань (з них 15 кирилицею, 156 – латинцею), додатку, ілюстровані 11 мікрофотографіями та 23 рисунками.

## **ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріал та методи досліджень.** Дослідження проведені на 230 білих щурах масою 180-230 г. Умови досліджень відповідали міжнародним етичним нормам роботи з лабораторними тваринами. Згідно завдань досліджень були проведені наступні серії дослідів: 1. Дослідження впливу блокатора  $H^+, K^+$ -АТФази лансопразола, блокатора ССК-2 гастринових рецепторів проглуміду та селективного блокатора ЦОГ-2 целекоксиба, введених протягом двох тижнів, на рівень гастрину у крові (n=28); 2. Дослідження морфологічних змін у слизовій оболонці товстої кишки за умов гіпергастринемії, блокування ССК-2 рецепторів, ЦОГ-2, iNOS та введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії у СОТК (n=52); 3. Дослідження змін процесів ліпопероксидації та активності ензимів антиоксидантного захисту (СОД, каталаза) за умов гіпергастринемії, блокування ССК-2 рецепторів, ЦОГ-2, iNOS та введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії у СОТК (n=48); 4. Визначення вмісту нітрогену оксиду, ПГЕ<sub>2</sub> у СОТК та L-аргініну в плазмі крові за умов гіпергастринемії, блокуванні ССК-2 рецепторів та активності ЦОГ-2 та тлі гіпергастринемії (n=50); 5. Визначення

активності NO-синтаз (загальної NOS, iNOS, cNOS) у СOTК за умов гіпергастринемії, блокуванні ССК-2 рецепторів, активності ЦОГ-2, iNOS та введенні L-аргініну на фоні гіпергастринемії (n=52).

Гіпергастринемію моделювали шляхом двотижневого внутрішньошлункового введення блокатора  $H^+$ ,  $K^+$ -АТФази – лансопризола (Україна) у дозі 30 мг/кг (Omura N., et al., 1997; Tsuji S., Sun W.H., 2002). Оцінку ролі ендогенних простагландинів у СOTК проводили на фоні гіпергастринемії шляхом блокування циклооксигенази – 2 целекоксибом (доза 10 мг/кг), який вводили протягом 14 днів (Hirata T., 1997; Pinheiro R.M., Calixto J.V., 2002); для визначення характеру впливу ендогенного гастрину на епітеліоцити товстої кишки застосовували блокатор ССК-2 рецепторів проглумід (Proglumide, “Sigma”) у дозі 250 мг/кг протягом 14 днів (Moutaery A.L. A., 2005). Для оцінки ролі NO-синтазної системи на фоні гіпергастринемії вводили прекурсор для NO-синтаз L-аргінін (300 мг/кг) (Mane J., 2001) або блокатор iNOS аміногуанідин (20 мг/кг) “Sigma” (Singh V., 2003; Aoi Y., 2008).

За умов поєднаної дії лансопризола з - проглумідом, целекоксибом, L-аргініном, аміногуанідіном, проглумідом та целекоксибом, речовини вводились перорально у вище вказаних дозах.

Дослідження проведені під уретановим знечуленням (1,1 мг/кг, Urethane “Sigma”). У тварин проводили розріз передньої стінки живота, діставали товсту кишку, промивали її фізіологічним розчином (t 37°C, pH 7,4), потім просушували фільтрувальним папером. Механічним шляхом відділяли слизову оболонку від ілео-цекального кута до початку прямої кишки.

У гомогенаті СOTК визначали: вміст продуктів тіобарбітурової кислоти (ТБК) за методом Тимирбулатова Р.А., Селезнева Е.И. (1981); активність ензимів антиоксидантного захисту - СОД за методом Чевари С. (1991) та каталази - за методом Королюк М.А. (1988). Стан системи NO-синтази / нітрогену оксид в СOTК оцінювали по визначенню вмісту стабільного метаболіту  $NO_2^-$  за методом Green L.C., 1982; Schmidt H.H.W. (1995), активності ензимів NO-синтазної системи - за методом Сумбаєва В.В., Ясинської І.М. (2000); визначення концентрації L-аргініну в сироватці крові за методом Алейникова Т.Л. (2000). Концентрацію гастрину в плазмі крові визначали радіоімунним методом за допомогою набору фірми MP Biomedicals, LLC (USA), вміст ендогенних простагландинів у гомогенаті СOTК проводили імуноферментним методом із застосуванням реактивів фірми R&D Systems (USA).

Морфологічні дослідження включали проведення гістологічного та електронно-мікроскопічного аналізу. При гістологічному дослідженні препарати СOTК забарвлювали гематоксилін-еозином. Мікрофотографії отримано за допомогою цифрової фотокамери Olympus C-5050 Zoom (Olympus Europe GmbH, Японія) та мікроскопа Olympus BX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія) при збільшеннях x 150-320.

При електронно-мікроскопічних дослідженнях, після декапітації тварин, ділянку товстої кишки поміщали у 2 %-ий розчин чотириокису осмію на 0,1 М

фосфатному буфері (рН 7,36). Вивчення і фотографування зрізів проводили за допомогою мікроскопу УЕМВ-100К. Для гістологічних та електронно-мікроскопічних досліджень брали ділянку посередині товстої кишки. При морфометричному аналізі обчислення показників (площа поперечного перерізу ядер епітеліоцитів, глибина кишкових крипт, ширина слизової оболонки) проводили за допомогою програми UTHSCSA ImageTool.

Статистичні розрахунки та побудову діаграм проводили за допомогою ЕОМ типу AMD Athlon з використанням програми Microsoft Excel, Statistica. Показники розглядали як статистично достовірні при значеннях  $t$ , яке відповідало 95% вірогідності або  $p < 0,05$ . Дані у рисунках та таблицях подані як середнє та його стандартна похибка ( $M \pm m$ ).

### Результати досліджень та їх обговорення

**Структурні зміни у слизовій оболонці товстої кишки за умов гіпергастринемії.** Блокування  $H^+, K^+$ -АТФази лансопразолом протягом двох тижнів призводило до різкого зростання концентрації гастрину в крові з  $103 \pm 7,4$  пг/мл (у контрольних тварин) до  $430 \pm 11,2$  пг/мл. При гістологічній оцінці структурної організації СОТК при гіпергастринемії відзначено зміни як одношарового циліндричного епітелію, стовпчастих поверхневих епітеліоцитів, так і структури епітеліоцитів крипт, бокаловидних клітин і гемокапілярів. При гіпергастринемії площа поперечного перерізу ядер епітеліоцитів СОТК зросла з  $1,76 \pm 0,06$  до  $2,01 \pm 0,15$  мкм<sup>2</sup>, глибина кишкових крипт підвищилась з  $54,4 \pm 1,21$  до  $62,4 \pm 4,42$  мкм, ширина слизової оболонки - з  $122,5 \pm 3,03$  до  $139,5 \pm 7,07$  мкм, що свідчить про активацію проліферативних процесів.

При електронно-мікроскопічних дослідженнях відзначались зміни апікальної поверхні мембрани епітеліоцитів - зменшувалась кількість мікроворсинок на 45% ( $p < 0,05$ ), спостерігались деформація ділянок апікальної мембрани (рис. 1- Б), у порівнянні з контрольними тваринами, що є одним з факторів який призводить до зміни секреції, реабсорбції іонів та транспорту води у СОТК.

На нашу думку, відзначені ультраструктурні зміни пов'язані з участю двох механізмів – з однієї сторони гастрин призводив до посилення синтезу слизу, а з другої - на мембранах келихоподібних клітин може також бути локалізована  $H^+, K^+$ -АТФаза, блокування якої лансопразолом призводить до сповільнення екструзії слизу і, у наслідок цього, різко зростає об'єм клітин. Келихоподібні клітини вміщували значну кількість гранул секрету, внаслідок чого клітина з подовженої форми (рис. 2-А) приймала форму кола (рис. 2-Б).

При блокуванні ССК-2 рецепторів проглумідом гістологічними дослідженнями виявлено: зменшення ступеня ушкодження поверхні СОТК, збереження слизового бар'єру, зменшення процесів десквамації клітин. Поверхня епітеліоцитів вкрита шаром слизу. Стовпчасти епітеліоцити були не

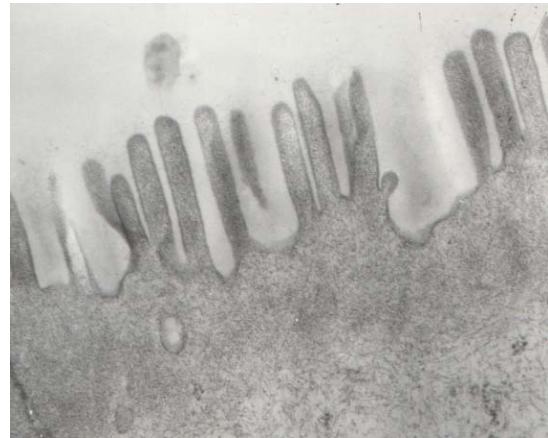


змінені. Набряку міжклітинного простору не спостерігається. Однак, при цьому звертає на себе увагу звуження дна крипт та зростання кількості келихоподібних клітин у дні крипти.

Блокування ССК-2 гастринових рецепторів проглумідом призводило до відновлення кількості та структури мікрворсинок на апікальній мембрані епітеліоцитів та структури та секреції келихоподібних клітин. Площа поперечного перерізу ядер епітеліоцитів суттєво не змінювалась, у порівнянні з гіпергастринемією –  $1,95 \pm 0,15 \text{ мкм}^2$ , однак, глибина кишкових крипт та ширина слизової оболонки зменшувались до  $35,88 \pm 3,39 \text{ мкм}$  та  $131,6 \pm 6,68 \text{ мкм}$ , відповідно. Це свідчить про зменшення проліферативної активності клітин. При двотижневому блокуванні ССК-2 рецепторів на фоні гіпергастринемії відзначалось зменшення концентрації гастрину в плазмі крові (на 32%) та проходили зміни структури компонентів СОТК. Отримані результати свідчать, що гастрин реалізує свій ефект за участю ССК-2 рецепторів.



А

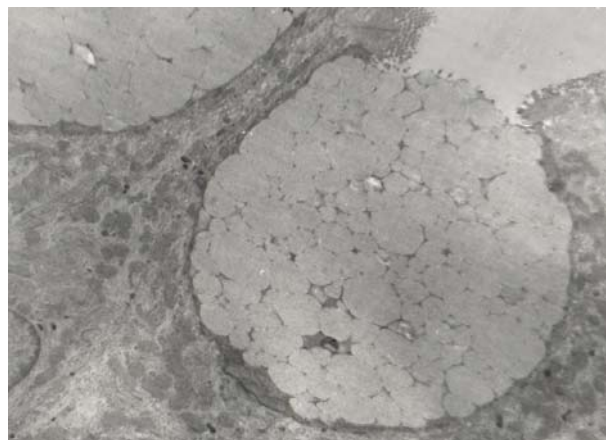


Б

Рис. 1. Ультраструктура апікальної поверхні епітеліоцитів товстої кишки білих щурів за умов норми (А) та гіпергастринемії (Б) (x 23000)



А



Б

Рис. 2. Ультраструктура келихоподібних клітини слизової оболонки товстої кишки білих щурів за умов норми (А) та гіпергастринемії (Б) (x 1500)

При блокуванні ЦОГ-2 на фоні гіпергастринемії спостерігалось зниження концентрації гастрину в плазмі крові до  $210,4 \pm 9,7$  пг/мл (на 51%,  $p < 0,05$ ) у порівнянні з показниками при дії лансопразолу. При цьому відзначалось звуження просвіту крипт та ділянки дна, у більшій мірі зберігалась цілістність келихоподібних клітин верхньої третини крипти. Слизовий бар'єр був дещо порушеним, що проявлялось у десквамації епітеліальних клітин та слизу. Морфометричний аналіз стану СОТК за умов блокування ЦОГ-2 на фоні гіпергастринемії свідчить, що глибина кишкових крипт та площа поперечного перерізу ядер епітеліоцитів суттєво не змінювались ( $63,9 \pm 6,3$  мкм та  $1,97 \pm 0,19$  мкм<sup>2</sup>, відповідно) у порівнянні з дією лансопразолу; ширина слизової оболонки дещо зростала до  $156,7 \pm 12,2$  мкм (при дії лансопразолу -  $139,5 \pm 7,07$  мкм). Кількість клітин у криптах зменшувалась на 15 % у порівнянні з гіпергастринемією.

Отримані результати свідчать, що вираженої дії блокатора ЦОГ-2 целекоксибу протягом двох тижнів на морфологічний стан епітеліоцитів товстої кишки на тлі гіпергастринемії не спостерігалось.

За умов поєднаного блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 на фоні гіпергастринемії можна відзначити, що слизовий бар'єр та поверхневі епітеліоцити не повертаються до вихідного стану – наявні мікроерозії, порушення цілісності поверхневих епітеліоцитів, набряк та розширення між криптами. За умов одночасного блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 на фоні гіпергастринемії глибина кишкових крипт суттєво не змінювалась –  $61,1 \pm 7,2$  мкм, у порівнянні з дією лансопразолу ( $62,4 \pm 4,42$  мкм); ширина слизової оболонки незначно зростала до  $148,8 \pm 9,53$  мкм; площа поперечного перерізу ядер епітеліоцитів –  $1,87 \pm 0,19$  мкм<sup>2</sup>.

За умов двотижневого введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії слизовий бар'єр був не порушений, келихоподібні клітини структуровані та знаходились на різних фазах синтезу та виділення секрету. Набряку СОТК не спостерігалось. Просвіт та дно крипт були дещо звужені. За умов введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії глибина кишкових крипт зменшувалась –  $50,3 \pm 7,22$  мкм, у порівнянні з дією лансопразолу; ширина слизової оболонки та площа поперечного перерізу ядер епітеліоцитів суттєво не змінювались ( $142,8 \pm 8,53$  мкм та  $1,87 \pm 0,19$  мкм<sup>2</sup>, відповідно). Отримані дані свідчать, що двотижнєве введення L-аргініну на тлі гіпергастринемії проявляло слабу моделюючу дію на проліферативні процеси у СОТК.

За умов блокування iNOS на фоні гіпергастринемії свідчить, що глибина кишкових крипт, ширина слизової оболонки та площа поперечного перерізу ядер епітеліоцитів суттєво не змінювались у порівнянні з дією лансопразолу. Це свідчить про те, що блокування iNOS аміногуанідином не викликало виражених змін структури СОТК за умов гіпергастринемії.

**Вміст нітрогену оксиду та активності NO-синтаз за умов гіпергастринемії, блокування ССК-2 рецепторів, ЦОГ-2, iNOS та введенні L-аргініну в слизовій оболонці товстої кишки.**

У інтактних тварин вміст нітрит-аніону становив  $16,5 \pm 1,58$  мкмоль/л, при цьому рівень активності загальної NO-синтази був  $0,698 \pm 0,148$  нмоль/хв·г, активності cNOS –  $0,494 \pm 0,109$  нмоль/хв·г, iNOS –  $0,205 \pm 0,08$  нмоль/хв·г. Тобто, за фізіологічних умов без функціонального навантаження на товсту кишку у вигляді наявності у ній харчових залишків або активації моторики, основна роль у синтезі нітрогену оксиду належить cNOS. Активність iNOS за вказаних умов є незначною або не визначається (Kankuri E, 2002; Склярів О.Я., Панасюк Н.Б., 2009; Harisa B., 2010). Концентрація L-аргініну у плазмі крові інтактних тварин коливалась у межах  $43,1 \pm 4,8$  мг/мл.

Гіпергастринемія протягом двох тижнів призводила до зростання вмісту нітрит-аніону в COTK (на 25%,  $p < 0,05$ ), при цьому відзначається зростання рівня активності загальної NOS (на 57%,  $p < 0,05$ ), активності cNOS (на 64%,  $p < 0,05$ ) та зменшенням концентрації L-аргініну (на 18 %) у плазмі крові. Співставляючи зміни активності NO-синтаз та вмісту нітрит-аніону у COTK за умов гіпергастринемії спостерігаємо односпрямовані зміни, які свідчать про те, що зростання нітрит-аніону обумовлено підвищенням активності cNOS. Зростання активності cNOS супроводжувалось тенденцією до зменшення концентрації L-аргініну в плазмі крові, що свідчить про тісний зв'язок між активністю NO-синтаз у COTK та концентрацією L-аргініну плазми крові. Фізіологічний механізм підвищення активності cNOS та зростання вмісту нітрит-аніону може бути обумовлений тим, що cNOS у плазматичній мембрані епітеліоцитів ко-локалізується з катіонним амінокислотним транспортним білком - 1 (CAT-1), який переносить L-аргінін. Зростання вмісту L-аргініну у цитоплазмі може спричиняти підвищення рівня активності cNOS (Wu G., Morris S.M., 1998).

Вміст ПГЕ2 у COTK за умов норми складав  $2,27 \pm 0,16$  пг/мг. Введення лансопразолу призводило до незначного підвищення вмісту ПГЕ2 -  $3,49 \pm 0,17$  пг/мг. Це свідчить про ймовірну активацію циклооксигеназ ендogenous гастрином, що може бути одним з факторів активації процесів проліферації епітеліоцитів та призводити до зміни процесів транспорту води та електролітів, секреції слизу.

За умов блокування ССК-2 рецепторів проглумідом на фоні гіпергастринемії відзначена тенденція до зниження вмісту нітрит-аніону на 12%. Активність загальної NO-синтази зменшилась на 27% ( $p < 0,05$ ), активність cNOS знизилась на 38%, активність iNOS у COTK та концентрація L-аргініну в плазмі крові суттєво не змінювались. Вміст ПГЕ2 у COTK зменшився до  $2,35 \pm 0,12$  пг/мг, у порівнянні з впливом лансопразолу. Очевидно, що блокування ССК-2 рецепторів зменшувало ефект дії гастрину на процеси синтезу ПГЕ2, що розкриває зв'язок між ССК-2 рецепторами та активністю циклооксигеназ.

Наведені результати свідчать про те, що за умов гіпергастринемії підвищення виділення нітрит-аніону в COTK проходить за участю ССК-2 рецепторів. Фізіологічний механізм зменшення рівня активності cNOS за умов

блокування ССК-2 рецепторів при гіпергастринемії очевидно пов'язаний з тим, що блокуючи ССК-2 рецептори гальмується активність транспортної системи САТ-1, внаслідок чого зменшується транспорт L-аргініну у клітину та знижується активність cNOS.

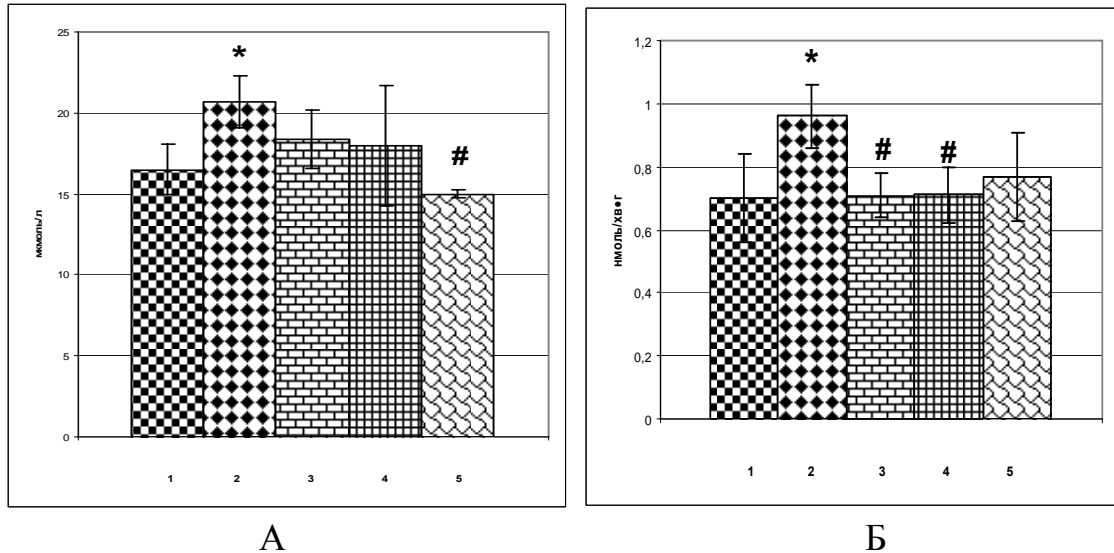


Рис. 3. Вміст нітрит-аніону (А) та активність загальної NO-синтази (Б) в СOTК за умов: 1-контролю; 2 - гіпергастринемії; 3 – блокування ССК-2 рецепторів на тлі гіпергастринемії; 4 - блокування ЦОГ-2 на фоні гіпергастринемії; 5 – поєднаного блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2

Примітка: \*P<0,05 порівняно з показниками контрольних тварин

# P<0,05 порівняно з показниками при гіпергастринемії

Блокування активності ЦОГ-2 на тлі гіпергастринемії спричиняло зменшення вмісту нітрит-аніону (на 13%) у СOTК, активність загальної NOS знижувалась на 26% , cNOS зменшувалась на 45% (p<0,05), а iNOS мала тенденцію до зростання. Підвищення активності iNOS можливо пов'язано з тим, що при гіпергастринемії відбувається активація 5-ліпооксигенази, продукти діяльності якої – лейкотрієни можуть активувати iNOS, окрім цього не можна не враховувати зміну транспорту води та електролітів при блокуванні  $H^+, K^+$ -АТФази та ЦОГ-2 та пряму дію целекоксибу на метаболічні процеси клітин СOTК (Kashfi K., Rigas B., 2005). Вміст ПГЕ2 у СOTК за умов блокування ЦОГ-2 при гіпергастринемії становив  $2,33 \pm 0,11$  пг/мг, що було нижче, ніж при дії лансопразолу. За фізіологічних умов у товстій кишці основну роль відіграють простагландини що синтезуються ЦОГ-1. Значне зростання експресії та активності ЦОГ-2 та синтезу ПГЕ2 відбувається при запаленні та канцерогенезі (Li G., Yang T., Yan J., 2002; Martin A.R., 2006; Fornai S., 2006). Підвищення виділення простагландинів при дії гастрину пов'язано з тим, що він за участю ССК-2 рецепторів може активувати ЦОГ-2 (Yao M., Song D.H., Rana B. et al., 2002).

Поєднане блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 призводило до зниження вмісту нітрит-аніону в СОТК до  $16,4 \pm 2,19$  мкмоль/л, що було менше, ніж при самостійній дії проглуміду або целекоксибу. Активність загальної NO-синтази становила  $0,765 \pm 0,104$  нмоль/хв·г, що суттєво не відрізнялось від показників дії целекоксибу та проглуміду на тлі гіпергастринемії. Тобто, сумарної дії на активність загальної NO-синтази блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 не відзначалось.

Активності сNOS та iNOS за умов одночасного блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 також значно не відрізнялись від їх самостійної дії на гіпергастринемії (рис. 4).

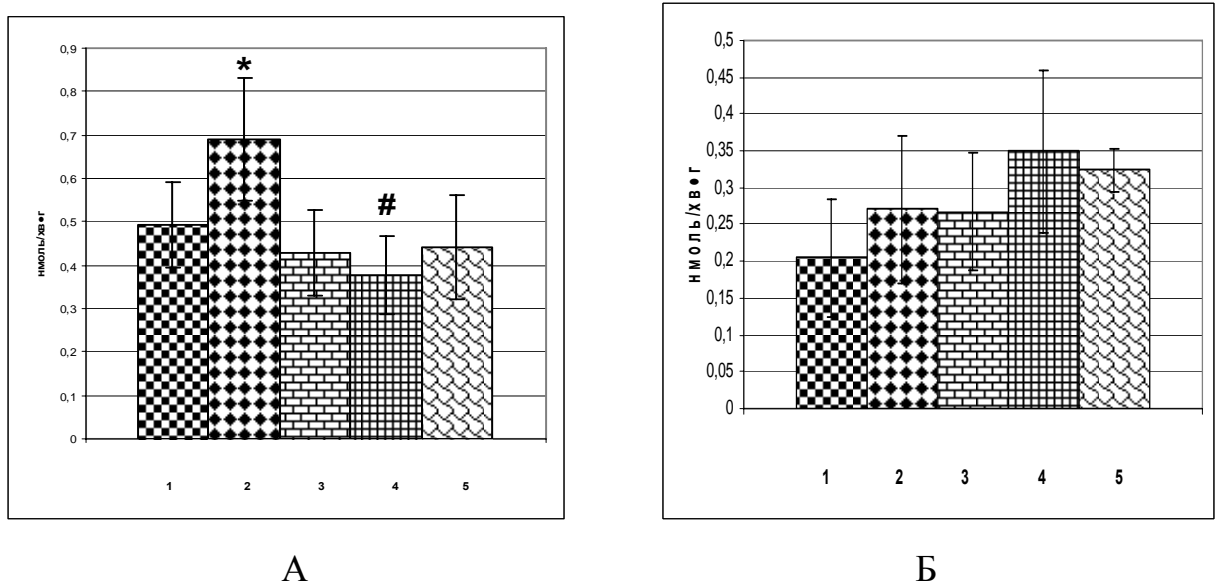


Рис. 4. Активність сNOS (А) та iNOS (Б) в СОТК за умов : 1-контролю; 2-гіпергастринемії; 3 – блокування ССК-2 рецепторів на фоні гіпергастринемії; 4-блокування ЦОГ-2 на фоні гіпергастринемії; 5 – поєднаного блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2

Отже, поєднане блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 за умов розвитку гіпергастринемії суттєво не змінювало вміст нітрит-аніону та активність NO-синтаз, у порівнянні показниками при самостійному блокуванні ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 при гіпергастринемії.

Двотижневе введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії не викликало виражених змін вмісту нітрит-аніону та активності NO-синтаз. При цьому активність загальної NO-синтази, активність сNOS та iNOS були на рівні показників при дії лансопразолу (табл. 1). Концентрація L-аргініну у плазмі крові була на 15% вищою, ніж при гіпергастринемії.

Те що активність NO-синтаз та вміст нітрит-аніону у СОТК при введенні L-аргініну на тлі гіпергастринемії виражено не змінювались, у порівнянні з показниками при гіпергастринемії, очевидно обумовлено зростанням рівня L-аргініну у крові та клітинах, який є субстратом для NO-синтаз. Так,

попередніми дослідженнями було показано, що підвищення позаклітинної концентрації L-аргініну призводило до посилення продукції нітрогену оксиду індуцибельною та ендотеліальною формами NO-синтаз ендотеліальними клітинами та активованими макрофагами (Wu G., Bazer F.W., 2009). Слід відзначити, L-аргінін метаболізує аргіназа з утворенням орнітину та сечової кислоти, які у свою чергу можуть впливати на синтез нітрогену оксиду та ПГЕ2.

Отже, двотижневе введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії виражено не змінює активність NO-синтаз та вміст нітрит-аніону у СОТК, концентрація L-аргініну у плазмі крові підвищувалась.

Таблиця 1

**Активність NO-синтаз, вміст нітрит-аніона у СОТК та концентрація L-аргініну в плазмі крові за умов введення L-аргініну та блокування iNOS на тлі гіпергастринемії**

Серії досліджень	Нітрит-аніон, мкмоль/л	Активність iNOS, нмоль/хв•г	Активність cNOS, нмоль/хв•г	Активність NOS, нмоль/хв•г	L-аргінін, мкг/мл
Контрольні тварини	16,5±1,58	0,205±0,08	0,49±0,126	0,698±0,16	43,1±4,8
Гіпергастринемія	20,7±1,63 *	0,271±0,08	0,62±0,237*	0,87±0,208*	35,4±2,1 *
Введення L-аргініну на тлі гіпергастринемії	19,8±1,26	0,275±0,07	0,661±0,2	0,995±0,2	40,9±5,09
Інгібування активності iNOS на тлі гіпергастринемії	19,5±0,6	0,261±0,03	0,498±0,06	0,743±0,04	37,4±8,2

\* -p <0,05 у порівнянні з показниками контрольної групи;

#- p <0,05 у порівнянні з показниками при гіпергастринемії; M±m, n=8-10.

Двотижневе блокування активності iNOS аміногуанідном на тлі гіпергастринемії не викликало достовірних змісту нітрит-аніону, відзначена тенденція до зменшення активності cNOS, активність iNOS суттєво не змінювалась у СОТК. Отримані результати свідчать про те, що протягом двох тижнів гіпергастринемії значної активації iNOS не відбувалось і дія на цьому фоні блокатора аміногуанідину не проявлялась.

Слід відзначити, що активність iNOS та синтез нітрогену оксиду різко зростають при дії бактеріальних ліпополісахаридів, мітогенних стимулів, прозапальних цитокінів (Pacher, 2007; Taskeuchi, 2007; Aoi, 2008).

**Зміни процесів ліпопероксидації та активності ензимів антиоксидантного захисту за умов гіпергастринемії, блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 у СОТК.** Гіпергастринемія на ранньому етапі (протягом перших двох тижнів) супроводжується зменшенням вмісту ТБК-активних продуктів (на 23%,  $p < 0,05$ ) та зростанням активності ензимів системи антиоксидантного захисту СОД (на 95%,  $p < 0,01$ ) та каталази (на 45%,  $p < 0,05$ ), у порівнянні з контрольними тваринами (табл. 2).

Таблиця 2

**Вміст ТБК-активних продуктів та активність ензимів антиоксидантного захисту за умов блокування ССК-2 рецепторів, індукційної NO-синтази, циклооксигенази-2 та введенні L-аргініну у СОТК**

Серії досліджень	Вміст ТБК-активних продуктів (мкмоль/г•тк)	Активність СОД (мкмоль НСТ/хв•мг білка)	Активність каталази (мкмоль $H_2O_2$ /хв•л)
Контроль	233±21,9	20,7±6,5	0,493±0,08
Гіпергастринемія	178±27,3*	40,4±8,7*	0,715±0,13*
Блокування ССК-2 рецепторів на тлі гіпергастринемії	229±24,9 <sup>#</sup>	35,5±8,8	0,467±0,15
Інгібування активності ЦОГ-2 на тлі гіпергастринемії	224±49,9 <sup>#</sup>	19,8±5,9 <sup>#</sup>	0,541±0,14
Інгібування активності iNOS на тлі гіпергастринемії	205±24,2 <sup>#</sup>	24,9±1,8 <sup>#</sup>	0,541±0,16
Введення L-аргініну на тлі гіпергастринемії	228±31,4 <sup>#</sup>	29,6±5,0	0,540±0,16
Одночасне блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 на тлі гіпергастринемії	194±19,6	32,1±6,9	0,405±0,14 <sup>#</sup>

\* - $p < 0,05$  у порівнянні з показниками контрольної групи;

<sup>#</sup>-  $p < 0,05$  у порівнянні з показниками при гіпергастринемії;  $M \pm m$ ,  $n=8-10$ .

Зменшення активності процесів ліпопероксидації за умов зростання проліферативних процесів може бути пов'язане з декількома факторами. Так, при неопластичних процесах у товстій кишці зниження інтенсивності ПОЛ може бути обумовлено тим, що малігнізовані клітини мають кращу протекцію проти вільних радикалів, ніж нормальні; з іншої сторони це може бути пов'язано з рівнем активності ензимів антиоксидантного захисту клітини (Tanaka K., Kawabata K., Kakumoto M., 1998). Активація ензимів системи антиоксидантного захисту - СОД та каталази може бути проявом

компенсаторної реакції при ранніх етапах дисфункції епітеліоцитів товстої кишки.

Блокування ССК-2 рецепторів на фоні гіпергастринемії призводило до зростання вмісту ТБК-активних продуктів майже до вихідних значень, активність ензимів антиоксидантного захисту мала динаміку до зменшення, у порівнянні з показниками при гіпергастринемії.

Блокування ЦОГ-2 целекоксибом на фоні гіпергастринемії призводить до зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 26% ( $p < 0,05$ ), у порівнянні з впливом лансопразолу, що незначно відрізнялось від показників інтактних тварин. Отримані результати свідчать про те, що гіпергастринемія викликала підвищення вмісту у СОТК простагландинів  $E_2$ , які синтезуються ЦОГ-2 та включаються у реалізацію ефектів гастрину. Блокування ЦОГ-2 на тлі гіпергастринемії призводило до відновлення рівня процесів ліпопероксидації ефекту гастрину у регуляції.

Одночасне блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 за умов гіпергастринемії свідчать про зменшення активності ПОЛ, у порівнянні з впливом лансопразолу, однак отримані показники були нижчими, ніж самостійне блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2. Це може свідчити про участь інших процесів, що активуються у СОТК при поєднаній дії целекоксибу та проглуміду. Активність ензимів антиоксидантного захисту при цьому, виявила домінування впливу блокади ЦОГ-2 і, відповідно ендогенних простагландинів, у регуляції активності СОД.

Двотижневе введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії призводило до зростання вмісту ТБК-активних продуктів у СОТК на 28% ( $p < 0,05$ ), активність СОД зменшилась на 27%, а каталази - 24%, у порівнянні з показниками при гіпергастринемії. Показано, що екзогенно введений L-аргінін проявляє антиоксидантну активність гальмуючи активність iNOS, зв'язуючи супероксидний та гідроксильний радикали і, таким чином, регулює редокс-статус у клітині та грає роль у захисті клітини від оксидативного ураження [Flynn N.E., 2002].

Блокування iNOS на тлі гіпергастринемії призводило до зростання вмісту ТБК-активних продуктів на 15% ( $p > 0,05$ ), активність СОД зменшувалась на 38 % ( $p > 0,05$ ), а активність каталази - на 24 % у СОТК, порівняно з показниками при гіпергастринемії. Враховуючи те, що при блокуванні iNOS на тлі гіпергастринемії активність NO-синтаз знижувалась незначно, то антиоксидантна дія аміногуанідину може бути пояснена його непрямою дією.

Отже, блокування ССК-2 рецепторів, активності ЦОГ-2, активності iNOS або введення L-аргініну на тлі гіпергастринемії нормалізує перебіг процесів ліпопероксидації та активність ензимів антиоксидантного захисту, що свідчить про участь різних біологічних речовин у реалізації ефекту гастрину на клітині СОТК. Відзначений виражений протективний ефект за умов блокування ССК-2 рецепторів при гіпергастринемії свідчить про домінуючу їх роль у реалізації



впливу гастрину, тоді як інгібування активності  $H^+,K^+$ -АТФази епітеліоцитів лансопразолом грає модулюючу роль у регуляції активності NO-синтаз.

## ВИСНОВКИ

1. Проведеними дослідженнями в експериментах на щурах виявлені ранні морфологічні зміни структур слизової оболонки товстої кишки, активності ензимів NO-синтазної системи, процесів ліпопероксидації, ензимів антиоксидантного захисту за умов гіпергастринемії та при блокуванні ССК-2 рецепторів, активності індукбельної NO-синтази, циклооксигенази-2 та введенні L-аргініну.

2. Інгібування активності  $H^+,K^+$ -АТФази лансопразолом викликало різке зростання концентрації гастрину в крові (у 3,2 рази), що супроводжувалось структурними змінами поверхневих епітеліоцитів, келихоподібних клітин, порушенням слизового бар'єру та активацією процесів проліферації у СОТК. За умов гіпергастринемії відзначалось зростання вмісту нітрит-аніону (на 25%,  $p<0,05$ ) за рахунок підвищення активності cNOS (на 64%,  $p<0,05$ ), зменшувався вміст ТБК-активних продуктів (на 25%,  $p<0,05$ ) та підвищувалась активність ензимів антиоксидантного захисту – СОД (на 66%) та каталази (на 26%) в СОТК, концентрація L-аргініну у плазмі крові незначно зменшувалась.

3. Блокування ССК-2 рецепторів на тлі гіпергастринемії призводило до зменшення концентрації гастрину в крові (на 32%,  $p<0,05$ ), збереження слизового бар'єру, відновлення структури поверхневих епітеліоцитів та келихоподібних клітин, зниження проліферативних процесів у порівнянні з показниками при гіпергастринемії. За цих умов зменшувався вміст нітрит-аніону та активність cNOS (на 38%,  $p<0,05$ ), активність iNOS – суттєво не змінювалась, вміст ТБК-активних продуктів зростав, активність СОД та каталази зменшувались.

4. Блокування ЦОГ-2 на фоні гіпергастринемії призводило до зменшення концентрації гастрину в плазмі крові (на 51%,  $p<0,05$ ). Вираженої дії целококсибу на морфологічний стан епітеліоцитів товстої кишки на тлі гіпергастринемії не спостерігалось. Зменшувався вміст нітрит-аніону (на 33%), рівень активності загальної NO-синтази (на 15%) та активності cNOS (на 40%), процеси ПОЛ та активність СОД та каталази, активність iNOS дещо зростала, вміст ПГЕ2 мав напрям до зниження.

5. Поєднане блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 призводило до зниження вмісту нітрогену оксиду в СОТК, що було менше, ніж при самотійному блокуванні ССК-2 рецепторів або ЦОГ-2. Сумаційної дії на активність загальної NO-синтази блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2 не відзначалось. Активність ензимів антиоксидантного захисту за умов гіпергастринемії та одночасного блокування ССК-2 рецепторів та ЦОГ-2, виявила домінування

впливу блокади ЦОГ-2 і, відповідно ендогенних простагландинів, у регуляції активності СОД.

6. За умов двотижневого введення L-аргініну на фоні гіпергастринемії зменшувались структурні зміни поверхневих епітеліоцитів, келихоподібних клітин, порушення слизового бар'єру та активація процесів проліферації у СОТК, при цьому виражено не змінювалась активність NO-синтаз та концентрація нітрит-аніону у СОТК, процеси ліпопероксидації зростали, активність СОД знижувалась у порівнянні з показниками при гіпергастринемії.

7. Двотижневе блокування іNOS на тлі гіпергастринемії запобігало морфологічним змінам слизового бар'єру, епітеліоцитів та крипт, призводило до тенденції зменшення активності загальної NOS, активності сNOS, вмісту нітрит-аніону, активність іNOS виражено не змінювалась, процеси ліпопероксидації незначно зростали, активність СОД знижувалась у порівнянні з показниками при гіпергастринемії.

### **СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Кімакович В.Й. Морфологічні зміни слизової оболонки товстої кишки при блокуванні  $H^+,K^+$ -АТФази лансопразолом та ССК-2 гастринових рецепторів / В.Й.Кімакович, П.О.Склярів, В.І. Ковалишин // Фізіол. журн. – 2009. – Т. 55. – N 5. - С. 42- 48. (Дисертант особисто виконав експериментальні дослідження, брав участь в аналізі та обговоренні одержаних даних).

2. Кімакович В.Й. Зміни вмісту нітрогену оксиду, активності NO-синтаз та процесів ліпопероксидації за умов блокування ССК-1/2 рецепторів та ЦОГ-2 у слизовій оболонці товстої кишки щурів при гіпергастринемії / В.Й.Кімакович, П.О. Склярів // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2009. - № 4. – С.12-17. (Дисертант особисто виконав експериментальні дослідження, брав участь в аналізі та обговоренні одержаних даних).

3. Kimakovich V.J. Early changes in the lipoperoxidation processes and structure components of the mucous membrane of large intestine in rats under the blockage of COX-2/ V.J.Kimakovich, P.O. Sklyarov // Annales universitatis Mariae Curie-Sklodowska. – 2008. – Vol. 21. – N. 1. - P. 183-185. (Дисертант особисто виконав експериментальні дослідження, брав участь в аналізі та обговоренні одержаних даних).

4. Кімакович В.Й. Роль гастрину у процесах канцерогенезу товстої кишки / В.Й.Кімакович, П.О. Склярів // Практична медицина. – 2007. – т. 13. - № 1. – С. 138-146. (Дисертант особисто виконав експериментальні дослідження, брав участь в аналізі та обговоренні одержаних даних).

5. Кімакович В.Й. Процеси ліпопероксидації та активність ензимів антиоксидантного захисту у слизових оболонках шлунка та товстої кишки за умов поєднаної дії лансопразола з проглумідом та німесулідом / В.Й.Кімакович, П.О. Склярів // Медична хімія. – 2006. – т. 8. - № 3. – С. 111-114. (Дисертант

особисто виконав експериментальні дослідження, брав участь в аналізі та обговоренні одержаних даних).

6. Sklyarov P. Changes in lipoperoxidation processes in the mucous membranes of stomach and large intestine under  $H^+,K^+$ -ATPase blockage with lansoprazole in rats / P.Sklyarov // *Annales universitatis Mariae Curie-Sklodowska*. – 2006. – Vol. 19. – N. 1. - P. 187-189.

7. Kimakovich V.J. Role of gastrin CCK2 receptors blockage in the mechanisms of gastrin action in large intestine / V.J.Kimakovich, P.O. Sklyarov // III international conference “Neuro – humoral and cellular regulatory mechanisms of digestion processes” (October 4 – 6, 2007, Lviv, Ukraine), Lviv, 2007, P. 30-31.

8. Sklyarov P.O. Ultrastructural changes of the mucous membrane of large intestine under blockage of  $H^+, K^+$ -ATPase / P.O.Sklyarov, V.I. Kovalyshyn // III international conference “Neuro – humoral and cellular regulatory mechanisms of digestion processes” (October 4 – 6, 2007, Lviv, Ukraine), Lviv, 2007, P. 45-46.

9. Kimakovich V.J. Ultrastructural and matabilic changes of mucous membrane of large intestine under blockage of  $H^+,K^+$ -ATPase and CCK-2 receptors / V.J.Kimakovich, P.O.Sklyarov // *Recoop HST Consortium. Bridges in Life Sciences Annual Scientific Review. Regional Cooperation for Health, Science and Technology*. – October 2007. – Vol 1. - № 1.- P. -24.

10. Sklyarov P.A. Early changes of lipoperoxidation processes in the large intestine under blockage of  $H^+,K^+$ -ATPase, CCK-2 receptors and COX-2 in rats / P.A.Sklyarov, V.J. Kimakovich // 15th United European Gastroenterology Week (27-31 October 2007), *Gut*. – 2007. - Vol 39.- Suppl. 1. – P. A314.

11. Кімакович В.Й. Особливості процесів ліпопероксидації у слизових оболонках шлунка та товстої кишки за умов тривалого блокування  $H^+,K^+$ -АТФази та ССК-2 рецепторів / В.Й.Кімакович, П.О.Скляр / Матер. Міжнародної наукової конференції, приуроченої до 60-ліття новоствореної кафедри фізіології людини і тварин Львівського університету імені І.Франка (8-11 листопада 2006 р), Львів, 2006. - С. 66-67.

12. Скляр П.О. Процеси ліпопероксидації у слизових оболонках шлунка у слизових оболонках шлунка та товстої кишки за умов блокування  $H^+, K^+$ -АТФази у щурів / П.О.Скляр, П.О.Кімакович / Матеріали ІХ Українського біохімічного з'їзду, (24-27 жовтня 2006 р., Харків), 2006, т. II, С. 110-111.

13. Патент на корисну модель N 46591 UA, МПК А61К 38/22 Спосіб гальмування проліферації епітеліоцитів товстої кишки за умов гіпергастринемії у експериментальних тварин / Кімакович В.Й. Скляр П.О., Фоменко І.С. (UA); патентовласник Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького. - № u200907742; заявл. 23.07.09; опубл. 25.12.09, Бюл. 24.

## АННОТАЦІЯ

**Склярів П.О. Роль гастрину в регуляції виділення біологічно активних речовин у слизовій оболонці товстої кишки. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.03 – нормальна фізіологія. Вінницький національний медичний університет ім. М.І.Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2011.

Робота посвячена вивченню ролі гастрину в регуляції систем нітрогену оксид/NO-синтази та простагландин E2/ЦОГ-2, процесів ліпопероксидації та ензимів антиоксидантного захисту та їх вплив на стан епітеліоцитів товстої кишки. Інгібування активності  $H^+,K^+$ -АТФази лансопрозолем призводило до різкого зростання концентрації гастрину в крові, що супроводжувалось структурними змінами поверхневих епітеліоцитів, келихоподібних клітин, порушенням слизового бар'єру та активацією процесів проліферації у СОТК. За умов гіпергастринемії відзначалось зростання вмісту нітрогену оксиду, за рахунок підвищення активності cNOS, незначно підвищувався вміст ПГЕ2, зменшувався вмісту продуктів ТБК та зростала активність ензимів антиоксидантного захисту – СОД та каталази в СОТК, концентрація L-аргініну у плазмі крові незначно зменшувалась. Блокування ССК-2 рецепторів при гіпергастринемії призводило до зменшення концентрації гастрину в крові, відновлення структури епітеліоцитів, зменшення проліферативних процесів. За цих умов відзначалось зниження вмісту нітрит-аніону та активності cNOS, вміст ПГЕ2 незначно зменшувався, процеси ПОЛ зростали, активність СОД та каталази зменшувались. Показані особливості зміни стану епітеліоцитів, NO-синтазної системи та процесів ліпопероксидації за умов блокування ЦОГ-2, iNOS та введення L-аргініну. Визначення гастрину у крові та блокування ССК-2 рецепторів при гіпергастринемії можуть використовуватись для діагностики лікування новоутворень товстої кишки.

*Ключові слова:* гастрин, товста кишка, ССК-2 гастринові рецептори, NO-синтазна система, простагландин E2/ЦОГ-2.

## АННОТАЦІЯ

**Склярів П.А. Роль гастрин в регуляції виділення біологічески активних веществ в слизистой оболочке толстой кишки. – Рукопись.**

Дисертація на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – нормальная физиология. Винницкий национальный медицинский университет им. М.И.Пирогова МЗУ Украины, Винница, 2011.

Робота посвячена изучению роли гастрин в регуляции систем нитроген оксид/NO-синтазы и простагландин E2/циклооксигенза-2, процессов липопероксидации и активности ензимов антиоксидантной защиты и его влиянию на состояние эпителиоцитов толстой кишки.

Исследования проведены на беспородных крысах (n=230) согласно международных этических требований по работе с лабораторными животными.

Гипергастринемию моделировали путем двухнедельного внутрижелудочного введения блокатора  $H^+,K^+$ -АТФазы – лансопризола (30 мг/кг). Оценку роли эндогенных простагландинов в СОТК на фоне гипергастринемии проводили путем блокирования циклооксигеназы–2 целекоксибом (10 мг/кг); блокирование ССК-2 рецепторов проводили проглумидом (250 мг/кг). Моделирование активности NO-синтаз на фоне гипергастринемии проводили путем введения L-аргинина (300 мг/кг) или селективного блокатора iNOS аминоксидина (20 мг/кг).

Ингибирование активности  $Na^+,K^+$ -АТФазы лансопризолом приводило к резкому повышению концентрации гастринина в крови, что сопровождалось структурными изменениями поверхностных эпителиоцитов, бокаловидных клеток, нарушениями слизистого барьера и активацией процессов пролиферации в СОТК. При гипергастринемии отмечено повышение активности cNOS и, соответственно, содержание нитрогена оксида, содержание ПГЕ2 имело динамику к повышению, снижалось содержание ТБК-активных продуктов и повышалась активность ферментов антиоксидантной защиты (СОД и каталазы) в СОТК, концентрация L-аргинина в плазме крови имела динамику к снижению. Блокирование ССК-2 рецепторов при гипергастринемии приводило к снижению концентрации гастринина в крови, восстановлению структуры эпителиоцитов, снижению пролиферативных процессов. При этих условиях снижалось содержание нитрит-аниона и активность cNOS, содержание ПГЕ2 изменялось незначительно, процессы ПОЛ повышались, а активность СОД та каталазы снижалась по сравнению с показателями при гипергастринемии. Показаны особенности морфологических изменений СОТК, NO-синтазной системы и процессов липопероксидации при блокировании активности ЦОГ-2, iNOS и введении L-аргинина.

Определение гастринина в крови, а также блокирование ССК-2 рецепторов при гипергастринемии могут быть использованы для ранней диагностики и лечения новообразований толстой кишки.

*Ключевые слова:* гастрин, толстая кишка, ССК-2 рецепторы, NO-синтазная система, простагландин E2, циклооксигеназа-2.

#### ANNOTATION

**Sklyarov P.O. The role of gastrin in the regulation of excretion of the biologic active substances in the large intestine mucosa. – Manuscript.**

The dissertation for the scientific degree of the candidate of medical sciences in the speciality 14.03.03 – Normal physiology. – National Memorial Pirogov Medical University, Vinnitsa, of the Ministry of Public Health of Ukraine, 2011.

The work is devoted to the evaluation of the role of gastrin in the regulation of the systems of NO-synthases/nitric oxide and prostaglandine E2/COX-2, lipoperoxidation processes and antioxidant defense enzymes and their influence on the status of the large intestine epitheliocytes. The inhibition of  $H^+,K^+$ -ATPase

activity with lansoprazole caused an acute increase of the gastrin concentration in blood, accompanied by structural changes of the superficial epitheliocytes, goblet cells, disruption of the mucous barrier and activation of the proliferation processes in the large intestine mucosal membrane. Under the conditions of hypergastrinaemia the increase of the nitric oxide content due to the increase of cNOS activity was detected, the content of PGE<sub>2</sub> increased insignificantly, the content of TBA products decreased and the activity of the enzymes of the antioxidant defense – SOD and catalase in the mucosa of the large intestine increased, L-arginine concentration in blood plasma insignificantly decreased. The blockage of CCK-2 receptors in hypergastrinemia caused the decrease of gastrin concentration in blood, reconstitution of epitheliocytes formation, decrease of the proliferative processes. Under these conditions the decrease of the nitrite anion content and cNOS activity were distinguished, PGE<sub>2</sub> level decreased insignificantly, lipoperoxidation processes increased, SOD and catalase activity decreased. The peculiarities of the changes of the epitheliocytes status, NO-synthase system and lipoperoxidation processes under conditions of COX-2, iNOS blockage and L-arginine supplementation were demonstrated. The determination of the gastrin level in blood and blockage of CCK-2 receptors in hypergastrinaemia may be used for the diagnosis and treatment of the neoplasms of the large intestine.

*Key words:* gastrin, colon, CCK-2 receptors, NO – synthase system, prostaglandine E<sub>2</sub>, cyclooxygenase-2.

### **ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ**

ПОЛ - перекисне окислення ліпідів

СОТК - слизова оболонка товстої кишки

СОД - супероксиддисмутаза

ТБК - тіобарбітурова кислота

ЦОГ- циклооксигеназа

NO – нітрогену оксид

iNOS – індукцибельна NO-синтаза

cNOS – конститутивна NO-синтаза

nNOS – нейрональна NO-синтаза

ПГЕ<sub>2</sub> - простагландин Е<sub>2</sub>

ССК2-рецептори – холецистокінінові рецептори

САТ-1 - катіонний амінокислотний транспортний білок - 1

Підписано до друку 26.10.11 р. Формат 60x90/16.

Гарнітура Times New Roman. Папір офсетний. Тираж 100 прим.

ЛНМУ ім. Данила Галицького вул. Пекарська, 69, м. Львів, 79010.