

М.Б. Щербиніна

## Вплив антисекреторних препаратів різних груп на морфологічні зміни слизової оболонки шлунка при експериментальній виразці у щурів

*В опытах на крысах воспроизводили модель хронической язвы желудка по методу Окабе. Через 7 сут после нанесения ulcerогенной травмы в течение 14 сут вводили один из антисекреторных препаратов (сандостатин, фамотидин, лансопразол). Изучали влияние данных лекарственных средств на состояние микроциркуляторного русла и покровного эпителия в слизистой оболочке желудка с помощью морфометрии. Показано, что по сравнению с интактными животными применение сандостатина и фамотидина достоверно уменьшало показатели объёмной плотности микроциркуляторного русла. Введение лансопразола не оказывало влияния на состояние микроциркуляци, но наиболее значительно активировало регенерацию желудочного эпителия.*

### ВСТУП

Антисекреторні препарати є одними з базисних, що застосовуються у лікуванні пептичної виразки шлунка. Серед них найбільшим попитом у лікарів і пацієнтів користуються блокатори H<sub>2</sub>-гістамінорецепторів (ранітидин, фамотидин) та інгібітори протонної помпи (омепразол, лансопразол, рабепразол натрію). Останнім часом також з'явилися повідомлення про ефективне застосування сандостатину, аналога соматостатину, що має універсальну гальмівну дію на низку біологічних процесів, зокрема на секреторну активність шлунка. Вивчення впливу саме цієї групи препаратів на морфологічні зміни слизової оболонки шлунка зумовлено деякими клінічними спостереженнями. Відзначено, що при застосуванні інгібіторів протонної помпи досягається більш тривала ремісія порівняно з H<sub>2</sub>-гістаміноблокаторами, які у певних випадках призводять лише до короткочасного поліпшення, після чого спостерігається збільшення частоти загострень [3,5] та, окрім того, посилюються прояви активності хелікобактерасоційованого гастриту [9].

Водночас у підтримці резистентності слизової оболонки шлунка до чинників, що її ушкоджують, важливу роль відіграють спроможність епітеліоцитів до репарації та достатній кровообіг. І навпаки, розлади у мікроциркуляторному руслі (МЦР) значною мірою зумовлюють погіршення тканинної перфузії, що призводить до гіпоксії, метаболічного ацидозу та уповільнення регенераторних процесів. Важливо підкреслити, що порушення МЦР зберігаються протягом тривалого часу навіть без клінічних проявів патології шлунка [2].

Метою нашого дослідження було виявлення в експерименті впливу сандостатину, фамотидину та лансопразолу на стан МЦР і покривного епітелію слизової оболонки шлунка щурів за допомогою морфометрії.

### МЕТОДИКА

Експеримент проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г. У роботі дотримувалися рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень з вико-

ристанням тварин згідно з Європейською конвенцією [4]. До дослідження було залучено 50 щурів: з них 10 інтактних та 40 тварин з відтвореною моделлю хронічної виразки шлунка за методом Окабе [10]. Початком експерименту (перша доба) вважали момент нанесення ульцерогенної травми. Під ефірним знеболюванням проводили лапаротомію. Льодяну ацетатну кислоту наносила на передню стінку шлунка з боку серозного покриття протягом 60 с. Надалі в ділянці нанесення кислоти з боку слизової оболонки виникала експериментальна виразка.

Починаючи з 7-ї доби, коли ці виразки сягають найбільших розмірів, тварин було поділено на 4 групи по 10 особи. Кожна з груп протягом 14 діб отримувала один з антисекреторних препаратів. Першій групі щурів внутрішньоочеревинно вводили сандостатин у дозі 100 мкг/кг, другій, третій та четвертій (контрольній) внутрішньошлунково – фамотидин у дозі 600 мкг/кг, лансопразол у дозі 900 мкг/кг та 0,5 мл 0,9 %-го розчину натрію хлориду відповідно.

Збір матеріалу для досліджень проводили через 6 год після останнього введення препаратів. Евтаназію тварин проводили за допомогою передозування ефірного наркозу. Після евтаназії шлунок розтинали великою кривизною та промивали ізотонічним розчином натрію хлориду (37 °С).

Проводили макроскопічну оцінку отриманого препарату шлунка. Для проведення гістологічного дослідження матеріал брали поряд з краєм пупковидного втягування слизової оболонки, що виникало на місці виразкового дефекту, з конвергенцією складок у вигляді морської зірки. У роботі використовували фарбування зрізів гематоксиліном та еозином за загальноприйнятою методикою та за методом Слінченка [6], який дозволяє виявити м'язовий, сполучнотканинний і судинний компоненти стінки шлунка, проводили ШИК-реакцію.

Морфометрично визначали висоту покривних епітеліоцитів і діаметр їх ядер, ядерно-цитоплазматичні відношення, об'ємну сумарну щільність МЦР, обчислювали міто-

тичний індекс. При виконанні морфометричних досліджень дотримувалися рекомендацій Автанділова [1].

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням критерію t Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При морфологічному дослідженні шлунка інтактних тварин відзначено, що у залозах слизової оболонки добре визначалися головні, парієтальні та додаткові клітини, а також більш темні клітини регенераторної зони. Поверхневий та ямковий епітелій містив ШИК-позитивні речовини (мукоїди) в апікальній частині клітин. У шийкових відділах залоз їх не було. Відомі широкі межі коливання кровообігу в слизовій оболонці шлунка, що пов'язано з його секреторною діяльністю, оскільки активність шлункових залоз значно впливає на рівень кровопостачання цих ділянок. У наших дослідженнях в інтактних тварин об'ємна щільність МЦР становила  $3,12 \text{ мм}^3 \pm 0,20 \text{ мм}^3$ . Інші морфометричні показники представлено в таблиці.

Проведені експерименти показали, що у групі контрольних тварин ділянка колишньої виразки була заповнена грануляціями, в більшості випадків у центрі мала пупкоподібне втягування, виступала над рівнем слизової оболонки на 2-3 мм з конвергенцією складок у вигляді морської зірки. У її центрі спостерігали вкраплення брилок фібрину, блідуватого кольору у вигляді стрічок. Такі самі брилки було виявлено й у тканинах, що оточували зону ушкодження. Об'єм клітин і їх ядер свідчить про морфофункціональну активність епітеліального шару. Мітотичний індекс був підвищений до  $12,54 \pm 0,95$  ( $P < 0,01$  порівняно з інтактними тваринами). Виразність ШИК-реакції у слизовій оболонці була нерівномірною: ділянки скупчення мукоїдних речовин чергувалися з більш блідими зонами. Виявлені стереотипні зміни МЦР у період загоювання дефекту слизової оболонки. Об'ємна щільність МЦР достовірно не відріз-

**Морфометричні показники слизової оболонки у щурів з експериментальною виразкою шлунка при застосуванні антисекреторних препаратів різних груп (M±m, n =10)**

Дослідні групи	Об'єм покривних епітеліоцитів, мкм <sup>3</sup>	Об'єм ядер покривних епітеліоцитів, мкм <sup>3</sup>	Ядерно-цитоплазматичні відношення	Мітотичний індекс, %0	Об'ємна щільність мікроциркуляторного русла, мм <sup>3</sup>
Інтактні тварини (норма)	518±12	105±2,8	0,0510±0,0014	8,31±0,53	3,12±0,20
Контрольна група	520±14	103±3,3	0,0520±0,0018	12,54±0,95**	3,14±0,22
Тварини, яким вводили					
Сандостатин	534±25	110±2,1	0,0440±0,0026*	6,78±0,3*	1,48±0,36***
Фамотидин	487±36	92±3,6*	0,0480±0,0009	13,84±1,42**	1,86±0,37**
Лансопразол	469±19*	88±5,3	0,0460±0,0012*	17,12±1,67***	3,15±0,18

\* P < 0,05; \*\* P < 0,01; \*\*\* P < 0,001 статистична різниця між показником у інтактних щурів та у експериментальних тварин.

нялася від норми -  $3,14 \text{ мм}^3 \pm 0,22 \text{ мм}^3$  ( $P > 0,05$ ).

У дослідній групі, що отримувала сандостатин, у 8 з 10 тварин було виявлено утворення, поряд з типовою “ацетатною” виразкою, додаткового виразкового дефекту шлунка. Слід також відзначити появу спайок у черевній порожнині. У 6 випадках загоєння виразкових дефектів не відбулося. Регенераційна активність покривних епітеліоцитів була незначною. Мітотичний індекс становив  $6,78 \pm 0,3$  ( $P < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами). Об'ємна щільність МЦР становила  $1,48 \text{ мм}^3 \pm 0,36 \text{ мм}^3$ , що достовірно нижче від значень інтактною групи тварин ( $P < 0,001$ ).

У тварин, що отримували фамотидин, виявлено макроскопічний стан загоювання, відповідний контролю. Регенерація шлункового епітелію була більш вираженою, про що свідчать значення мітотичного індексу зони росту шлункових залоз  $13,84 \pm 1,42$  ( $P < 0,01$ ) та об'єму ядер клітин покривного епітелію, який наповзає на грануляційну тканину на дні колишнього дефекту слизової оболонки. Спостерігалася затримка відновлення змін МЦР, що виникли внаслідок нанесення ulcerогенної травми. Відзначалося збереження спазму артеріол і прекапілярів, розширення венул, однак без наявності у судинах агрегацій формених елементів крові, сладж-феномена та мікротромб. Об'ємна щільність МЦР була знижена до  $1,86 \text{ мм}^3 \pm 0,37 \text{ мм}^3$

( $P < 0,01$  відносно норми). Слід зазначити, що в ділянці колишньої виразки відбулося формування грубої сполучної тканини.

У групі тварин, які одержували лансопразол, відзначено найбільш повне рубцювання. Грануляційна тканина займала всю площу колишнього дефекту слизової оболонки. Об'єм епітеліоцитів покривного епітелію та їх ядер, ядерно-цитоплазматичний індекс епітеліоцитів свідчать про активні регенераторні явища. Визначалися мітози в ділянці перешийка пілоричних залоз. Мітотичний індекс найвищий серед показників дослідних груп –  $17,12 \pm 1,67$  ( $P < 0,001$  відповідно до норми). Відновлено кровопостачання у зоні виразкового дефекту, при цьому стан МЦР був таким, як в інтактних тварин. Об'ємна щільність МЦР дорівнювала  $3,15 \text{ мм}^3 \pm 0,18 \text{ мм}^3$  ( $P > 0,05$  щодо норми).

Таким чином, за результатами проведеного дослідження сандостатин, фамотидин і лансопразол по-різному впливають на відновлення слизової оболонки шлунка при експериментальній виразці в щурів. Відомо, що кровообіг слизової оболонки шлунка відіграє суттєву роль у багатьох процесах: адаптації шлункових залоз під час секреції, в цитопротекторних механізмах, регуляції стану залоз і судин за участю гормонів системної дії та місцевих регуляторних чинників тощо. Отже, можливо припустити, що особливості анти-

секреторних препаратів зумовлені їх дією на стан внутрішньоорганних кровоносних судин. Цю думку підтверджують значення об'ємної щільності МЦР. Зменшення кровообігу в слизовій оболонці шлунка під впливом H<sub>2</sub>-гістаміноблокаторів і відсутність цієї залежності при застосуванні інгібіторів протонної помпи було доведено також в низці експериментів на тваринах [7,8]. Зрозуміло, що від кровообігу залежить чимало процесів, пов'язаних із постачанням тканин слизової оболонки шлунка киснем, пластичним та енергетичним матеріалом. Тому процеси її відновлення відбуваються швидше при застосуванні лансопразолу, ніж сандостатину та фамотидину. Гіпоксичний фактор, вірогідно, зумовлює розвиток грубої сполучної тканини, оскільки фібробласти краще за інші клітини, переносять кисневе голодування.

Знижена функція виділення соляної кислоти шлунком, яку викликають антисекреторні препарати, призводить до збільшення сироваткового гастрину. Відомо, що останній стимулює проліферацію покривного епітелію. Враховуючи те, що гіпергастринемія більш виражена під час лікування інгібіторами протонної помпи [2], ніж H<sub>2</sub>-гістаміноблокаторами, саме цим можливо пояснити надмірну активність мітозів при застосуванні лансопразолу.

Таким чином, отримані результати свідчать, що при експериментальній виразці шлунка у щурів сандостатин та фамотидин викликають зменшення об'ємної щільності МЦР, а лансопразол не впливає на стан мікроциркуляції, але значно активує регенерацію шлункового епітелію.

**M.B. Shcherbinina**

#### **INFLUENCE OF ANTISECRETORY DRUGS ON MUCOSA MICROCIRCULATION AND REGENERATORY PROCESS IN RATS WITH EXPERIMENTAL GASTRIC ULCER**

In experiments with white rats of Wistar linea there was reproduced the model of acetate gastric ulcer by

Okabe. Since 7 day after ulcerogenous trauma the animals received one of the antisecretory drugs (sandoastatine, famotidine, lansoprazole) for 14 days. There was studied the influence of these drugs on microcirculation and epithelium of gastric mucosa using morphometry. Using sandostatine and famotidine showed to decrease for sure the volumetric density of capillaries comparing with intact animals. Taking lansoprazole did not influenced on microcirculation state but markedly activated the regeneration of gastric epithelium.

*Dnepropetrovsk State Medical Academy, Ministry of Public Health of Ukraine*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. Аруин Л.И., Капуллер Л.Л., Исаков В.А. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника. – М.: Триада-Х, 1998. – 496 с.
3. Комаров Ф.И., Серебрянская М.В., Погромов А.П. Состояние клеточного иммунитета у больных язвенной болезнью на фоне противоязвенной терапии // Воен.-мед. журн.-1989.- №12.- С.23-27.
4. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных // Ланималогия. – 1993. - №1. – С.29.
5. Минушкин О.Н., Зверков И.В. Эффективность омега и ланзапа в лечении язвенной болезни двенадцатиперстной кишки // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2000. - №6. - С.76-79.
6. Слинченко Н.З. Быстрая и прочная окраска соединительной ткани, эластина, фибрина и фибриноидов // Арх. патологии. – 1964. - №2. – С.8-10.
7. Guth P.H., Smith E. Histamine receptors in the gastric microcirculation // Gut. – 1978. - **19**, N11. – P.1059-1063.
8. Kato S., Okabe S., Takeuchi K. Pathways mediating pentagastrin-induced mucosal blood flow response in rat stomachs // Dig. Dis. Sci. – 1996. – **41**, №3. - P.458-491.
9. Meining A., Bosseckert H., Caspary W.F., Nauert C., Stolte M. Antagonists of H<sub>2</sub>-receptors and antacids make more severe associated gastritis in patients with duodenal ulcer/ Aliment. Pharmacol. Ther. – 1997. – **4**, № 11. - P.729-734.
10. Okabe S., Roth J.L.A., Pfeiffer C.J. A Method for Experimental, Penetrating Gastric and Duodenal Ulcer in Rats // Dig. Dis. – 1971. – **16**, №3. – P.277-284.

*Дніпропетров. мед. академія М-ва охорони здоров'я України*

*Матеріал надійшов до редакції 10.02.2002*