

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА  
ШЕВЧЕНКА

На правах рукопису

**ЦИРЮК ОЛЕНА ІВАНІВНА**

УДК 612.323+577.175.73+616.33-002.27

**МЕХАНІЗМИ ФУНКЦІОНУВАННЯ СЕКРЕТОРНОГО АПАРАТУ  
ШЛУНКА В УМОВАХ ТРИВАЛОЇ ГШЕРГАСТРИНЕМІЇ**

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Дисертація  
на здобуття наукового ступеня  
доктора біологічних наук

Науковий консультант  
Берегова Тетяна Володимирівна  
доктор біологічних наук, професор

Київ – 2016

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	6
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	18
1.1 Гідрохлоридна кислота як один з головних компонентів шлункового соку	18
1.2 Роль протонного насоса паріетальної клітини в секреції гідрохлоридної кислоти	25
1.3 Вплив пригнічення синтезу гідрохлоридної кислоти на вміст поживних речовин в організмі	29
1.4 Сучасні підходи до лікування кислотозалежних захворювань	33
1.5 Гастрин як один з головних секретогів, його структура, локалізація, рецептори	38
1.5.1 Регуляція виділення гастрину	43
1.5.2 Трофічний ефект гастрину	48
1.6 Явище гіпергастринемії і її наслідки	53
1.7 Гіпергастринемія спричинена бактеріальною колонізацією	57
1.8 Механізми бактеріального канцерогенеза	63
1.8.1 Роль <i>Helicobacter pylori</i> в канцерогенезі	66
1.9 Дисбіоз та методи його профілактики	70
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	78
2.1 Об'єкт і методи дослідження	78
2.2 Моделювання гіпоацидності в шлунку щурів	79
2.3 Схема експерименту	79
2.4 Методика дослідження шлункової секреції кислоти	84
2.5 Визначення концентрації гастрину в сироватці крові щурів	86

2.6	Методика визначення видового та кількісного складу мікрофлори слизової оболонки шлунка	87
2.7	Морфологічні дослідження шлунка	88
2.8	Лектиногістохімічні дослідження	89
2.9	Методика дослідження продуктів катаболізму протективних білків у слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка	93
2.10	Статистична обробка результатів досліджень	96
	<b>РОЗДІЛ 3 ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ШЛУНКОВОГО СОКУ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ШЛУНКА У ЩУРІВ</b>	97
3.1	Базальна шлункова секреція та концентрація гастрину в сироватці крові щурів після індукованої омепразолом гіпоацидності різної тривалості	99
3.2	Чутливість парієтальних клітин до пентагастрину після блокади $H^+ - K^+ - AT$ Фази різної тривалості	104
3.3	Чутливість парієтальних клітин до гістаміну і карбахоліну після 28-денного введення блокатору $H^+ - K^+ - AT$ Фази	111
3.4	Чутливість парієтальних клітин до екзогенно введеного гастрину в різні терміни після проведення ваготомії	117
3.5	Кількісний та якісний склад мікрофлори шлунка після 28-денної гіпохлоргідрії	122
3.6	Морфологічний стан слизової оболонки шлунка щурів після 28-денного введення омепразолу	128
3.7	Цитотопографія лектинових рецепторів у слизовій оболонці шлунка щурів за умов 28-денного введення блокатору $H^+ - K^+ - AT$ Фази	136
3.8	Стан слизово-епітеліального бар'єру шлунка щурів після 28-денного введення блокатору $H^+ - K^+ - AT$ Фази	145

РОЗДІЛ 4	КОРЕКЦІЯ НЕГАТИВНИХ НАСЛІДКІВ ТРИВАЛОЇ	153
	ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ	
4.1	Вплив проглуміду на функціональні зміни в секреторній функції шлунка, викликані тривалою гіпергастринемією	154
4.2	Вплив блокатору рН-чутливих кальцієвих рецепторів верапамілу на секреторну функцію шлунка за умов 28-денної омепразолом індукованої гіпохлоргідрії	161
4.3	Мікроекологічний та структурно-функціональний стан шлунка за умов одночасного застосування блокатору $H^+K^+$ -АТФази та мультипробіотиків	166
4.3.1	Секреторна функція шлунка за умов одночасного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків	174
4.3.2	Стан слизово-епітеліального бар'єру шлунка щурів після одночасного введення омепразолу та мультипробіотиків	179
4.3.3	Морфологічний стан слизової оболонки шлунка щурів за умов сумісного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків	193
4.3.4	Цитотопографія лектинових рецепторів у слизовій оболонці шлунка щурів за умов сумісного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків	202
4.3.5	Чутливість парієтальних клітин до секретагогів після корекції гіпоацидного стану шлунка мультипробіотиком	211
4.4	Вплив агоністів ядерних $\gamma$ -рецепторів активаторів проліферації пероксисом (PPAR $\gamma$ ) на функціональні зміни в секреторній функції шлунка, викликані тривалою гіпоацидністю	222
4.4.1	Вплив піоглітазону на секреторну функцію шлунка за	222

умов 28-денної блокади $H^+K^+$ -АТФази омепразолом	
4.4.2 Вплив меланіну на виразкоутворення та секреторну функцію шлунка за умов 28-денної блокади $H^+K^+$ -АТФази омепразолом	227
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	236
ВИСНОВКИ	263
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	266

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АТФ –	аденозин-трифосфат
ЦНС –	центральна нервова система
ІФН –	інтерферон
КЛЖК –	коротколанцюгові жирні кислоти
ІІ –	інтерлейкін
ФНП –	фактор некрозу пухлин
КУО –	колонієутворюючі одиниці
ГЕРХ –	гастроезофагеально рефлюксна хвороба
ССК1/ССК2 –	гастрин/холіцистокініновий рецептор
TLR –	толл-подібні рецептори
PPAR $\gamma$ –	рецептори $\gamma$ , що активують проліферацію пероксисом
NF- $\kappa$ B –	ядерний фактор «каппа бі»
<i>CaR</i> –	кальцієвий рецептор
ECL –	ентерохромафіноподібні клітини
HCl –	гідрохлоридна кислота
Th1 –	T-хелпери першого порядку
iNOS –	індуцибельна NO-синтаза
eNOS –	ендотеліальна NO-синтаза

## ВСТУП

### **Актуальність теми.**

Механізми нейро-гуморальної регуляції секреторної функції шлунка достатньо добре вивчені і описані в численних статтях і монографіях [1–10]. Ці фундаментальні механізми стосуються здорового організму людини і тварин. За умов зростаючої поширеності кислотозалежних захворювань [11–16] виникає нагальна потреба встановлення механізмів функціонування секреторного апарату шлунка в умовах гіпер- і гіпоацидності. Особливий інтерес привертають гіпоацидні стани, так як вони, по-перше, є фактором ризику розвитку раку шлунка [17–22], по-друге, на відміну від гіперсекреторних станів шлунка, їх лікування обмежене замісною терапією [15, 23].

Експериментально гіпоацидні стани моделюються тривалим введенням омепразолу - блокатору  $H^+K^+$ -АТФази або блокаторів  $H_2$ -рецепторів [24–27]. На наш погляд, використання блокаторів  $H^+K^+$ -АТФази є більш доцільним у зв'язку з їх перевагами застосування у лікуванні виразкової хвороби шлунка та дванадцятипалої кишки, синдрому Золлінгера-Еллісона, гастро-езофагеальної рефлюксної хвороби, панкреатиту [28–35]. Дослідження структурно-функціонального стану шлунково-кишкового тракту на тлі омепразол-індукованої гіпоацидності дозволить вирішити дискусію щодо доцільності і безпечності тривалого використання блокаторів  $H^+K^+$ -АТФази [36]. Одні автори власними дослідженнями підкреслюють факт безпечності тривалого пригнічення кислотоутворення інгібіторами протонної помпи [37–40]. Інші, навпаки, категорично застерігають і доводять те, що тривала гіпоацидність шлункового соку є небезпечним фактором, що спричиняє розвиток важких патологій [41–51]. На сьогодні досить добре з'ясовані механізми структурних і функціональних змін у печінці і підшлунковій

залозі [52, 53], механізми функціонування моторики шлунка і товстої кишки [54], транспорту води і електролітів через епітелій товстої кишки [55] та морфологічні зміни в товстій кишці [56] за умов тривалої омепразолвикликанної гіпохлоргідрії. Що стосується секреторної функції шлунка, дана проблема залишається невирішеною. Насамперед, потребує досліджень стимульована пентагастрином, гістаміном і карбахоліном шлункова секреція кислоти після тривалого застосування омепразолу.

Відомо, що зниження шлункової секреції за механізмом зворотнього зв'язку призводить до зростання концентрації гастрину в крові, тобто явища гіпергастринемії [57–62]. Гастрин та його проміжні попередники справляють трофічний ефект як на нормальну тканину, так і стимулюють ріст багатьох різновидів пухлин [63–68]. Встановлено, що гастрин задіяний в експресію гена *Reg1 $\alpha$* , який визначається як трофічний і / або антиапоптичний фактор [69, 70]. Встановлений взаємозв'язок між тривалим прийомом антисекреторних препаратів та бактеріальною колонізацією шлунка [71–73]. Адже кислота є потужним бактерицидним фактором захисту, який запобігає бактеріальній колонізації і таким чином попереджає розвиток посиленого росту бактерій та розвитку кишкових інфекцій. Порушення балансу мікрофлори є поштовхом для активації запального процесу, який вважається головною причиною розвитку різних типів злоякісних пухлин [74–79]. Так, наприклад, інфікування *Helicobacter pylori* та іншими аеробними бактеріями є одним з найбільш поширених в етіології гіпергастринемії факторів [72, 80–83]. Про це в своїх дослідженнях добре описав Кореа [84], вказуючи на те, що раку шлунка передуює каскад передракових уражень, а перші значні гістологічні зміни викликає хронічне запалення. Гіпергастринемія в даному випадку обумовлена надмірною стимуляцією гастринпродукуючих клітин цитокінами, які виділяються клітинами зони запалення власної слизової оболонки.

Ми припустили, що як гіпергастринемія, так і дисбактеріоз, викликані блокаторм  $H^+K^+$ -АТФази, можуть залучатися у функціонування секреторного апарату шлунка. Проблема дослідження механізмів регуляції секреторної функції шлунка на тлі тривалої гіпергастринемії має не лише фундаментальне, але і практичне значення, так як її вирішення дозволить розробити методи профілактики негативних наслідків тривалої гіпоацидності шлункового соку.

**Зв'язок роботи з науковими планами, темами.** Дисертаційна робота виконана в рамках наукової теми Навчально-наукового центру (ННЦ) «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка "Дослідження механізмів функціонування органів травного тракту та методів їх корекції" (№ теми 06БФ036-03, № держреєстрації 0106U005755, 2006-2010 р.), теми «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (№11БФ036-01, № держреєстрації – 0111U004648, 2011-2015р). Дисертантка була науковим керівником договірної науково-дослідної роботи "Дослідження впливу фігомеланіну на структурно-функціональний стан слизової оболонки шлунка в умовах тривалої гіпергастринемії викликаній омепразолом" (2009 р., № теми 09ДП036-07, № держреєстрації 0109U007541). Тема дисертаційної роботи затверджена на засіданні Вченої ради біологічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка, протокол №7 від 16 лютого 2010 року. Тема уточнена на засіданні Вченої ради ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, протокол №6 від 12 грудня 2016 року.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення дисертації доповідались та обговорювались на: Міжнародній науковій конференції "Механізми функціонування фізіологічних систем" (Львів, Україна, 2006); Всеукраїнській науковій конференції студентів та аспірантів "Біологічні

дослідження молодих вчених в Україні"(Київ, Україна, 2006);V Міжнародній науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих вчених "Шевченківська весна. Стан науки: досягнення, проблеми та перспективи розвитку" (Київ, Україна, 2007); III Міжнародній конференції «Нейро-гуморальні та клітинні механізми регуляторних процесів травлення" (Львів, Україна, 2007); Спільній зустрічі Словацького фізіологічного товариства та Федерації європейських фізіологічних товариств (Братислава, Словаччина, 2007); 15-му об'єднаному європейському гастроентерологічному тижні (Париж, Франція, 2007); з'їзді європейського товариства «Нейрогастроентерологія і моторика» (Люцерн, Швейцарія, 2008); 5-му Міжнародному науковому симпозіумі з клітинного/тканинного ураження та цитопротекції/органопротекції (Ялта, Україна, 2008); науково-практичній конференції "Нові перспективи застосування мультипробіотика "Симбітер" в гастроентерології та онкології" (Київ, Україна, 2008); 3-му Міжнародному симпозіумі по лікуванню виразок і регенеративній медицині (Сан Дієго, США, 2008); Науково-практичній конференції "Біологічно активні речовини: фундаментальні та прикладні питання отримання і застосування" (Новий Світ, Україна, 2009), 17-му об'єднаному європейському гастроентерологічному тижні (Лондон, Великобританія, 2010); VI Львівсько-Люблінській конференції з експериментальної та клінічної біохімії( Люблін, Польща, 2010); XVIII з'їзді Українського фізіологічного товариства з міжнародною участю (Одеса, Україна, 2010), 13-му Конгресі світової федерації українських лікарських товариств (Львів, Україна, 2010); 5-тій Міжнародній науковій конференції, присвяченій 100-річчю від дня народження професора Павла Дмитровича Харченка та 65-річчю НДІ фізіології імені академіка Петра Богача «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (Київ, Україна, 2010); Міжнародній науковій конференції «Мікробіологія та імунологія - перспективи розвитку в XXI столітті» (Київ, Україна, 2014), 7-й Міжнародній науковій конференції,

присвяченій 180-річчю Київського національного університету імені Тараса Шевченка та 120-річчю від дня народження професора А.І.Ємченка «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (Київ, Україна, 2014), Науково-практичній конференції «Мультипробіотики в профілактиці та лікуванні найбільш поширених захворювань». (Київ, Україна, 2015), 8-й конференції «Пробіотики, пребіотики і нові продукти для мікробіоти і здоров'я людини» (Рим, Італія, 2015).

**Мета дослідження:**

Метою роботи було дослідити функціонування секреторного апарату шлунка за умов розвитку тривалої гіпергастринемії.

**Завдання дослідження:**

Для досягнення поставленої мети перед нами були визначені наступні завдання:

1. Визначити концентрацію гастрину в сироватці крові щурів в динаміці 7-28-денного введення блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу.
2. Проаналізувати вплив омепразолвикликанної гіпергастринемії різної тривалості на базальну та стимульовану пентагастрином, гістаміном і карбахоліном шлункову секрецію.
3. Дослідити концентрацію гастрину в сироватці крові щурів та чутливість парієтальних клітин до екзогенно введеного гастрину в різні терміни після проведення ваготомії.
4. Визначити кількісний і якісний склад мікрофлори шлунку щурів після 28-денного введення омепразолу.
5. Провести морфологічний і лектиногістохімічний аналіз слизової оболонки шлунка щурів на тлі тривалої гіпергастринемії.
6. Визначити вміст глікопротеїнів та протеогліканів в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка щурів за умов тривалої гіпергастринемії.

7. Оцінити вплив сумісного 28-денного введення блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу та блокатору  $SSK_1/SSK_2$  рецепторів проглуміду на секреторну функцію шлунка у щурів.
8. З'ясувати вплив блокатору рН-чутливих кальцієвих рецепторів G-клітин верапамілу на секрецію гідрохлоридної кислоти за умов сумісного 28-денного введення з омепразолом.
9. Дослідити вплив тривалого сумісного введення омепразолу з мультиштамними пробіотиками на:
  - концентрацію гастрину в сироватці крові щурів
  - базальну шлункову секрецію
  - чутливість парієтальних клітин до стимуляторів шлункової секреції
  - кількісний і якісний склад мікрофлори шлунка
  - вміст глікопротеїнів та протеогліканів у слизово-епітеліальному бар'єрі слизової оболонки шлунка
  - морфологічний стан слизової оболонки шлунка.
10. Дослідити вплив тривалого введення омепразолу на секреторну функцію шлунка у щурів за умов одночасної стимуляції ядерних рецепторів типу гамма-активаторів проліферації пероксисом (PPAR $\gamma$ ).

*Об'єкт дослідження:* механізми функціонування секреторного апарату шлунка в умовах тривалої шлункової гіпергастринемії.

*Предмет дослідження:* базальна та стимульована секреція гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів, секреція гастрину, морфологія та морфометричні показники слизової оболонки шлунка, слизово-епітеліальний бар'єр, мікробіоценоз шлунка.

*Методи дослідження:* фізіологічні (дослідження базальної і стимульованої секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку за методом Гхоша та Шільда, біохімічні (визначення продуктів деградації колагенових та неколагенових протективних білків слизово-епітеліального бар'єру), мікробіологічні (якісні і

кількісні показники мікрофлори шлунка), радіоімунологічні (визначення концентрації гастрину в сироватці крові), лектиногістохімічні, морфологічні та методи статистичного аналізу.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Отримані дані експериментальних досліджень суттєво розширюють наші уявлення про функціонування секреторного апарату шлунка в умовах тривалого пригнічення базальної секреції кислоти, яке призводить до гіпергастринемії та розвитку дисбіозу в шлунку, що, в свою чергу, впливає на секреторний апарат шлунка.

Уперше доведено, що незалежно від природи гіпергастринемії (тривале введення омепразолу або наслідки стовбурової ваготомії у віддаленому періоді), стимульована пентагастрином шлункова секреція знижується. У щурів з гіпергастринемією стимульована карбахоліном шлункова секреція не змінюється, а стимульована гістаміном знижується.

Уперше показано динаміку змін базальної та пентагастринової секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів на тлі гіпергастринемії, індукованої 7-28-денним введенням блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу.

Встановлено, що через добу після 28-денного введення щурам омепразолу, базальна шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у частини щурів зростає, а у частини – знижується, що обумовлено в першому випадку проліферацією парієтальних клітин, а у другому – розвитком метаплазії, що підтверджено морфологічними дослідженнями слизової оболонки.

Уперше показано, що на тлі розвитку гіпергастринемії зростає вміст продуктів деградації колагенових і неколагенових білків слизово-епітеліального бар'єру шлунка.

У роботі вперше визначені шляхи корекції структурно-функціонального стану слизової оболонки шлунка в умовах тривалої гіпергастринемії.

Уперше продемонстровано зміни розподілу вуглеводних рецепторів на поверхні клітин (які виявляються за допомогою лектинів: виноградного слимака, арахісу, «золотого дощу» звичайного, зародків пшениці, бузини чорної, насіння сої та рицини звичайної) у слизовій оболонці шлунка за умов розвитку гіпергастринемії. Введення інгібітору протонної помпи зумовлює перерозподіл рецепторів на поверхні плазмолемі епітеліоцитів, подібний до їхнього розподілу в процесах онкотрансформації слизової оболонки шлунка. Введення шурам мультипробіотиків групи «Симбітер®» («Симбітер ацидофільний®» концентрований, «Апібакт®») сприяє нормалізації розподілу цих рецепторів. Уперше встановлено, що мультипробіотики в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку здатні нормалізувати виділення гідрохлоридної кислоти шлунком через відновлення кількісного і якісного складу мікрофлори шлунку та частково зменшувати секрецію гастрину.

#### **Практичне значення одержаних результатів.**

Уперше одержані результати, у тому числі захищені патентом №43006 «Спосіб профілактики раку шлунка та гіперплазії слизової оболонки товстої кишки у хворих гастроентерологічними захворюваннями» [85], слугують підґрунтям для персоніфікованого лікування хворих з тривалою гіпергастринемією різного генезу та наявної у них іншої супутньої патології.

Так, виявлена властивість агоністу (PPAR $\gamma$ ) піоглітазону запобігати гіпертрофії слизової оболонки шлунку дають підставу рекомендувати його при тривалому пригнічення шлункової секреції хворим на діабет.

У хворих з гіпоацидністю шлункового соку з супутньою патологією серцево-судинної системи, яким призначають антиангінальні, антиаритмічні і гіпотензивні препарати, препаратом вибору може бути верапаміл, який не тільки знижує рівень гастрину, але є ефективним у лікуванні вказаної супутньої патології.

Мультипробіотики рекомендовані як засіби профілактики негативного впливу тривалої гіпергастринемії хворим у яких немає лактазної недостатності.

За матеріалами дисертації розроблені та затверджені Міністерством охорони здоров'я України (Українським центром наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи) методичні рекомендації “Застосування пробіотиків у комплексній терапії та профілактиці захворювань органів травної системи” [86]. Методичні рекомендації послугували основою для використання результатів дисертаційної роботи в клінічній практиці в Інституті гастроентерології Академії медичних наук України та Діагностичному лікувально-реабілітаційному курортному комплексі «Ріксос-Прикарпаття» [86].

Результати досліджень знайшли відображення у монографії “Вплив харчових добавок з різним механізмом дії на структурно-функціональний стан шлунка” [87].

Отримані матеріали експериментальних досліджень можуть бути використані: в учбовому процесі для читання спецкурсів та проведення практичних занять з біологічних та медичних спеціальностей; при написанні відповідних розділів та довідникових посібників з патогенезу гіпоацидних станів шлунка.

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням, виконаним протягом 2006-2016 років на базі науково-дослідної лабораторії "Фармакології і експериментальної патології" ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Автором особисто проаналізована наукова література з даної проблеми, самостійно сплановані та виконані експериментальні дослідження, здійснена наукова оцінка одержаних експериментальних даних.

Лектиногістохімічні дослідження виконані разом з д.мед.н., проф. Ященко А.М. на кафедрі гістології, цитології та ембріології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Морфологічні дослідження проведені за консультативною допомогою д.мед.н. Курик О.Г. Всі мультипробіотики, які використані в роботі були розроблені і надані для досліджень д.б.н. Янковським Д.С. («О.Д. Пролісоку»).

Автором самостійно проведено аналіз отриманих результатів, статистичну обробку матеріалу, його інтерпретація, формулювання висновків.

У визначенні напрямку досліджень і обговоренні отриманих результатів та висновків безпосередню участь брала науковий консультант, доктор біологічних наук, професор Берегова Т.В.

*Автор висловлює уклінну подяку своєму науковому консультанту доктору біологічних наук, професору **Береговій Тетяні Володимирівні** за надання вичерпних рекомендацій, уважного ставлення, підтримку та сприяння у виконанні дисертаційної роботи.*

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 47 наукових праць, з яких 21 стаття рекомендована ДАК України (9 належать до міжнародних наукометричних баз даних, з них 3 в «Scopus»), 4 в іноземних виданнях, також 1 монографія, 24 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій, 1 патент на корисну модель.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, 2-х розділів результатів досліджень, розділу аналізу і узагальнення результатів, висновків та списку використаних джерел, що включає 670 найменувань. Дисертація викладена на 343 сторінках, ілюстрована 69 рисунками та 13 таблицями.

**Висновок біоетичної експертизи.** Дослідження проведені на білих нелінійних щурах віварію Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Тварини утримувалися на стандартному раціоні в умовах акредитованого віварію згідно «Стандартним правилам з упорядкування, обладнання та утримання експериментальних біологічних клінік (віваріїв)». Згідно висновку комісії з питань біоетики Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (протоколу № 4 від 12 грудня 2016 року) впродовж усього експерименту тварини не зазнавали жорстокого і негуманного поводження. Дослідження відповідають основним вимогам щодо утримання та роботи з лабораторними тваринами згідно правил Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та інших наукових цілях [88], у відповідності до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» [89] та згідно з етичними нормами і правилами роботи з лабораторними тваринами (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC, 1996) [90].

## РОЗДІЛ 1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### **1.1 Гідрохлоридна кислота як один з головних компонентів шлункового соку**

Однією з основних функцій шлунково-кишкового тракту є секреторна, яка забезпечує вироблення і виділення залозистими клітинами травних соків, що містять ферменти і фактори, що сприяють їх активації. Для нормального перебігу процесів шлункового травлення необхідне ритмічне виділення гідрохлоридної кислоти в просвіт шлунка. Постійна секреція гідрохлоридної кислоти забезпечує умови для протеолітичної дії пепсину, що виробляється головними клітинами слизової оболонки шлунка, денатурує білки, забезпечує бактерицидний ефект.

Слизова оболонка шлунка, що поділяється на 2 основні зони: ту, яка продукує гідрохлоридну кислоту, і ту, що виділяє призначені для нейтралізації гідрохлоридної кислоти бікарбонати. Кислотоутворююча зона розташовується на рівні анатомічного тіла і кардіального відділу шлунку. У цій зоні є велика кількість парієтальних клітин (у чоловіків - від 960 до 1 260 мільйонів клітин, у жінок - від 690 до 910 мільйонів) здійснюють продукцію гідрохлоридної кислоти.

Слизова оболонка шлунка містить велику кількість ендокринних клітин, що продукують цілий ряд гормонів. 35% ендокринних клітин шлунка здорової людини складають ентерохромафіноподібні (ECL-) клітини, що секретують гістамін, 26% - G-клітини, що секретують гастрин. На третьому місці за чисельністю - D-клітини, що секретують соматостатин. Гастрин,

гістамін і ацетилхолін стимулюють продукцію кислоти, соматостатин і простагландини – гальмують.

Додаткові клітини слизової шлунка виділяють захисний слиз, що має лужну реакцію. Слиз зберігає в недоторканності весь масив шлункових клітин, що контактують з агресивним шлунковим вмістом. При порушенні продукції захисного слизу, його руйнуванні або недостатній кількості агресивне шлункове середовище згубно впливає на слизову оболонку шлунка, викликаючи запалення - гастрити, або призводить до виникнення виразок в шлунку і дванадцятипалій кишці.

Шлунковий сік - продукт діяльності шлункових залоз і покрівного епітелія слизової оболонки шлунка. Шлунковий сік являє собою безбарвну прозору рідину з рН 0,9-1,8, що утворюється за добу в об'ємі 2-3л. Особливістю шлункового соку, з якою пов'язані його як перетравлюючі, так і агресивні властивості, є наявність кислих протеаз і гідрохлоридної кислоти.

Стимуляція виділення гідрохлоридної кислоти шлунком відбувається за рахунок взаємодії між собою гуморальних і нервових механізмів.

Гуморальні механізми включають три групи речовин:

- 1) гормони шлунково-кишкового тракту;
- 2) гормони залоз внутрішньої секреції;
- 3) біологічно активні речовини.

Гормони шлунково-кишкового тракту відносяться до простих пептидів, які виробляються клітинами APUD-системи (табл.1.1). APUD-система об'єднала в собі групу клітин з характерною для всіх ознакою - поглинати амінний попередник і карбоксилювати його. Особливістю ендокринних клітин в шлунковому тракті є те, що вони не об'єднані в залози, а розкидані серед більшості звичайних епітеліальних неендокринних клітин слизової оболонки [91]. Більшість діє ендокринним шляхом, але деякі з них здійснюють свою дію параендокринним шляхом. Надійшовши в міжклітинний простір, вони діють на клітини, що знаходяться поруч.

Гастроінтестинальні гормони, джерелом яких спочатку вважалися тільки ендокринні клітини слизової оболонки, можуть продукуватися структурами центральної і периферичної нервової системи і відігравати роль нейротрансмітерів [92, 93].

Серед біологічно активних речовин підсилюючу дію мають серотонін, гістамін, кініни та ін. Гуморальні механізми, що працюють в шлунку найбільш виражені в дванадцятипалій кишці і в верхньому відділі тонкого кишечника.

Таблиця 1.1

Ендокринні клітини слизової оболонки шлунка людини

Тип клітин	Гормони	Локалізація
ECL	гістамін	фундальний відділ шлунка
G	гастрин	антральний відділ шлунка
D	соматостатин	фундальний, антральний відділи шлунка
H/D1	грелін	фундальний, антральний відділи шлунка
EC	серотонін	кардіальний, фундальний, антральний відділи шлунка
A	глюкагон	фундальний відділ шлунка (ембріонів і новонароджених)
P-like	лептин	фундальний відділ шлунка
D1	вазоактивнийінтестинальний пептид	кардіальний, фундальний, антральний відділи шлунка

Основними гормонами, які мають стимулюючий вплив на секрецію кислоти парієтальними та пепсиногену головними клітинами шлунка є гістамін і гастрин [94]. Гістамін, утворюється із гістидину за допомогою ферменту гістидиндекарбоксилази [94], виділяється ECL (ентерохромафіноподібними)

клітинами, зв'язується з  $H_2$ -рецепторами на парієтальних клітинах, це призводить до активації аденілатциклази та утворення цАМФ. Гістамін стимулює парієтальні клітини двома шляхами: через кровотік і локально, оскільки ECL- клітини знаходяться в безпосередній близькості з парієтальними. ECL-клітини виступають посередниками між G-клітинами і парієтальними клітинами [95]. G-клітини продукують гастрин, який діє на  $SSK_2$  (холіцистокінін/гастрин) рецептори ECL-клітин стимулюючи синтез і вивільнення ними гістаміну. Крім цього, відомі ще додадкові стимулятори вивільнення гістаміну, такі як грелін, VIP і пігуїтарний АЦ-активуючий поліпептид (PACAP). Продукція гістаміну також контролюється холінергічними механізмами [96]. Ацетилхолін, що виділяється постгангліонарними інтрамуральними нейронами, взаємодіє з мускариновими M3-холінорецепторами парієтальних клітин та має незначний вплив на виділення гістаміну. Гістамін підвищує чутливість парієтальних клітин до ацетилхоліну і гастрину. Експериментально доведено необхідність гістаміну для нормальної проліферації парієтальних клітин і розвитку їх секреторних мембран [97].

До речовин, що здійснюють пригнічуючий вплив на секрецію гістаміну відносять соматостатин, простагландини, галанін, пептид PYY, пептид споріднений з геном кальцитоніну (CGRP), холіцистокінін, секретин, глюкагон, нейротензин та ін.

Під час прийому їжі, основним гормоном, відповідальним за стимуляцію секреції кислоти є гастрин, який діє, головним чином, шляхом звільнення гістаміну з ентерохромафіноподібних клітин.

Існує також і пряма дія гастрину на парієтальні клітини через  $SSK_2$ -рецептори з послідувочою активацією фосфоліпази C і вивільненням цитозольного кальцію.

Вивільнення гастрину стимулюється механічними і хімічними подразниками антральної частини шлунка, а також внаслідок впливу

центральных механізмів, що включають холінергічні шляхи [3, 98–101]. Доведена залежність вивільнення цього регуляторного пептиду від рН всередині шлунка: після зниження рН до 1 і нижче продукція гастрину припиняється, а підвищення рН стимулює вироблення гастрину [102]. Секреторні ефекти гастрину здійснюються в більшості випадків через стимуляцію вироблення гістаміну. Крім того, гастрин регулює кількість кислоти за рахунок впливу на кількість паріетальних та ECL клітин в слизовій шлунка, проявляючи трофічну функцію [103–105]. Дефіцит гастрину показаний в експерименті на гастрин-дефіцитних мишах призводить до зменшення як загальної кількості паріетальних клітин, так і до збільшення відсотку клітин, які не мають  $H^+K^+$ -АТФази. Виникає також порушення розвитку клітин, що продукують гістамін [93]. Через збільшення вивільнення гастрину можуть активувати вироблення пепсину такі пептиди як гастрин-звільнюючий пептид і бомбезин. Останні можуть діяти на головні клітини через власні рецептори, що викликають зростання внутрішньоклітинного кальцію [106].

Дослідники в своїх експериментах виявили на паріетальних і гастринпродукуючих клітинах рецептор до вітаміна D [107] та кальцій-чутливий рецептор (CaSR), що модулює активність  $H^+K^+$ -АТФази паріетальних клітин [108]. Стимуляція протягом 11 днів CaSR селективним агоністом підвищувала у здорових людей рівень гастрину в крові і кислу базальну шлункову секрецію та знижувала рівні паратиреоїдного гормону і кальцію в сироватці [109].

Joseph I.M. Zavros Y. розробили унікальну віртуальну модель секреції шлункової кислоти і її регуляції, в якій їжа є рушійною силою. Харчовий подразник викликає активність нейронів в центральній і ентеральній нервових систем і стимулює вивільнення G клітинами гастрин-критичного стимулюючого гормону. Гастрин стимулює ECL клітини, які вивільняють гістамін, що разом з ацетилхоліном стимулює секрецію кислоти

парієтальними клітинами. Секреція соматостатину антральними та фундальними D клітинами запускає петлю негативного зворотного зв'язку. Вчені показали, що хоча кислотний рівень є найбільш чутливим до їжі і впливів нервової системи, соматостатин-асоційовані взаємодії також є важливими в управлінні кислотністю. Важливість гастрину в секретії кислоти досягає максимального значення на рівні транспорту між антральними та фундальними ділянками. На їх думку, модель може бути застосована для вивчення умов, які поки що експериментально не відтворено. Наприклад, можливо вібірково виснажувати (усувати) антральний або фундальний соматостатин. Виснаження антрального соматостатину демонструє більш значне підвищення вивільнення кислоти, ніж виснаження фундального соматостатину. Це збільшення продукції кислоти, ймовірно, пов'язано з підвищеним рівнем гастрину. Пролонгована гіпергастринемія (від 5 днів) може призводити до розростання ентерохромафіноподібних клітин. Отримані дослідниками результати можуть бути корисні при розробці терапевтичних стратегій при секреторних дисфункціях, таких як гіпер- і гіпохлоргідрія [110].

Їжа, що надходить в шлунок, стимулює підвищене утворення шлункового соку протягом 4-6 годин. Кількість, склад і властивості шлункового соку змінюються в залежності від характеру їжі, а також при захворюваннях шлунка, кишечника і печінки. Найбільша кількість шлункового соку виділяється на білкову їжу, менша - на вуглеводну, ще менша на жирну.

Гідрохлоридна кислота - основний неорганічний компонент шлункового соку. Органічна частина щільного залишку складається з ферментів і мукоїдів.

Гідрохлоридна кислота продукується парієтальними (обкладовими) клітинами, які в більшості локалізовані у фундальному відділі шлунка. В антральному відділі парієтальних клітин немає.

В стані спокою цитоплазма парієтальних клітин має велику кількість тубуловезикул, які містять кислоти. Під час секреторної активності кислота із тубуловезикул шляхом екзоцитозу виходить в секретуючі каналці, які утворені в результаті випинання апікальної мембрани. Поверхня каналців, як і поверхня апікальної мембрани, покрита численними мікрворсинками. Завдяки наявності внутрішньоклітинних каналців і мікрворсинок значно збільшується поверхня, через яку здійснюється секреція гідрохлоридної кислоти.

Активація секреції гідрохлоридної кислоти відбувається під дією секретогогів: гістаміну, гастрину і ацетилхоліну, рецептори до яких розташовані на базолатеральній мембрані. Вона супроводжується суттєвими морфологічними змінами парієтальних клітин: спостерігається значне збільшення розмірів внутрішньоклітинних каналців і довжини мікрворсинок, що призводить до збільшення поверхні мембрани, що забезпечує секрецію. Крім того, в активованих парієтальних клітинах внутрішньоклітинні каналці відкриваються в люмінальний простір, що дає можливість виділятися кислоті в просвіт шлунка.

Концентрація  $H^+$  в секреторних каналцях парієтальних клітин приблизно в 3 млн. разів вища ніж в крові, тканинах і внутрішньому середовищі самих парієтальних клітин. Енергія, що необхідна для продукції  $H^+$  в такій високій концентрації, звільнюється при аеробних метаболічних процесах в парієтальній клітині, які мають велику кількість мітохондрій. Секреція кислоти залежить від активності аденілатциклази, яка стимулює  $K^+$ -залежну АТФазу, остання специфічна для парієтальних клітин. Ферменти, що необхідні для секреції кислоти, карбоангідраза і  $H^+K^+$ -АТФаза, локалізуються в апікальній мембрані, яка по суті є секреторною мембраною, та в її ворсинках.

## 1.2 Роль протонного насоса парієтальної клітини в секреції гідрохлоридної кислоти

Механізм секреції кислоти полягає в електронейтральному обміні [111]. Основним елементом цієї системи є протонний насос, що забезпечує АТФ-залежний обмін внутрішньоклітинних  $\text{H}^+$  на позаклітинні  $\text{K}^+$  [100, 112] (рис.1.1). Обидва іони переносяться проти електрохімічного градієнта. З клітини  $\text{K}^+$  виходить за градієнтом, через спеціальний канал, причому вихід цього катіона супроводжується виходом із клітини  $\text{Cl}^-$ . Таким чином, сумарним результатом роботи цієї транспортної системи є секреція гідрохлоридної кислоти в люмінальний простір і циклічне переміщення іонів калію з клітини назовні і в зворотному напрямку.  $\text{Cl}^-$  входить в клітину через базолатеральную мембрану. У транспорті цього аніону бере участь  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  - аніонний обмінник. Необхідні для такого обміну  $\text{HCO}_3^-$  утворюються в клітині в результаті роботи спеціального ферменту карбоангідрази, що забезпечує синтез  $\text{H}_2\text{CO}_3$  з вуглекислого газу, який з'являється в клітині в результаті метаболічних процесів, і води.  $\text{H}^+$ , що утворюється при дисоціації  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , секретується протонним насосом в люмінальний простір. Карбоангідраза локалізована в клітині в безпосередній близькості від системи внутрішньоклітинних каналців.

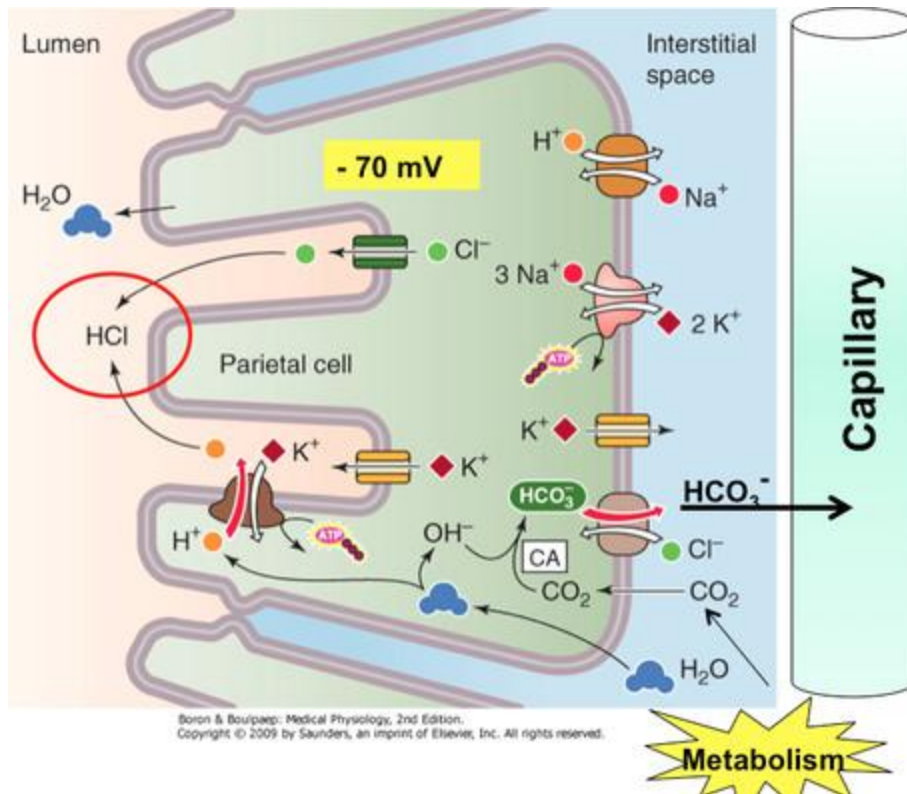


Рис. 1.1. Секреція гідрохлоридної кислоти парієтальною клітиною.

При інтенсивній роботі насоса, коли починає відчуватися нестача  $H^+$  всередині клітини, в процес включаються також вбудовані в базолатеральну мембрану катіонобмінники ( $K^+/H^+$  або  $Na^+ / H^+$ ), що обмінюють позаклітинні  $H^+$  на внутрішньоклітинні  $K^+$  або  $Na^+$ . Таким чином, присутність додаткових переносників, які розміщені на базолатеральній мембрані, забезпечує трансепітеліальний транспорт  $Cl^-$  і частково  $H^+$ .

Роль протонного насоса в системі, що забезпечує секрецію кислоти виконує фермент  $H^+K^+$ -АТФаза, що відноситься до родини АТФаз Р-типу, до якої відноситься і  $Na^+, K^+$ -АТФаза [113]. Окрім епітеліальних клітин шлунка  $H^+K^+$ -АТФаза зустрічається в епітеліальних клітинах каналців нирок [114] та в епітелії деяких відділів кишечника [115, 116].

$H^+K^+$ -АТФаза локалізована в апікальній мембрані, тоді як  $Na^+, K^+$  - АТФаза зосереджена виключно в базолатеральній мембрані. Як і  $Na^+, K^+$  - АТФаза,  $H^+K^+$ -АТФаза складається з субодиниць двох типів:  $\alpha$  -субодиниці -

поліпептиду з молекулярною масою близько 100 кДа (1033 амінокислотні залишки), що виконує каталітичну функцію, і b-субодиниці - глікопротеїда з нез'ясованої до кінця функцією, молекулярна маса якого становить 50 - 60 кДа (291 амінокислотний залишок; інша частина молекули, приблизно 1/3 частина за масою, представлена вуглеводними фрагментами) [117].

В даний час визначена амінокислотна послідовність як  $\alpha$ - [118], так [89]b-субодиниць [119], а також встановлено розташування поліпептидних ланцюгів цих білків в мембрані [120]. Поліпептидний ланцюг  $\alpha$ -субодиниці кілька разів перетинає мембрану, утворюючи 5 трансмембранних петель. N- і C-кінці  $\alpha$ -субодиниці знаходяться в цитоплазмі. Велика частина поліпептидного ланцюга (близько 800 амінокислот) утворює великий цитоплазматичний домен, в якому розташований активний центр, де і відбувається гідроліз АТФ. Катіони переміщуються через мембрану по каналу, який формується трансмембранними петлями. N-кінець b-субодиниці знаходиться всередині цитоплазми, її поліпептидний ланцюг перетинає мембрану тільки один раз. АТФази Р-типу здійснюють гідроліз АТФ до АДФ і неорганічного фосфату. Енергія, яка вивільняється в процесі гідролізу використовується для перенесення катіонів через мембрану проти електрохімічного градієнта.

Активність  $H^+K^+$ -АТФази специфічно пригнічується омепразолом та іншими сполуками (лансопразол, пантопразол), які є похідними бензімідазолу. Крім  $H^+K^+$ -АТФази, в секреції гідрохлоридної кислоти беруть участь компоненти, що забезпечують транспорт  $K^+$  по градієнту концентрацій і пов'язаний з ним вихід  $Cl^-$  проти градієнту концентрації. Транспорт  $Cl^-$  здійснюється через спеціальний хлорний канал.  $K^+$  залишає клітину, через спеціальний калієвий канал. Встановлено, що секрецію гідрохлоридної кислоти гальмує тетраетиламмоній, який відомий як інгібітор калієвих каналів.

Парієтальні клітини окрім мускаринових, гастринових і холіцистокінінових рецепторів мають рецептори і до простагландину E<sub>2</sub>. Кінцевим результатом активації мускаринових, гастринових і холіцистокінінових рецепторів є підвищення рівня внутрішньоклітинного кальцію або за рахунок зростання його надходження в клітину, або посилення виходу внутрішньоклітинного кальцію. Гастрин і холіцистокінін підвищують вихід кальцію за рахунок впливу на інозитолтрифосфат, а гістамін сприяє вивільненню цАМФ [95], хоча відомо про зростання внутрішньоклітинного кальцію в парієтальних клітинах після стимуляції гістамінових рецепторів [112, 121]. Вивчення дії гістаміну показало, що гістамін активує цАМФ-залежні протеїнази, які фосфорилують велику кількість цитоплазматичних мембранних білків. Одним із таких білків є, можливо, Cl-канал, провідність якого лімітує активність H<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-АТФази [122]. Стимуляція рецепторів для простагландину (PGE<sub>2</sub>), навпаки знижують рівень цАМФ і призводить до гальмування секреції кислоти [123]. Гідрохлоридна кислота шлункового соку викликає денатурацію і набухання білків і тим самим сприяє їх подальшому розщепленню пепсинами, активує пепсиногени, створює кисле середовище, необхідне для розщеплення харчових білків пепсинами; бере участь у антибактеріальній дії шлункового соку і регуляції діяльності травного тракту (залежно від рН вмісту посилюється або гальмується нервовими механізмами і гастроінтестинальними гормонами).

Критерії оцінки результатів рН-метрії за Чернобровим представлені в табл.1.2. Порушення кислотоутворюючої функції шлунка може стати причиною виникнення різних захворювань травного тракту. Підвищення виділення HCl призводить до виразкової хвороби, рефлюксного езофагіту, панкреатиту та інш. Зниження кислотоутворення має певний зв'язок з розвитком новоутворень в шлунку, надмірним розвитком умовно-патогенної та появою патогенної мікрофлори, як наслідок, порушенням травлення, що

проявляється в порушенні всмоктування поживних речовин, насамперед, заліза та кальцію.

Таблиця 1.2

Критерії оцінки результатів рН –метрії за Чернобровим

рН	стан кислотоутворення
0,9-1,2	виражена гіперацидність
1,3-1,5	помірна гіперацидність
1,6-2,2	нормоацидність
2,3-3,5	помірна гіпоацидність
3,6-6,9	виражена гіпоацидність
7,0-7,5	анаацидність

### 1.3 Вплив пригнічення синтезу гідрохлоридної кислоти на вміст поживних речовин в організмі

Зниження секреції гідрохлоридної кислоти може негативно позначатися на абсорбції багатьох важливих поживних речовин, а особливо заліза, кальцію та вітаміну В12 [43, 124–126]

Вітамін В12 (кобаламін) являється важливою поживною речовиною для якої необхідні шлункова кислота та пепсин для виділення його з білково-зв'язаної форми у більшості їжі, що надає можливість йому зв'язатися з R фактором слини, а потім з внутрішнім фактором Касла [127, 128]. Дослідженнями доведено, що блокатори протонної помпи не змінюють секрецію внутрішнього фактора Касла парієтальними клітинами, але викликаючи гіпо- або ахлоргідрію можуть призвести до мальабсорбції вітаміну В12 [129–134].

Чотири коротких роботи [132, 133, 135, 136] демонструють, що омепразол може зменшувати абсорбцію вітаміну В12. Лише в деяких дослідженнях була приділена увага впливу довготривалого лікування блокаторами протонної помпи на рівень В12 [134, 137, 138] і наразі немає даних для більш ніж 10-річного їх вживання. В деяких роботах (1-4 роки) [139, 140] не спостерігали ніяких змін у рівні В12 при застосуванні блокаторів протонної помпи, але в інших джерелах [13, 134, 141] відмічали значне зниження рівня В12. Хронічні дослідження важливі для точної оцінки ефекту довготривалого пригнічення виділення кислоти на абсорбцію В12, якщо рівень В12 в сироватці визначено через те, що накопичення в організмі здорової людини може тривати до 5 років [128, 142]. В дослідження за участю пацієнтів з синдромом Золлінгера-Еллісона [143], що лікувались ІПП в середньому близько 4.5 років або антагоністами Н2 рецепторів гістаміну до 10 років показано, що рівень В12 в сироватці був значно нижчий у пацієнтів, які приймали омепразол, особливо у тих, у яких виникала індукована під дією препарату гіпосекреція і/або ахлоргідрія [134]. У цьому дослідженні [134] у 68 пацієнтів з другим рівнем В12 в сироватці по крайній мірі протягом 5 років, вживаючи ІПП його рівень знизився на 30% у пацієнтів з ахлоргідрією. Крім того, у восьми пацієнтів рівень вітаміну В12 впав нижче норми. Хоча, у меншості пацієнтів (11%) виникало зниження рівня В12 нижче норми, ця робота [134] демонструє, що значення рівню вітаміну В12 може зменшуватися прямопропорційно пролонгованості застосування інгібіторів протонної помпи. Таке явище може бути надзвичайно важливим для людей похилого, у яких часто спостерігається недостатність поживних речовин, включаючи низький рівень В12 так і знижена депонуюча функція цього вітаміну [144, 145]. У дослідженнях, проведених на пацієнтах похилого віку [141], хронічне вживання блокаторів протонної помпи або антагоністів Н2-рецепторів гістаміну (в середньому від 1 до 4-х років) спостерігається збільшення в 4 рази невивільнення кобаламіну. В інших дослідження [146–148] також вказується на

збільшення ризику виникнення дефіциту В12 при застосуванні блокаторів протонної помпи. В одній роботі [148] на 49 пацієнтах, у яких була наявна Н. руюлі і поставлений діагноз гастроєзофагеальний рефлюкс при лікуванні кислотопригнічуючими препаратами в середньому 5 років не спостерігали ніяких змін у рівні В12 у пацієнтів, у яких не розвивалась атрофія шлунка. Проте, у 15 пацієнтів, що приймали блокатори протонної помпи і мали атрофію шлунка спостерігали значне зниження В12. Таким чином, у Н. руюлі-позитивних пацієнтів з шлунковою атрофією (33% в цьому дослідженні), яка розвивалась при використанні блокаторів протонної помпи і збільшувався ризик падіння рівня вітаміну В12 в сироватці. Сагар та співав. [147] демонструють генотипи пацієнтів може впливати на рівень вітаміну В12 після довготривалого прийому омепразолу. Після вживання омепразолу протягом року (20мг в день), рівень В12 був нижчий у осіб, які вважаються гетерозиготними (28%) за мутантною формою СYP2C19, ніж у гомозигот дикого типу. Було запропоновано [149], що генотип СYP2C19 може бути допоміжним у майбутньому для пацієнтів, що довготривало приймають омепразол або інший інгібітор для визначення збільшення ризику зниження рівня вітаміну В12 в сироватці [147].

Всі роботи представлені вище підтримують висновок, що пролонговане лікування блокаторів протонної помпи може знизити рівень В12 у різних пацієнтів. Протягом певного часу (5 років) у деяких пацієнтів рівень В12 падає нижче норми або змінюються гематологічні показники [150, 151]. Таким чином попередні результати показують, що мальабсорбція вітаміну В12 може виникати при лікуванні блокаторами протонної помпи і відповідно підвищувати ризик недостатності В12 (люди похилого віку, погане харчування, Н. руюлі), тому необхідно перевіряти рівень В12.

Численні дослідження демонструють, що кисла шлункова секреція відіграє важливу роль в нормальній абсорбції негемованого заліза [143, 149, 152, 153]. Механізм цієї посилюючої дії пояснюють з тієї точки зору, що

кислота впливає на диссоціацію солей заліза, допомагає розчиняти солі заліза, таким чином зменшуючи їх розмір і утворюючи комплекси з амінами, цукрами та аскорбатами [143, 149, 152, 153]. В дослідженнях на тваринах показано [154], що омепразол знижує абсорбцію заліза у щурів, що перебувають на дієті, яка передбачає дефіцит ферума. Отримані результати [154] дозволять зробити висновок, про те що лікування омепразолом навряд чи буде пов'язано з порушенням абсорбції заліза у пацієнтів в нормі, але це може викликати зниження всмоктування заліза при патологічних станах, що пов'язані зі збільшенням його поглинаючої здатності, такої як дефіцит останнього. Доповідь [126], що стосувалась двох пацієнтів з нестачею заліза, які вживали його до і після припинення лікування омепразолом підтримує висновок, що у людини сильна гіпохлоргідрія, індукована вживанням омепразолу, може послаблювати оптимальну абсорбцію перорально застосованого заліза у осіб з його дефіцитом. В іншій роботі [140] на 34 пацієнтах з ідіопатичною пептичною хворобою, що лікувались омепразолом до 4 років не має даних про мальабсорбцію, яку оцінювали визначаючи рівень ферритину, що показував кількість накопиченого заліза. В іншій роботі [143] на 109 пацієнтах з синдромом Золлінгера-Еллісона, з яких 89 вживали омепразол (в середньому 6 років, взагалі від 1 до 12 років) не було показано порушення всмоктування заліза. В даному дослідженні [143] співвідношення феритину, трансферину, ферити/ трансферину, так само як і гематологічні показники були взяті для оцінки депо заліза. Крім того, в групі пацієнтів з пролонгованою, сильною гіпохлоргідрією, не було відомостей про порушення всмоктування заліза, через тривале застосування омепразолу. Ці результати зазначають, що хронічне лікування блокаторами протонної помпи не призводить до мальабсорбції заліза у пацієнтів при нормальній дієті. Але така патологія має місце при недостатку заліза та набутій гіпохлоргідрії, однак ці питання лишаються до кінця не з'ясованими.

В дослідженнях проведених методом мас-спектрометрії з індуктивно зв'язаною плазмою вивчено вміст мікроелементів в слизовій оболонці шлунка щурів в умовах тривалої гіпоацидності [155].

Встановлено істотну зміну мікроелементного балансу в тканинах шлунка щурів після тривалого пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти омепразолом, в клітинах слизової оболонки шлунка знижувався вміст есенціальних мікроелементів: селену, заліза, міді, цинку. У цих же умовах спостерігалось значне зниження таких есенціальних мікроелементів, як кобальт і марганець. Знижувався рівень стронцію. Було також показано, що в умовах омепразол-індукованого гіпоацидного стану в клітинах слизової шлунка щурів зростає вміст умовно-есенціальних мікроелементів: хрому, миш'яку і ванадію. Фіксувалося значне зниження нікелю. Зниження есенціальних елементів на тлі підвищення деяких умовно-есенціальних мікроелементів в клітинах слизової шлунка може бути пов'язано з порушенням синтезу білків металлотіонеїнів. Дослідники зазначили, що накопичення генотоксичного хрому на тлі зниження антиоксидантних мікроелементів (цинку і селену) може спровокувати генерацію активних форм кисню, що призводить до збільшення потенційного ризику пошкодження генів пухлино-супресуючих білків і, як наслідок, можливе пригнічення апоптозу в епітеліальних клітинах слизової шлунка, що, в свою чергу, може бути додатковим ініціатором канцерогенеза на тлі тривалої гіпоацидності шлункового соку [155].

#### **1.4 Сучасні підходи до лікування кислотозалежних захворювань**

Розвиток науки і фармацевтики відсунув на задній план використання одних з найстаріших противиразкових засобів М-холінолітиків, першими з яких були препарати беладони і атропін. Маючи не вибіркову дію та

наявність в багатьох органах М-холінорецепторів їх використання призводило до безлічі серйозних побічних ефектів (тахікардії, сухості в роті, розладів акомодациї, дратівливості, головного болю, порушення сну).

На сьогоднішній день широкого використання набули блокатори  $H_2$ -гістамінових рецепторів та інгібітори  $H^+K^+$ -АТФази.

Блокатори  $H_2$ -гістамінових рецепторів є високоефективними препаратами для зниження шлункової секреції. Відомо п'ять поколінь блокаторів  $H_2$ -рецепторів гістаміну. Циметидин - препарат 1-го покоління, запропонований як "панацея" від виразкової хвороби, в даний час майже не вживається. Він сприяє швидкому загоєнню виразкових дефектів, однак після відміни дає ранні рецидиви, що вимагає підтримуючої терапії.

При призначенні препаратів наступних поколінь ранітидина, фамотидина і їх аналогів (ранісан, гістак і ін., гастроседіна, кваматела - відповідно) побічних реакцій майже не зустрічається. Є окремі випадки підвищення рівня трансаміназ - при прийомі ранітидину і змін стільця - при прийомі фамотидина. Терапевтична ефективність забезпечується високим рівнем препарата в крові, що іноді потребує багатократного прийому.

$H_2$ -блокатори проникають через плацентарний бар'єр і в материнське молоко, у зв'язку з чим їх не рекомендується призначати при вагітності і при годуванні груддю.

Після припинення прийому  $H_2$ -блокаторів (особливо різкого) можливий "синдром рикошету" з короткочасним загостренням захворювання, а при тривалому призначенні - синдром "ухилення рецепторів", що супроводжується зниженням антисекреторного дії [156–159]. Крім того в останні роки з'явилися роботи, що містять відомості про розвиток дистрофічних змін в парієтальних клітинах при тривалому прийомі  $H_2$ -блокаторів [24]. Під час використання блокаторів  $H_2$ -гістамінових рецепторів парієтальних клітин слизової оболонки шлунка пригнічення шлункової секреції відбувається внаслідок дії лише на один тип рецепторів,

при цьому гіперсекреція кислоти може бути обумовлена стимуляцією інших рецепторів, що також знаходяться на поверхні клітини-гастринових або ацетилхолінових.

В силу наведених вище причин найпотужнішими антисекреторними агентами в даний час є блокатори  $H^+ / K^+$  -АТФази омепразол, лансопразол і пантопразол, що об'єднуються в групу блокаторів протонної помпи. Всі вони пригнічують кінцевий етап секреції гідрохлоридної кислоти шляхом гальмування активності ферменту АТФази, пов'язаної з обміном іонів  $K^+$  на  $H^+$ , незалежно від виду стимульованих рецепторів - холінергічних, гастринових або гістамінових.

Блокатори протонної помпи відносяться до суперселективних засобів, так як активуються тільки в надзвичайно кислому середовищі шлунка. Антисекреторний ефект у цих препаратів значно вище, ніж у  $H_2$ - блокаторів гістамінових рецепторів всіх поколінь, і до того ж досить тривалий: він зберігається протягом 2-3 діб.

Інгібітори  $H^+ / K^+$  -АТФази відзначаються менш значущими небажаними побічними ефектами. Вони блокують як базальну, так і стимульовану шлункову секрецію, незалежно від природи подразника, на відміну від блокаторів  $H_2$ -гістамінових рецепторів, які пригнічують переважно базальну шлункову секрецію. Після скасування їх прийому повна блокада шлункової секреції утримується протягом 7-10 днів. Тільки інгібітори  $H^+ / K^+$  -АТФази здатні в стандартному режимі забезпечувати у більшості хворих досить стійке і тривале пригнічення шлункової секреції, необхідне для оптимального лікування кислотозалежних захворювань: виразки на рівні  $pH > 3$ ; ГЕРХ -  $pH > 4$ ; ерадикації *Helicobacter pylori* -  $pH > 5$  не менше 16-18 годин на добу. У той же час тривалість оптимального пригнічення кислотопродукуючої функції шлунка при використанні блокаторів  $H_2$ -гістамінових рецепторів складає не більше 9-12 годин.

Таким чином, інгібітори  $H^+ / K^+$  -АТФази найбільш ефективні і досить безпечні при тривалому використанні і, отже, більш кращі при лікуванні кислотозалежних захворювань, що виводить їх у ранг золотого стандарту терапії цієї патології. Вони виявилися практично безальтернативними по ефективності для використання в схемах антихелікобактерної терапії. Тому інгібітори  $H^+ / K^+$  -АТФази займають центральне положення в ряді лікарських препаратів, що пригнічують секрецію гідрохлоридної кислоти [160]. Перший препарат цієї групи – омепразол. Він був синтезований у 1978 році, а у 1988 році на Всесвітньому конгресі гастроентерології в Римі його було офіційно рекомендовано для клінічного застосування. Окрім омепразолу у клінічній практиці застосовують пантопризол, лансопризол та рабеппризол [161–163]. Новітні дослідження показують, що найбезпечнішим і найефективнішим блокатором протонної помпи є ілапризол [164].

Усі інгібітори протонної помпи за хімічною будовою є 2-піридинметилсульфонілбензimidазолами, що відрізняються, головним чином, замісниками у піримідиновому кільці (рис. 1.2).

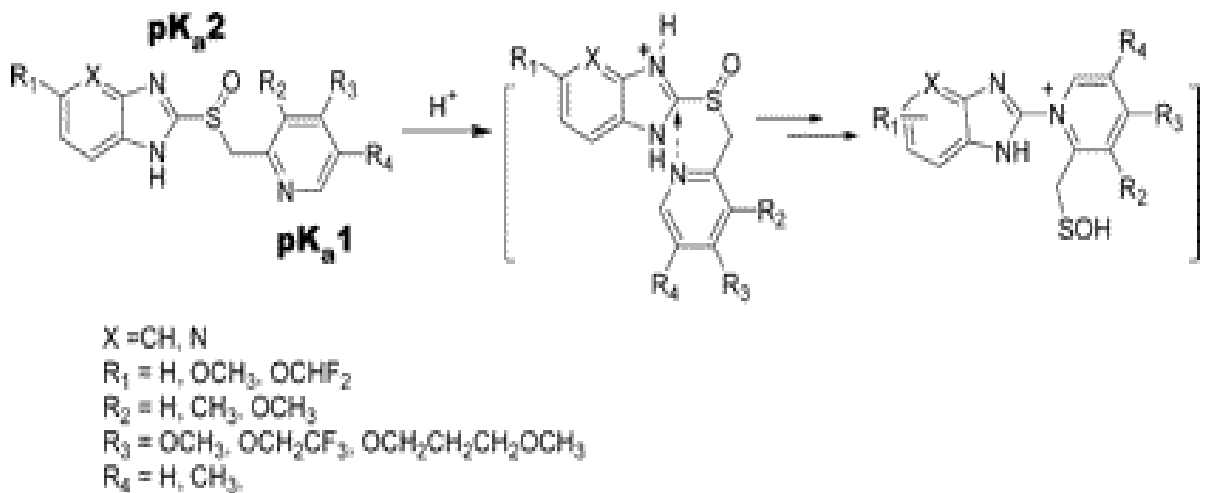


Рис. 1.2. Хімічна структура молекули омепразолу. Перетворення метилсульфенільної групи в тетрациклічний сульфенамід.

Омепразол є слабкою основою, тому його накопичення відбувається в органелах клітин з низьким значенням рН. В секреторних каналцях парієтальних клітин рН дорівнює 0,8-1,0, що обумовлює накопичення в них омепразолу у дуже високих концентраціях (що у 1000 разів перевищує його вміст в крові). Після накопичення відбувається перетворення відносно сталої метилсульфенільної групи у високореактивний тетрациклічний сульфенамід. Швидкість активації похідних бензimidазолу залежить від значення рН середовища і рК для даної сполуки. Отже, для омепразолу швидкість активації складає 50% від максимальної при значенні рН=4,0. Через те, що сульфенамід має заряд, він не може проходити крізь біологічні мембрани, і тому лишається всередині каналців парієтальних клітин. В подальшому він реагує з SH- групами  $H^+K^+$ -АТФази, утворюючи ковалентні зв'язки, що в свою чергу незворотно пригнічує активність протонної помпи і відповідно блокує продукування гідрохлоридної кислоти [162, 163].

Паралельно з пригніченням молекул протонного насосу в парієтальних клітинах інгібується секреторний процес в D-клітинах, в яких синтезується соматостатин [165]. Таким чином створюються умови для продукування надмірної кількості гастрину G- клітинами антрального відділу, що, в свою чергу, може призвести до явища гіпергастринемії.

Добре відомо, що за умов тривалого зниження секреції кислоти в шлунку (гіпоацидні та анацидні гастрити, тривалий прийом антисекреторних препаратів) за механізмом зворотнього зв'язку посилюється виділення гастрину, а згідно даних багатьох дослідників гастрин має трофічний вплив на слизову оболонку травного тракту та є мітогенним фактором для росту епітеліального шару клітин [164, 166, 167]

## 1.5 Гастрин як один із головних секретарогів, його структура, локалізація, рецептори

В підрозділі 1.1 ми вже зазначали, що гастрин є одним з головних гастроінтестинальних гормонів задіяних в кислотоутворюючій функції шлунка. Враховуючу його важливість і водночас небезпечність при надмірному виробленні хотілось би більш детально зупинитися на його характеристиках.

Історія вивчення природи і властивостей гастрину почалася ще в 1905 році. Саме тоді Bayliss і Edkins [168] була висунута гіпотеза про наявність в слизовій оболонці шлунка (СОШ) речовини, що передається з кров'ю і відповідає за збудження секреції шлунка після прийому їжі. Edkins назвав цю речовину гастрином. Комарову у 1930 році [169–171] вперше вдалося відділити гастрин від гістаміну і довести його наявність у білковій частині екстракту слизової оболонки антрального відділу шлунка, але його хімічна структура залишалась невідомою. Пізніше, в 1962 році Gregory і Tracy вдалося виділити чисті форми гастрину зі свинячої слизової оболонки антрума [172, 173]. Встановлення первинної структури показало, що гастрин I є амідом гептадекапептиду з залишком піроглутамінової кислоти на N-кінці. Гастрин II має таку саму амінокислотну послідовність, але тирозин в положенні 12 містить O-сульфогрупу [174].

Дослідження дали змогу виявити різноманітні форми гастрину. Morley було синтезовано більш ніж 500 аналогів гастрину [175]. В результаті цих досліджень для діагностики шлункової секреції в медичну практику запровадили використання синтетичного аналогу гастрину - пентагастрину (Boc- $\beta$ -Ala-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>). Всі форми гастринів гомологічні за хімічною будовою. Активною частиною їх молекул, що зв'язуються з гастриновими рецепторами є ділянка, яка складається з 5 амінокислот.

Синтетичний аналог – пентагастрин як раз і складається із цих 5 амінокислот. Молекули гастрину мають просторову лінійну структуру (рис.1.3,1.4):

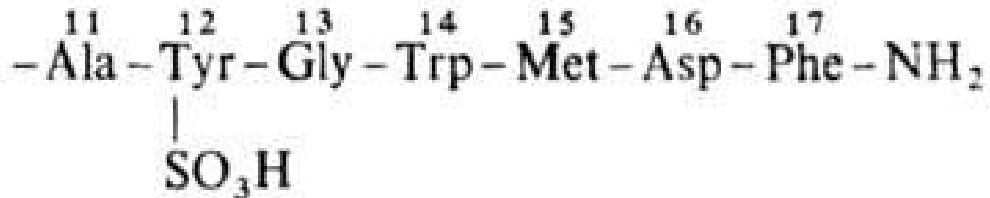


Рис. 1.3. Хімічна будова молекули гастрину-17

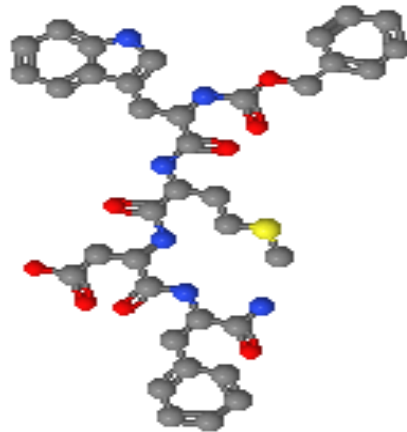


Рис. 1.4. Хімічна структура молекули гастрину

Ген, який відповідає за кодування інформації гастрину було виділено з ДНК людини. Складається він з 4100 пар основ і керує синтезом пептиду, довжина якого становить 101 амінокислота. Локалізація цього гену є до кінця не визначеною. Деякі автори вказують 11 хромосому [176, 177], інші – 17 хромосому [178].

Гастрин синтезується як частина більшого пептиду – прогастрину. У людини він представляє собою поліпептид з довжиною 80 амінокислотних залишків, у інших ссавців до цієї послідовності додаються ще три амінокислотні залишки на С-термінальному кінці молекули [179]. Основними похідними прогастрину є три класи пептидів:

1. Гастролини, в яких присутній „активний сайт” (-Trp-Met-Asp-Phe-NH<sub>2</sub>), що складає С-терміналь. Пептиди з такою С-терміналю мають високу спорідненість до гастринових рецепторів. До них відносять „великий гастрин”, „малий гастрин” та мінігастрин. „Великий гастрин” або гастрин-34, поліпептид, який у своєму складі має 34 амінокислоти. Цей гормон виявлено в слизовій оболонці людини (людський, hG34), а також свині - (свинячий, pG34). „Малий гастрин”, гастрин-17, складається з 17 амінокислот. Його виділили із слизової оболонки людини - hG17 і інших ссавців: свинячий – pG17, котячий - fG17, собачий - cG17, коров'ячий - bG17, овечий - oG17. Мінігастрин складається з 14 амінокислот і виділений із свинячої слизової – pG14. Має більш виражену фізіологічну активність [180].

2. Похідні прогастрину, що є результатом перетворення проміжних продуктів. До них відносять речовини, які не здатні стимулювати секрецію кислоти (Gly- розширений гастрин).

3. Фланкуючі фрагменти. До цієї групи входять N – термінальний фрагмент 1-35 і С – термінальний тетрапептид 75-80 [181–184].

Важливим є те, що пропорції різних форм гастрину варіюють між різними тканинами. Так Verson S.A., Yalow R.S., [185] показали, що такі форми, як G17 та G34, описані Gregory і Tracy, в дванадцятипалій кишці виділяються приблизно в однаковій кількості, але в антральному відділі шлунка переважає продукування G17. Гастрин-34 за своєю структурою представлений двома молекулами гастрину-17, з'єднаними амінокислотними залишками лізину. На цей зв'язок діє протеолітичний фермент трипсин. Dockray [186] вважає, що розрив зв'язку між залишками лізину відбувається

в гранулах G-клітин, де із гастрину-34 утворюється гастрин-17 і NH<sub>2</sub> - термінальний пептид.

Синтезу та дозрівання гастрину розпочинається з моменту виділення 21 амінокислотних залишків з первинної форми препрогастрину, після чого утворюється прогастрин, який має у своєму складі 80 амінокислотних залишків. Ця форма гастрину проходить через комплекс Гольджі. Протягом переносу через цей комплекс прогастрину проходить сульфатацію тирозинового залишку [187] за допомогою сульфотрансферази (TPST) 1 та/або 2. Процес дозрівання прогастрину, в решті решт, призводить до секреції біоактивних, так званих, карбоксиамідованих гастринів різної довжини ланцюгів (гастрин17- та гастрин34-амід). Послідовність прогастрину складається з трьох двоосновних сайтів розщеплення (Arg36-Arg37, Lys53-Lys54 та Arg73-Arg74 [188]. Після розщеплення за допомогою конвертаз прогормонів, С-терміналі Arg73-Arg74 видаляються [189]. Останній крок у дозріванні гормону є амідування проміжних продуктів, що містять гліциновий залишок у С-кінцевому фрагменті (Г-глі), що призводить до утворення біоактивних α-амідованих пептидів гастринів (Г-амід). У біоактивних гастринів С-кінцевий тетрапептид, амід, відповідає за зв'язування з рецептором та біоактивність [187]. Послідовність аміду також спільна з гомологом гастрину холицистокініном, з чим і пов'язана можливість опосередковувати свою дію через один тип рецепторів - ССК1.

За умов розвитку патологій (наприклад, при карциногенезі шлунку, порушенні експресії генів гастрину, а також при малігнізації G-клітин шлунку), спостерігається порушення механізмів біосинтезу гастрину, що призводить до нагромадження недозрілих форм гастринів - прогастринів та препрогастринів, тобто, його неамідованих форм [190]. Ці форми також виявляють біологічну активність, але діють не через класичні ССК2 рецептори, а через інший тип, усічену або подовжену форми ССК2 рецептори. Показано, що прогастрини не здатні стимулювати шлункову

секрецію, але самі по собі, можуть викликати ріст та розвиток злоякісних новоутворень у різних відділах травного тракту, як то шлунку, підшлунковій залозі, а також тонкому кишечнику. Тому рівень прогастринів та амідованих форм гастринів може виступати діагностичним показником при деяких патологічних станах [191].

Незважаючи на те, що перші посилення на наявність гастрину в слизовій шлунку, з'явилися ще на початку минулого століття, лише у 1968 році McGuigan ідентифікував гастринпродукуючі клітини (G-клітини) в антральному відділі шлунка [192]. Дані електронної мікроскопії показали, що G-клітини мають велике ядро і щільно розташуваними округлі гранули в цитоплазмі, які містять гормон [193]. Використання імуноелектронної мікроскопії дало змогу виявити наявність гастринвмісних секреторних гранул не лише в цитоплазмі, а і в ядрі G-клітин [194].

За властивістю сприймати солі срібла гастринпродукуючі клітини відносять до аргірофільних клітин. Морфологічні особливості G-клітин людей і тварин відрізняється. У собаки вони великі, за формою подібні до трикутної; у людини G-клітини менші за розмірами, мають грушоподібну форму. Вони відносяться до клітин „відкритого типу”, що безпосередньо контактують з просвітом шлунка і постійно знаходяться під впливом нервових, хімічних і гуморальних факторів [179]. G-клітини присутні в різних відділах шлунково-кишкового тракту. В шлунку найбільша їх кількість спостерігається в слизовій оболонці антрального відділу, переважно ці клітини продукують гастрин-17 (G-17). Поодинокі G-клітини зустрічаються в перехідній зоні між тілом шлунка і його фундальним відділом. В ділянці дна і шийки пілоричних залоз G-клітини розміщуються невеликими скупченнями. Немає їх зовсім в зоні пілоричного каналу. Для дванадцятипалої кишки встановлено проксимо-дистальний напрямок градієнта розподілу гастринпродукуючих клітин у порядку зменшення [195]. Ці клітини виділяють переважно гастрин-34. В травному тракті G-клітини

знаходяться також в підшлунковій залозі, але тільки в період ембріогенезу [196].

В тонкому кишечнику G-клітини переважно розташовуються в криптах, ворсинках, бруннерових залозах, секретують гастрин-34. Окрім гастрину, ці клітини виробляють метенкефалін та кальцитонін-ген-зв'язаний пептид [197].

Виявлена позитивна імунологічна реакція на гастрин в різних відділах мозку [198]. Rehfeld [199, 200] вважає, що в цереброспинальній рідині людини міститься гастрин-34 та гастрин-17 у концентрації від 1.5 до 8.0 пмоль/г. На клітинному рівні гастрин локалізуються в гранулах тіл нейронів, нервових волокнах та нервових закінченнях [195].

В літературі відомі дані про наявність двох типів рецепторів до гастрину. Перший з них ССК-А (також відомий як ССК-1) рецептор. Він знаходиться в стінці жовчного міхура та панкреатичній залозі [201, 202]. Спорідненість його до гастрину досить низька, проте спостерігається висока спорідненість до холецистокініну (ССК). Другий рецептор – ССК-В (також відомий як ССК-2). ССК-В рецептор розташований на парієтальних клітинах, ентерохромафіноподібних клітинах, нейронах периферичної та центральної нервової системи [203]. Він має однакову спорідненість як до гастрину так і до холецистокініну. Дослідження показали, що існує принаймні два рецептора до похідних прогастрину. Вони мають високий афінітет щодо Gly-розширеного гастрину. Ці рецептори можуть відігравати роль у виникненні канцерогенезу шляхом індукції трофічної дії похідних гастрину [204].

### **1.5.1 Регуляція виділення гастрину**

Процес шлункової секреції можна умовно поділити на три фази, що накладаються одна на одну в часі: складнорефлекторна (цефалічна), шлункова (нейрогуморальна) та кишкова. Шлункова секреція регулюється

комплексом ендокринних, паракринних, нейрональних і місцевих механізмів (парасимпатичних, симпатичних, інтрамуральних рефлексорних дуг) [7]. Кожна з цих фаз має свій власний механізм. Активність всіх клітин організму, зокрема і кислотопродукуючих клітин шлунку, регулюється хімічними месенджерами. Цими посередниками є ацетилхолін, гастрин та гістамін [7, 180]. Особливу увагу дослідники приділяють саме гастрину, адже цей гормон виділяється у всіх фазах шлункової секреції [205, 206].

В період цефалічної фази виділення шлункового соку є результатом синтезу нюхових, зорових, слухових подразнень у таламусі, гіпоталамусі, лімбічній системі та корі великих півкуль головного мозку. Далі збудження передається до довгастого мозку, в якому розташовані ядра блукаючих нервів. Із закінчень еферентних парасимпатичних волокон виділяється ацетилхолін, що зв'язується з  $M_3$  мускариновими ацетилхоліновими рецепторами на парієтальних і G-клітинах. При розсіченні блукаючих нервів цефалічна фаза зникає [7, 180, 181].

Регуляція шлункової фази секреції також здійснюється за допомогою гастрину. В цьому випадку гастрин може діяти прямо на парієтальну клітину, зв'язуючись з гастринним рецептором ССК-В, за рахунок цього відбувається стимуляція парієтальних клітин через  $Ca^{+2}$ -залежний сигнальний шлях. Другий шлях – дія на ECL- клітини, що продукують гістамін, який через цАМФ активує паракринним шляхом  $H_2$ -гістамінові рецептори парієтальних клітин шлунка. Гастрин стимулює синтез гістаміну в ECL- клітинах шляхом активації ферменту гістидиндекарбоксилази.  $H_2$ -гістамінові рецептори ECL- клітини за принципом зворотного зв'язку регулюють активність гістидиндекарбоксилази і таким чином – продукцію гістаміну [7]. Вивільнення гастрину із G-клітин контролюється комплексом взаємодій стимуляторів і інгібіторів. Серйозний вплив на секрецію гастрину справляє рН в шлунку. Фізіологічними стимуляторами вивільнення гастрину із G-клітин є їжа, але може спостерігатись і пригнічення продукції гастрину

після прийому їжі [207]. Це відбувається, коли ацидофікація спожитих продуктів призводить до падіння рН нижче 3 [102, 208]. При рН < 2,5 вивільнення гастрину зменшується на 80%, а при рН < 1,5 – припиняється зовсім. Взагалі, перші порції їжі справляють буферний вплив, підвищуючи рН в шлунку вище 3, а гідролізати білку викликають виділення гастрину, діючи на слизову оболонку антрума [209]. Таким чином стає зрозумілим чому при хронічній ахлоргідрії (атрофічний гастрит або перніціозна анемія) значно підвищений базальний рівень гастрину. Найбільш інтенсивна відповідь спостерігається при дії ароматичних амінокислот, амінів, пептону [102]. Дуже важливу роль відіграють певні рефлекторні фактори, наприклад розтягнення шлунка. В щурів розтягнення шлунка викликає статистично достовірне, залежне від об'єму збільшення концентрації гастрину в плазмі крові. Проте, у людей такі дані не підтверджуються. Залуження шлункового просвіту, іони кальцію – хімічні фактори, що також призводять до вивільнення гастрину із G-клітин. Так як лігандами кальцій-чутливих рецепторів є амінокислоти і двовалентні метали, а позаклітинний рН впливає на зв'язування лігандів в області рН шлункового вмісту, рН, метал- і нутрієнт-чутливі функції відповідають фізіологічним змінам [210–212].

Секреція гастрину стимулюється при зниженні концентрації гідрохлоридної кислоти. Якщо в шлунку достатня кількість кислоти гастрин не секретується. З віком добовий ритм інтрагастрального рН змінюється. У літніх практично здорових людей інтрагастральний рН протягом доби є вищим ніж у молодих, що особливо має прояв у нічний період. Денні коливання рН пов'язані з прийманням їжі. Показано, що рівень гастрину з віком зростає [213].

Нервова регуляція секреції гастрину опосередкована дією блукаючого нерва, з закінчень якого виділяється ацетилхолін, що справляє стимулюючий вплив. Така дія вагуса була продемонстрована за умови уявної годівлі

[214] та при інсулінпродукуючій гіпоглікемії [215, 216]. Вагальне інгібування виділення гастрину було здійснено за допомогою ваготомії, в результаті якої виникала гіпергастринемія [217, 218]. Встановлено, що виділення гастрину відбувається за допомогою медіатора бомбезину, який є нейротрансмітером [195]. Бомбезин - потенційний стимулятор секреції кислоти в шлунку, кисла відповідь на його незначні дози прямопропорційна ступеню вивільнення гастрину. Бомбезин за своєю структурою неоднорідний. В літературі описано три бомбезиноподібних пептиди: гастринвивільняючий пептид (gastrin-releasing peptide, GRP), нейромедин В та новий бомбезиноподібний пептид (BN-like peptide subtype, BRS-3). За даними останніх років рецептори генів GRP та BRS-3 картовані на Х-хромосомі мишей та людей [219, 220].

Після переходу хімусу зі шлунка у дванадцятипалу кишку починається кишкова фаза шлункової секреції. Шлункова секреція при цьому спочатку зростає, а потім починає гальмуватися. Виділення шлункового соку збуджується під впливом продукування інтестинальних гормонів і подразнення рецепторів дванадцятипалої і порожньої кишок. Наявність рецепторів до гастрину в тонкій кишці, в підшлунковій залозі сприяє збільшенню секреції секретину, холіцистокініну, соматостатину, а також кишкових і панкреатичних ферментів, створюючи таким чином умови для кишкової фази секреції. Слабокислий хімус подразнює рецептори дванадцятипалої кишки чим викликає значне посилення аферентної імпульсації в результаті чого секреція в шлунку збільшується. Цей процес відбувається доки реакція дуодентального вмісту не знизиться кислим шлунковим хімусом до рН 4. Потім включається гальмівний компонент фази [7].

Окрім стимулюючого впливу, існують певні механізми гальмування, що є важливим в регулюванні синтезу гідрохлоридної кислоти парієтальними клітинами шлунка. Існують пептиди, які є інгібіторами

вивільнення гастрину – глюкагон, секретин, вазоактивний інтестинальний пептид [221]. Закислення слизової оболонки антрума ( $\text{pH} < 3.0$ ) є сильним блокатором секреції і стимулятором виділення соматостатину – це так званий механізм зворотнього зв'язку. Така регуляція здійснюється за допомогою капсаїцинчутливих аферентних волокон. Їх збудження призводить до вивільнення із сенсорних нервових закінчень кальцитонін-ген-зв'язаного пептиду (КГЗП). В результаті його впливу на рецептори до КГЗП першого типу, що локалізовані на поверхні D-клітин, відбувається виділення соматостатину і гальмується виділення гастрину із G-клітин [7, 222]. Тобто у здорових людей соматостатин є потенційним інгібітором секреції кислоти в шлунку, індукованої гістаміном. При гіпергастринемії секреція соматостатину зростає. Відомо, що перистальтика шлунка і дванадцятипалої кишки змінюється під впливом різних гормонів, так вона посилюється під впливом холіцистокініну і гастрину та зменшується в наслідок дії секретину, глюкагону і соматостатину. Виділення гастрину збільшує продукцію простагландину E в слизовій шлунка, який має вплив на місцеве розширення судин, посилення кровообігу і фізіологічного набряку слизової шлунка та призводить до міграції лейкоцитів, що приймають участь у перетравлюванні їжі, секретуючи різні ферменти і приносячи до фагоцитозу. Таким чином, простагландини та кальцитонін пригнічують секрецію гастрину.

Отже, регуляція виділення гастрину є багатоскладовим процесом, в якому залучені нервові і гуморальні чинники, а також певні фізичні і хімічні фактори.

Спектр фізіологічної дії гастрину є надзвичайно широким. Окрім найбільш значної дії гастрину *in vivo* – стимуляції шлункової секреції [223] у фізіологічних дозах відбувається інтенсифікація процесу виділення пепсину залозами шлунка. Під впливом гастрину відбувається збільшення секреції води та електролітів підшлунковою залозою, печінкою [224],

бруннеровими залозами. Підвищується рівень утворення ферментів в підшлунковій залозі. Кровопостачання слизової оболонки шлунка, як і будь-якого органа є „маркером” визначення його функціональної активності. Тому при виділенні гастрину, який стимулює продукування кислоти водночас підсилюється кровотік у фундальній частині слизової оболонки шлунка. Під дією гастрину збільшується гістаміндекарбоксилазна активність в слизовій оболонці шлунка щурів [225]. In vitro гастрин був показаний як стимулятор кисневого споживання, накопичення амінопіріну та морфологічної трансформації ізольованих парієтальних клітин ссавців. Показано, що гастрин є ефективним стимулятором панкреатичної ферментативної секреції. Встановлено, що даний гормон відіграє роль в регуляції виділення інсуліну, стимульованого глюкозою [226].

### 1.5.2 Трофічний ефект гастрину

Трофічна дія гастрину на клітини слизової оболонки травного тракту була вперше описана понад 40 років тому в двох незалежних дослідженнях Johnson [227] і Crean [228] показали, що пентагастрин, синтетичний аналог гастрину, що містить активний тетрапептид карбоксильного кінця, призводить до збільшення синтезу білка і маси парієтальних клітин у щурів.

У слизовій шлунку, особливо чутливі до трофічної дії гастрину кислотосекретучі і ентерохромафіноподібні клітини. Видалення ендogenous гастрину, шляхом антрального резекції, призводить до атрофії слизової оболонки, яку можливо запобігти шляхом введення екзогенного гастрину.

Мішенями трофічної дії гастрину є такі клітини слизової оболонки шлунка, як ECL - клітини та А-клітини. Біосинтез і виділення гастрину, який має трофічний ефект [229], регулюється негативної зворотним зв'язком: чим менше кислотність шлункового соку, тим більше синтезується і виділяється

гастрину [230]. Головною мішенню для гастрину є ECL-клітини [231–239]. Стимуляція цих нейроендокринних клітин призводить до виділення гастрину, таким чином гастрин контролює периферичну регуляцію секреції кислоти через паракринну дію гістаміну (рис 1.5).

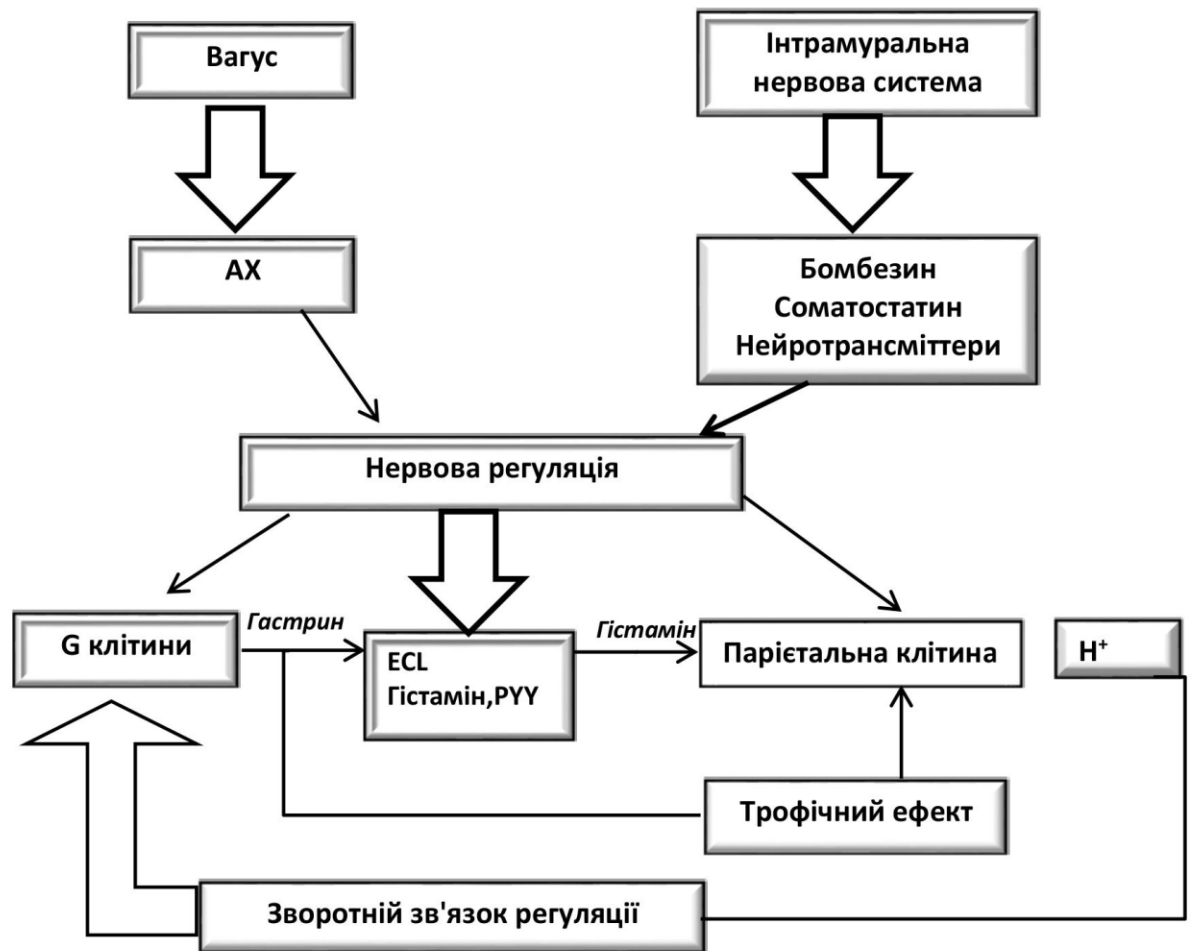


Рис.1.5. Шляхи регуляції шлункової секреції

У дослідженнях на людях показано, що інфузія супрафізіологічних доз гастрину викликає збільшення проліферації клітин слизової оболонки шлунка [240], а підвищена експресія гастрину виявлена в зростаючих клітинах раку шлунка [241]. Вченими показано, що у мишей підвищення в два рази в сироватці крові амідированого гастрину справляє помітне потовщення кислотопродукуючої слизової оболонки шлунка, що підтверджувалося маркером бромдеоксирідіном (BrdU) і вказувало на те, що

85% клітин піддавалось проліферації [242]. Було продемонстровано, що пентагастрин – синтетичний аналог гастрину, збільшував синтез білку та підвищував кількість парієтальних клітин у шурів [243]. Ці дані були підтверджені при використанні амідованих форм гастрину, G17 і G34.

Дослідниками також виявлено, що проліферативними властивостями володіють і попередники гастрину. Зокрема, Koh і Dockray показали, що у трансгенних мишей, які надмірно експресують прогастрин, спостерігалось потовщення слизової кишки в порівнянні з мишами дикого типу. У мишей на 43% відбувалось зростання товщини слизових оболонок ободової кишки, збільшувалась на 41% частка келихоподібних клітин. Крім того вчені відмітили, що введення G-Gly до гастрин-дефіцитних мишей призводило до збільшення на 10% в ободовій кишці товщини слизових оболонок і зростання в ободовій кишці на 81% проліферації (що виміряно за допомогою BrdU) в порівнянні з контрольними мишами. Таким чином, ці дані, з використанням генетичних моделей мишей, показують, що і G-гліцин є потужним стимулятором проліферації товстого кишечника [244]. Гастрин викликає синтез ДНК і збільшення кількості РНК, а також протеїнового вмісту в клубовій кишці та в проксимальному відділі товстої кишки. Антагоністами такої трофічної дії гастрину або його аналогів є секретин та VIP. Холецистокінін при високих дозах може виступати конкурентним інгібітором трофічної дії гастрину в шлунку. Трофічний ефект гастрину також спостерігається в тонкому та товстому кишечниках, але така дія не виявляється у стравоході та антральному відділі шлунка. На підшлункову залозу трофічний вплив цього гормону значно менший, ніж у холецистокініну. Він діє на стовбурові клітини та клітини попередники. В результаті надмірного трофічного впливу гастрину відбуваються морфологічні зміни клітин слизової оболонки шлунка, що може призвести до гіперплазії і навіть до карциноїдів [68].

Дослідниками було зазначено, що тривала гіпергастринемія, внаслідок посилення проліферації, може сприяти виникненню спонтанних мутацій та формуванню пухлин, клітини яких продукують власний гастрин, що стимулює розмноження малігнізованих клітин [20, 245–247]. Ottewell P. D. та співавтори показали, що тривале введення гастрину призводить до гіперплазії слизової оболонки шлунка та селективної гіперплазії ECL-клітин [248].

Вивчення механізму трофічної дії гастрину стало завданням для багатьох дослідників [249–253]. В експерименті проведеному на слизовій оболонці товстої кишки мишей з гіперекспресією показано перехід від нормального епітелію слизової оболонки до епітелію з ознаками гіперпроліферації при дії попередників гастрину, що опосередковувалось порушеннями регуляції багатьох сигнальних шляхів. Важливу роль при цьому відіграє гіперекспресія родини Src-кіназ, які беруть участь у регуляції росту та міграції клітин; при цьому активація Src-кіназ зумовлена як прогастрином, так і гліцильованим гастрином. Src-кінази мають безпосередній вплив на активацію фактора транскрипції STAT3, що відіграє вагомe значення в регуляції життєдіяльності клітин, та гіперактивація якого посилює онкогенний потенціал родини Src-кіназ. До іншого шляху, що опосередковує проліферацію епітелію слизової оболонки товстої кишки і індукується попередниками гастрину, залучаються PI3-кіназа та MAP-кінази, що зумовлює реалізацію антиапоптичних ефектів і проліферації, та, відповідно, пухлинної прогресії. Слід зазначити, що питання щодо рецепторів, які опосередковують описану дію попередників гастрину, залишається дискусійним, хоча в дослідженнях [250] показано, що як гастрин гліцильований, так і прогастрин викликають активацію родини Src-кіназ, але активацію інших шляхів у значно більшій мірі спричиняє лише прогастрин.

Вивчений ще один з можливих шляхів, що опосередковує проліферативну активність амідованого гастрину, який розпочинається з приєднання гастрину до рецептора гастрин-холецистокініну (ССК 2) та індукції каскаду реакцій, результатом яких є активація ERKs протеїнкіназа С-залежним або незалежним шляхом. ERK2 шляхом фосфорилування та активації фактору транскрипції Elk-1 індукує експресію гену c-fos. Активація такого сигнального шляху викликає клітинний ріст та проліферацію [249, 252, 253].

Дослідженнями Jin також було виявлено механізм, який опосередковує реалізацію проліферативного впливу гастрину [251]. Показано, що наслідком стимулюючої дії гастрину є активація фосфоліпази С, яка викликає короткотривале збільшення концентрації інозитол-3-фосфату та іонів кальцію. Таким чином запускається фосфоінозитидний сигнальний каскад, кінцевим результатом якого є активація протеїнкінази С (ПКС). Ініціація ПКС-залежного фосфорилування білків у свою чергу зумовлює виникнення сигналу активації проліферації [254].

Доведено, що стимуляція ССК2-рецепторів гастрином призводить до активації різноманітних внутрішньоклітинних шляхів передачі сигналу, що закінчуються проліферацією клітини. До цих шляхів передачі сигналу залучаються MAP-кінази, однією з мішеней яких є рецептори PPAR $\gamma$ . PPAR $\gamma$  належить до родини ядерних рецепторів-транскрипційних факторів, більшість з яких є ліганд-залежними активаторами транскрипції [249, 255, 256].

## 1.6 Явище гіпергастринемії і її наслідки

Починаючи з 1980 року дослідники звернули увагу на те, що гастрин може спричинювати шлунково-кишковий канцерогенез [257]. Гастрин багатофункціональний транскрипційний активатор, що опосередковується експресією генів. Це в свою чергу супроводжується поділом клітин, їх інвазією, ангиогенезом та анти-апоптичною активністю, які є причинами збільшення потенціалу розвитку злоякісних утворень. В літературі описані різні механізми дії гастрину на клітини слизової оболонки шлунка. Джерелами гастрину можуть бути не тільки слизова оболонка, а і сама пухлина за рахунок активації генів гастрину в її клітинах. За наявності певних мутаційних подій відбувається виділення  $\beta$ -катеніну, який впливає на ген гастрину [68]. Гастрин може стимулювати експресію гену *REG1 $\alpha$*  на ECL клітині, що призводить до синтезу *REG* протеїну, який справляє трофічний ефект на слизову оболонку шлунка та на панкреатичні острівці [258]. Другий фактор, *Shh*, відповідає за підтримання розвитку слизової оболонки шлунка шляхом контролювання процесу проліферації та апоптозу через активацію транскрипційних факторів родини *Gli* [259]. Гастрин показано як непрямий індуктор експресії мРНК *SHH*, протеолітичного процесингу та активації білку *Shh* через секрецію кислоти [260]. Ще один шлях дії гастрину пов'язаний із стимуляцією виділення факторів росту, таких як: EGF (епідермальний фактор росту), TGF $\alpha$  (фактор росту пухлин) та HGF (фактор росту гепатоцитів) [261, 262]. Порушення регуляції цих факторів має місце при передракових змінах. Тому діагностика рівня гастрину є дуже важливою.

Зі збільшенням рівня гастрину пов'язаний механізм розвитку шлункової карциноми [20, 194], яка розвивається на тлі зниження кислотності шлункового соку. Водночас доведено, що нейроендокринні пухлини шлунка I типу асоційовані з атрофічними гастритами [263]. Карциноїд ECL клітин часто розвивається у пацієнтів з гіпергастринемією, у

яких діагностовано аутоімунний гастрит або синдром Золінгера-Елісона [264, 265].

В дослідженнях Ковас та співавторів у 2010 році було показано наявність позитивного зворотного зв'язку за допомогою якої гастрин, діючи через ССК2 рецептор, збільшує власну експресію в ракових клітинах шлунково-кишкового раку [266]. Така аутокринна регуляція раніше не була описана ні для будь-якого іншого гастроінтестинального гормону. У зв'язку з цим рівень гастрину в сироватці крові розглядається як біомаркер передракових станів і раку шлунка [267, 268].

Гастрин та його проміжні попередники мають трофічний ефект як на нормальну тканину так і стимулюють ріст багатьох різновидів пухлин [64, 66, 67, 269–271]. Хакансон та співвтори [272, 273] стверджували, що омепразолвикликана гіпергастринемія стимулювала ріст тільки в слизовій оболонці шлунка щурів, мурчаків, курчат та хом'яків. Проте інші численні дослідження, проведені як на тваринах *in vivo*, так і з клітинами пухлини показали трофічну дію гастрину на злоякісні утворення в різних органах [64, 65, 274, 275], включаючи такі, як підшлункова залоза [64, 246, 276, 277], печінка [278], стравохід [279, 280], та товстий кишечник [247, 281, 282]. Хоча немає даних, які б чітко встановлювали, що у людини гіпергастринемія, обумовлена багатьма чинниками (ІПП, гастринома, ахлоргідрія) асоційована зі збільшенням ризику виникнення раку через будь-яку з цих причин [65]. Проте, гастрин або гастрин-зв'язані пептиди можуть мати відношення до росту і/або розвитку раку товстого кишечника, на що звертають увагу дослідники вже більш ніж 10 років [270, 271, 283]. В дослідженнях кінця 90-х початку 2000-х значна увага вчених була приділена ролі гастрину в рості/розвитку раку стравоходу та стравохіду Барретта, що має підвищений ризик виникнення раку [276, 279, 280, 284, 285]. Більшість досліджень, проведених на тваринах та *in vitro* демонструють, що гастрин може стимулювати розвиток раку товстого кишечника [65, 242, 247, 270, 282, 286].

Ці роботи вказують на те, що гастрин-зв'язані пептиди можуть синтезуватись самою пухлиною товстого кишечника, хоча залишається суперечливим питання про типи гастрин-зв'язаних пептидів, які стають причиною цього [65, 269, 283, 287]. Частково увага приділяється попередникам гастрину через те, що деякі дослідження показують ефект стимуляції росту на слизову оболонку товстого кишечника і на рак товстого кишечника [66, 269, 270, 288].

Протиріччя завжди існує і в тому чи мають такі ракові клітини  $SSK_B$  рецептори, якийсь інші не  $SSK_B/SSK_A$  рецептори або ніякий, ні  $SSK_A$  ні  $SSK_B$  з певною активністю [269, 271, 289]. Однак, клінічні та епідеміологічні дослідження, проведені за участю пацієнтів із гіпергастринемічними станами, включаючи синдром Золлінгера-Еллісона [290, 291] та атрофічний гастрит [292–295] не привнесли ніякої ясності у випадках появи раку товстого кишечника і поліпів у цих пацієнтів [271]. І якщо навіть ці дослідження не демонструють ніякого зростання пухлини у пацієнтів при гіпергастринемічних станах (синдром Золлінгера-Еллісона, атрофічний гастрит) все ж деякі роботи вказують на потенціальну небезпеку. В одному випадку вказується, що при синдромі Золлінгера-Еллісона підвищується проліферативна активність клітин слизової оболонки товстої кишки. В іншому випадку [296] підвищується проліферативна активність клітин прямої кишки у пацієнтів з гіпергастринемією (синдром Золлінгера-Еллісона, атрофічний гастрит), хоча гіперплазії не спостерігалось [290]. При цьому більшість досліджень не підтримують значення амідованого гастрину в утворенні колоректального раку [270], ймовірність аутокринної дії, що включає неамідований гастрин – питання досі відкрите [270, 271, 289]. Тільки детальні дослідження, проведені на пацієнтах з синдромом Золлінгера-Еллісона допоможуть встановити важливість попередників гастрину та неамідованих форм гастрину у стимуляції колоректальних пухлини, тому, що

гастринома секретує велику кількість цих форм в доповнення до повністю готового амідованого гастрину [287, 297].

Гастрин може стимулювати ріст пухлин підшлункової залози, печінки та стравоходу [67, 242, 271] . На сьогоднішній день проводяться дослідження для доказу того, що хронічне застосування ППП збільшує можливість появи кожної з цих злоякісних утворень. Не дивлячись на те, що існує не багато робіт у пацієнтів з синдромом Золлінгера-Еллісона, які б показували збільшення виникнення таких пухлин, 4 епідеміологічних дослідження [242, 298–300] у хворих з перніціозною анемією вказують на збільшення виникнення раку підшлункової залози, три роботи [299–301] – раку стравоходу та інші дослідження показали наявність буккальної каверни та/або глоткової пухлини, [292], меланоми [292], багаточисельної мієломи [292, 299], та лейкемії [292, 299]. На противагу цьому є дослідження проведені також за участю хворих з перніціозною анемією, але в яких не спостерігалось виникнення раку підшлункової залози [292, 301] . Інші роботи мали протилежні результати до тих, що наведені вище і заперечували виникнення раку стравоходу [292], або будь-яких інших видів злоякісних утворень[300]. Наразі активно вивчається важливість гастрину, як стимулятора розвитку або росту раку стравоходу. Деякі дослідники [285, 302] вказують, що лікування блокаторами протонної помпи, наслідки якого проявляється в явищі гіпергастринемії, може сприяти виникненню пухлині стравоходу. Стравохід Барретта є предраковим станом, який асоціюється зі збільшенням ризику виникнення анедокарциноми, що визначається як метапластичне перетворення нормального сквамозного епітелію у призматичний епітелій травного тракту з наявністю бокалоподібних клітин [303]. Дослідження демонструють підвищення рівня гастрину в слизовій оболонці стравоходу Барретта [304, 305] так само, як і наявність гастринових рецепторів(CCK2 receptor) [279, 305, 306]. Було зафіксовано, що гастрин стимулює зростання рівню тимідину в слизовій оболонці стравоходу

Барретта при взяті біопсії [285]. Крім того, гастрин стимулює циклооксигеназу-2, яка виступає в інших клітинах як інгібітор апоптозу, стимулятор проліферації клітин, активатор ангиогенезу та стимулятор інвазії клітин раку [276, 279, 285, 306, 307]. Було доведено, що пухлина стравоходу має  $SSK_2$  рецептори і гастрин може стимулювати її ріст шляхом активації цих рецепторів [270, 280].

### **1.7 Гіпергастринемія спричинена бактеріальною колонізацією**

Тривала гіпоацидність шлункового соку супроводжується не лише підвищенням рівня гастрину у крові, а і сприяє розвитку дисбіотичних порушень в шлунково-кишковому тракті.

В здоровому організмі, зазвичай, бактеріальній колонізації проксимального відділу травного тракту запобігають гідрохлоридна кислота та моторика травного тракту. Навіть деякий час вважали, що шлунок завдяки великій концентрації кислоти і протеолітичних ферментів повинен бути стерильним. І тільки відкриття *Helicobacter pylori* стало поштовхом для більш детального дослідження мікрофлори шлунка.

В нормі в проксимальному відділі травного тракту міститься не більше  $10^4$  колонієутворюючих одиниць на 1 мл (КУО/мл), а надмірне бактеріальне зростання визначається як кількість, що не менше  $10^5$  КУО/мл [308]. Бактерії можуть потрапляти до порожнини шлунка трьома шляхами. Заселення може відбуватися за рахунок:

- 1) попадання бактерій з їжею;
- 2) надходження мікрофлори ротової порожнини та глотки в шлунок;
- 3) міграції внаслідок ентеро-гастрального рефлекса з тонкого або товстого кишечника.

Зменшення кислотності шлункового соку з будь-якої причини може призводити до надмірного бактеріального росту в шлунку та тонкому кишечнику. Класичною природною причиною зменшення кислотності є аутоімунні гастрити, які виникають в результаті вироблення антитіл до парієтальних клітин при перніціозній анемії. Дистальна гастректомія, при якій видаляються G-клітини антрального відділу, також може спричинити надмірний бактеріальний ріст. Прийом фармакологічних препаратів, які пригнічують секрецію кислоти, спочатку блокаторів  $H_2$ -рецепторів [309–312], а пізніше інгібіторів протонної помпи [71, 73, 313, 314] викликають бактеріальну колонізацію шлунка. Проте, хронічна інфекція *Helicobacter pylori*, що призводить до шлункової атрофії та втрати маси парієтальних клітин, є найбільш загальною причиною гіпохлоргідрії та ахлоргідрії в світі.

Виявлена різниця між організмами в шлунку пацієнтів із зменшеною кислотністю внаслідок аутоімунного гастриту порівняно з пацієнтами, які приймають кислотознижуючі препарати. Якщо у першій групі пацієнтів домінуючими є коліформи, то у другій групі виявлені грам-позитивні організми. Причина цієї різниці незрозуміла, хоча її можна пов'язати із короткою тривалістю гіпохлоргідрії при пригніченні кислотності, що призводить до колонізації організмами з ротоглотки [72, 83].

Контамінація бактеріальною мікрофлори в шлунку внаслідок падіння рівня шлункової секреції на фоні прийому антисекреторних препаратів може бути одним механізмів розвитку гіпергастринемії. Такий ефект може досягатися внаслідок прямого впливу бактеріальних білків на експресію гену гастрину або через вплив цитокінів, що продукуються інфільтрованими запальними клітинами.

Показано, що бактеріальний білок (OmpA-подібний білок), ізольований і клонований із *Acinetobacter* spp., прямо посилює експресію генів гастрину, при цьому вивільняючи з клітин слизової шлунка прозапального цитокіна IL-8 [315], який є впливовим по відношенню до нейтрофільних лейкоцитів. Інші

аеробні бактерії також здатні посилювати експресію гастрину на фоні зниженої шлункової секреції [82].

Дослідження Jump R показали, що використання блокаторів протонної помпи при лікуванні гастроезофагально рефлюксної хвороби підвищує рН шлунка, що призводить до зменшення захисту проти бактерій та сприяє колонізації *Clostridium difficile* [71]. В роботах як вітчизняних [54, 316] так і закордонних [317, 318] дослідників було показано, що пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти не залежно від того, чи то були блокатори H<sub>2</sub> гістамінових рецепторів, чи блокатори протонної помпи супроводжувалось надмірною колонізацією шлунка щурів грибами роду *Candida*. Також існують роботи які відмічають негативний вплив грибів *Candida* на загоєння запальних уражень в травному тракті.

Гіпоацидність шлункового соку, ахилія та прийом інгібіторів протонної помпи сприяє інфікуванню *Helicobacter pylori* та є фактором підвищення експресії гастрину.

При гострому інфікуванні *Helicobacter pylori* пригнічується активність H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази що призводить до зменшення виділення кислоти [319]. Основною мішенню даної бактерії є G-клітини слизової шлунка. Гіпергастринемія в даному випадку обумовлена надмірною стимуляцією гастринпродукуючих клітин цитокінами, які виділяються клітинами зони запалення власної слизової оболонки. Секреція гастрину значно підвищується при дії ІІ-1 та фактора некрозу пухлин на G-клітини, на мембрані яких знаходяться відповідні рецептори [317]. Сам гастрин може безпосередньо стимулювати ріст *Helicobacter pylori* [320]. Ще одним допоміжним фактором вивільнення гастрину є залуження середовища, внаслідок утворення аміаку в процесі життєдіяльності бактерій [321]. Тому було показано, що *H.pylori* викликає порушення проліферації та апоптозу епітеліоцитів [322], що може призвести до гіперплазії та метаплазії епітелію

слизової оболонки шлунка. В результаті підвищується ризик появи раку шлунка та MALT-лімфоми [323].

Дослідження показали, що є прямий зв'язок між бактеріальним інфікуванням шлунку та секрецією гастрину [324]. Наразі встановлено, що колонізація шлунку *H.pylori* запускає імунну відповідь Т-хелперів першого порядку (Th- 1) [81] з виділенням головного Th- 1 цитокіну – інтерферону-гамма, який стимулює секрецію гастрину. Термін цитокіни вперше застосував S. Cohen в 1974 г. Пізніше було встановлено, що це ендogenous біологічно активні медіатори, які беруть участь у розвитку захворювань всіх систем органів, зокрема і шлунково-кишкового тракту. Показано, що при патологічних станах рівень цитокінів підвищується. Індукторами посилення синтезу цитокінів є бактерії і віруси, а саме продукти їх життєдіяльності, токсини, метаболіти. Наразі встановлено, що інтерлейкін-1 $\beta$  є потужним фактором формування атрофії шлункового епітелію [325].

*Helicobacter pylori* також впливає на ступінь бактеріальної колонізації нехелікобактерними видами, особливо у пацієнтів, що приймають блокатори протонної помпи. Інфіковані *Helicobacter pylori* пацієнти, які приймають блокатори протонної помпи, показують більший ступінь колонізації у порівнянні з *Helicobacter pylori* негативними пацієнтами.

На Міжнародній конференції (2012, Каліфорнія) присвяченій дослідженням з профілактики раку J L. Merchant. була представлена робота в якій зазначалось, що у *Helicobacter*-індукованій запальній реакції, а також подальшій метаплазії клітин слизової шлунка, задіяні Sonic Hedgehog (Shh) ліганди, що знаходяться на парієтальній клітині.

Hedgehog ген був виділений при вивченні частини геному дрозофіли, відповідального за процеси поділу на стадії ембріогенезу. Втрата секреції білка Hedgehog призводить до формування личинок у вигляді колючих куль, що нагадують їжачка (цим пояснюється і назва гена, Hedgehog в перекладі з англійського - їжачок). Shh ліганд виробляється спеціальними Shh

продукуючими клітинами у вигляді білка-попередника. Останні досягнення в області гастроентерології показують, що в шлунку Shh виділяючись з базолатеральної мембрани парієтальної клітини [326, 327] відповідають за правильне диференціювання клітин шлункових залоз [326].

*Helicobacter Pylori* інфекція призводить до гострої індукції Shh в шлунку. Механізм, за допомогою якого бактерія індукує Shh ще вивчається. Тільки у 2015 році групою вчених було зроблено припущення, що *Helicobacter pylori* індукує експресію Shh з парієтальних клітин опосередковано через активацію сигналізації NFκB [326]. Відомо, що безпосередній контакт бактерій з клітинами слизової збільшує вміст ядерного фактора транскрипції NF-κB, який поряд з іншими ефектами призводить до збільшення продукції гастрину [80].

В літературі існують також відомості, що виділення Shh парієтальними клітинами регулюється гастрином [328, 329]. Дослідження проведені з використанням моделі гастрин-дефіцитних мишей показують, що значне зниження експресії білка Shh відбувається у гастрин-дефіцитних мишей, тоді як реінфузія гастрину успішно відновлюється виділення Shh, що вказує на важливу регулюючу роль гастрину [328]. Проте, у недавніх дослідженнях Хіао і співавт., проведених на мишах, було показано, що при нокауті парієтальних клітин за Shh (НКCre / ShhKO), у тварин розвивалась гіпергастринемія, про що свідчило підвищення концентрації циркулюючого гастрину [63]. Схематично взаємозв'язок Shh із гастрином можна представити у вигляді схеми рис. 1.6., яку можна описати наступним чином:

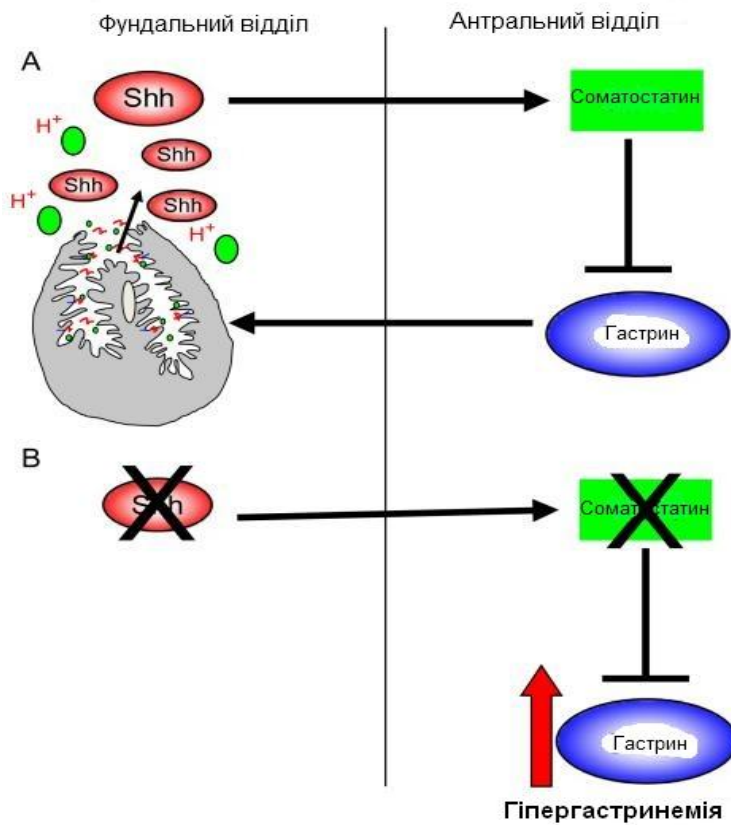


Рис. 1.6. Схема взаємозв'язку Shh із продукцією гастрину.

Shh є регулятором негативного зворотного зв'язку гастрин-гідрохлоридна кислота шлунка. (А) За нормальної роботи шлунка, гастрин стимулює секрецію кислоти, що супроводжується залученням Shh і його вивільненням із парієтальних клітин. Shh, в свою чергу, індукує виділення соматостатину, який пригнічує секрецію гастрину з G-клітин і кислоти з парієтальних клітин. (В) Втрата шлункового Shh призводить до зменшення виділення соматостатину і подальшого збільшення концентрації гастрину у сироватці крові (гіпергастринемії) і, таким чином, до загального порушення негативного зворотного зв'язку між гастрином та секрецією гідрохлоридної кислоти шлунком.

Інфекція *Helicobacter Pylori* зменшує експресію Shh, що призводить до атрофії парієтальних клітин, гіпохлоргідрії, як наслідок, провокує розвиток раку шлунку.

Хелікобактер абсолютно правильно був визначений як значний канцероген, але проведені дослідження ще раз підкреслюють, що інші організми можуть також викликати хронічний гастрит, що в кінцевому підсумку може призвести до раку

## **1.8 Механізми бактеріального канцерогенеза**

На сьогодні більшістю досліджень показано, що інфекційну причину мають приблизно 20% всіх випадків раку. Підтвердженням ролі бактеріальної клітини в розвитку злоякісної пухлини є той факт, що рак частіше розвивається в органах з інтенсивним епітеліальних-мікробним взаємодією (товста кишка, легені, печінка) і рідше в тих органах, клітини якого не контактують з мікробіотою (суглоби, головний мозок).

В появі злоякісних новоутворень важливу роль відіграють індивідуальні особливості організму, в тому числі і генетичні [74, 330], але головною причиною розвитку різних типів злоякісних пухлин є все ж таки хронічне запалення [74, 79]. Запалення, яке виникає в наслідок пошкодження фізіологічних бар'єрів вважають початковим механізмом бактеріального канцерогенезу. Вже більш ніж 150 років тому Р.Вірховим при спостереженні в місцях злоякісної пухлини накопичення лейкоцитів був описаний взаємозв'язок між раком шлунка і запаленням. Те, що найчастіше пухлина в шлунку локалізується на малій кривизні, Вірхов пояснив травматичним запаленням, яке виникає внаслідок проходження їжі. Наприкінці 19 століття у 1893 році В.Яворським була відкрита бактерія *Helicobacter pylori*, яку за останні 10 років визнали, як канцероген 1 класу, а у 2005 році за її дослідження [331] Маршал і Уорен отримали Нобелівську премію. Саме *Helicobacter pylori* вважають головним канцерогеном [75], який залучений в каскад реакцій, що відбувається в слизовій шлунка в процесі переродження

атрофічного гастриту в рак шлунка. Про що в своїх дослідженнях добре описав Korea [84], вказуючи на те, що раку шлунка передують каскад передракових уражень. Перші значні гістологічні зміни викликає хронічне запалення, яке може зберігатися при не-атрофічному хронічному гастриті (без втрати залоз), що згодом може призвести до мультифокального атрофічного гастриту [332], а це вже є першим реальним кроком передракового каскаду. Наступні кроки: кишкова метаплазія ("повна", або "неповна"); дисплазія, спочатку помірно виражена, а потім важка дисплазія (еквівалентна "рак in situ"). Наступний крок є інвазивним раком, який, як вважають, пов'язаний з деградацією міжклітинного матриксу. Ці процеси схематично представлені на рис.1.7.

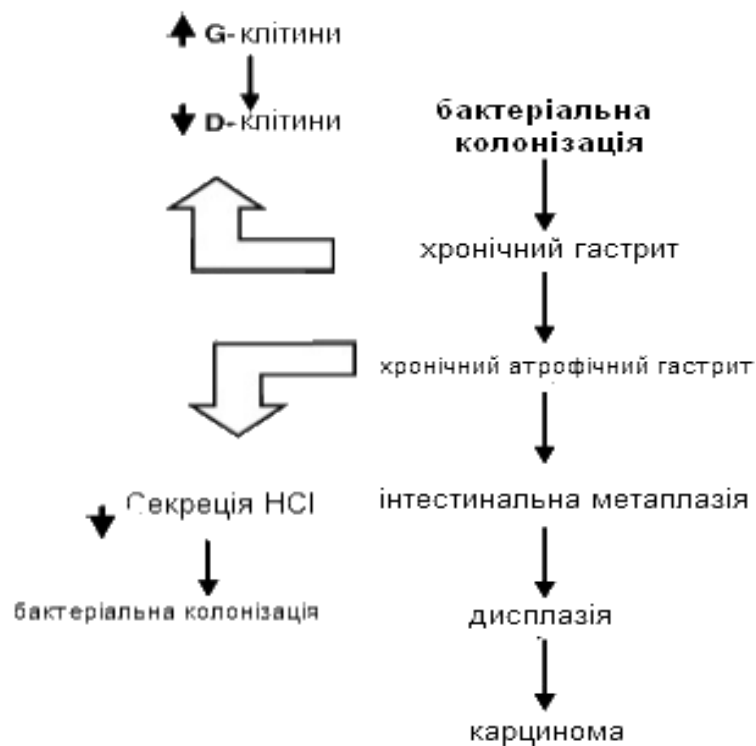


Рис.1.7. Каскад перетворень, що виникають внаслідок бактеріальної колонізації.

Нині достеменно відомо, що і хронічне запалення, і канцерогенез реалізуються через одні й ті ж рецептори і сигнальні молекулярні шляхи. Це дало підставу віднести запалення до одного з етапів раку [76].

У відповідь на дисбіоз і хронічне пошкодження тканин бактеріальної етіології запускається цілий каскад молекулярних механізмів з активації численних рецепторів і ядерних факторів транскрипції, в тому числі MAMPs, TLRs, MyD88, NLRs, NOD2, NF- $\kappa$ B, STAT3, наслідком чого є продукція прозапальних цитокінів та інших сигнальних молекул. Рецептори і сигнальні шляхи імунної системи є не тільки учасниками запального каскаду, але одночасно і промоторами канцерогенезу в товстій кишці, печінці, підшлунковій залозі та шкірі.

Існує два основні механізми пошкодження клітин бактеріями: виробництво генотоксинів і синтез патологічних метаболітів.

Деякі бактерії здатні пошкоджувати ДНК клітин господаря за допомогою продукції генотоксинів - токсичних активних форм кисню і реактивного азоту. Класичними прикладами генотоксинів є колібактин, який продукується деякими штамами сапрофітної кишкової палички (*E. coli*), і цитотоксичний некротичний фактор, вироблений *B. Fragilis*. *Helicobacter spp.*, *Salmonella enterica* Serovar *paratyphi*. Генотоксини цих бактерій можуть індукувати ушкодження ДНК, формуючи сильні ковалентні зв'язки між ароматичними амінами, та призводити до мутацій і хромосомної нестабільності, які можуть бути залучені в розвиток раку або швидке старіння інфікованої клітини. [333, 334].

Механізм бактеріального канцерогенезу тісно пов'язаний з метаболічною активністю мікробіоти. Метаболіти бактерій можуть впливати на індукцію і прогресування гастроінтестинального раку. Різні бактеріальні метаболіти можуть викликати нестабільність генома людських клітин.

Серед канцерогенних метаболітів кишкової мікрофлори найбільш вивченими є ацетальдегід і вторинні жовчні кислоти [335–337]. Одним із

шляхів, через які ацетальдегід сприяє утворенню раку є втручання в процес реплікації ДНК, коли клітини діляться. Крім того, ацетальдегід погіршує процес, за допомогою якого відновлюється природні пошкодження ДНК, шляхом пригнічення ферменту, який має важливе значення для відновлення певного типу пошкодження ДНК. На додаток до цих механізмів, оцтовий альдегід може взаємодіяти з ДНК будівельних блоків з утворенням нових молекул [338].

Одним з найбільш важливих цитотоксичних ефектів вторинних жовчних кислот є збільшення виробництва активних форм кисню та азоту, яке відбувається через безліч шляхів, пов'язаних з деструкцією клітинної мембрани і мітохондрій [339]. Вторинні жовчні кислоти індують проліферацію або загибель клітин в епітеліальних клітинах ободової кишки шляхом активації ядерного фактору каппа (NF-κB) [340]. Окислювально-відновний-чутливий чинник транскрипції NF-κB також має важливе значення в багатьох клітинних процесах, таких як запалення і апоптоз [337]. Стійка активація цього фактора при коліті в кінцевому результаті викликає рак товстої кишки [341].

Згідно даних літератури процес канцерогенезу тісно пов'язаний з тривалим пригніченням шлункової секреції, що може сприяти надмірному заселенню шлунка нітробактеріями. Даний процес супроводжується, в свою чергу, посиленою продукцією нітрузоамінов, наділених канцерогенними властивостями [342].

### **1.8.1 Роль *Helicobacter pylori* в канцерогенезі**

Процеси які відбуваються при колонізації шлунка *Helicobacter pylori* мають як спільні риси з інвазіями інших бактерій так і свої, характерні саме для *Helicobacter* особливості. Але, як вже неодноразово зазначалося, будь

яке бактеріальне інфікування супроводжується процесом запалення на яке реагує імунна система. Так, при потраплянні в організм бактерія контактує з толл-подібними рецепторами (toll-like receptors - TLR) слизових оболонок травного тракту. Відомо, що епітеліоцити шлунка експресують TLR 2, 4, 5 і 9-го типів, які, відповідно, взаємодіють з ліпопротеїнами, ліпополісахаринами і флагелінами бактерії [343, 344]. Активація TLR впливає на секрецію цитокінів мукоцитами, впливаючи, таким чином, на подальший процесинг і презентацію антигенів збудника клітинам хазяїна [345].

Взаємодія *Helicobacter pylori* з організмом господаря здійснюється за допомогою і інших рецепторних контактів. Так, ген *babA*, що кодує зовнішні мембранні білки *Helicobacter pylori*, обумовлює адгезію бактерії шляхом зв'язування з антигеном епітеліальної клітини, так званим Lewis -антигеном. Крім цього, субодиниця В уреаз *Helicobacter pylori* здатна зв'язуватися з рецептором CD74, який експресується на мембрані епітеліоцитів слизової оболонки шлунка, з подальшою стимуляцією вироблення і вивільнення інтерлейкіну-8 (ІЛ-8) [346]. У свою чергу ІЛ-8, що секретується епітеліоцитами є потужним хемоаттрактантом по відношенню до нейтрофільних лейкоцитів. Залучення нейтрофілів у власну пластинку слизової оболонки шлунка пов'язано і з відповіддю організму на водорозчинний білок, який секретується збудником у відповідь на зниження рН середовища. Ген, що кодує синтез білка (*napA-neutrophil-activating protein*), притаманний усім штамам бактерії, що і визначає характерну для інфікування *Helicobacter pylori* інфільтрацію слизової оболонки шлунка поліморфно-ядерними лейкоцитами [347].

Слід зазначити, що важливу роль відіграє мукозальна відповідь організму, в якій задіяний специфічний для даної бактерії ген *CagA*. *CagA*-протеїн містить радикали тирозину, які в епітеліальної клітині підлягають фосфорилуванню. Результатом цього фосфорилування є численні ефекти,

що мають важливе патогенетичне значення: новий продукт транскрипції викликає вироблення мукоцитами ІЛ-8, активацію проліферації та апоптозу, зміну цитоскелета епітеліальної клітини, що робить її більш зручною для адгезії бактерій [348]. Внутрішньоклітинний пептидоглікан, транспортований в цитоплазму мукоцитами через CagA-опосередкований контакт між *Helicobacter pylori* і епітеліальної клітиною, також відіграє важливу роль в активації неспецифічного відповіді. У розпізнаванні бактеріальних пептидогліканів беруть участь два члени сімейства протеїнів: Nod1 (також відомий як CARD4) і Nod2 (CARD15) у вигляді внутрішньоклітинного (Nod1) і позаклітинного (Nod2) рецепторів для грамнегативних бактерій в епітеліальних клітинах. Внутрішньоклітинний пептидоглікан, що передається *Helicobacter pylori*, розпізнається Nod1 з подальшою активацією прозапальних відповіді за допомогою активації ядерного чинника каппа В (NF- $\kappa$ B) [349].

Слизова оболонка шлунка інфікованих організмів містить достатній пул популяції макрофагів, які продукують оксид азоту, ІЛ-6, ІЛ-1 $\beta$ , фактор некрозу пухлини- $\alpha$  (ФНП- $\alpha$ ), ІЛ-12, що сприяє формуванню Th1-відповіді. Також в меншій кількості присутні і дендритні клітини, які реагують на взаємодію з *Helicobacter pylori* продукцією ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, ІЛ-12 і підвищеним рівнем експресії CD80, CD83, CD86 і HLA-DR [350]. Інфільтрація слизової оболонки мононуклеарами слідом за нейтрофилами відображає хронізацію запалення і специфічну місцеву імунну відповідь. Слід зазначити, що інфільтрація при хелікобактерасоційованому запаленні може бути не тільки дифузійною, але і супроводжуватися формуванням лімфоїдних фолікулів, які стають «постачальниками» клітин, залучених в реалізацію локального імунної відповіді. При формуванні місцевого імунної відповіді лімфоїдні фолікули постачають у власну пластинку слизової оболонки шлунка Т- і В-лімфоцити, які під впливом антигенів збудника і сигналів від Т-лімфоцитів дають початок клонам плазматичних клітин, які

синтезують антитіла різних класів до антигенів збудника [351]. Клітини, які продукують специфічні відносно *Helicobacter pylori* антитіла - IgM і IgA, визначаються в слизовій оболонці шлунка інфікованих, а IgA з секреторним компонентом виявляється в шлунковому соці. Число клітин, які продукують IgM- і IgA- в біоптатах слизової оболонки антрального відділу шлунка в 40-50 разів більше, ніж серед неінфікованих. Проте продукція антитіл не закінчується ерадикацією бактерії. Ймовірно, шлункова слиз є захисним для збудника нішею. Мінливість геному *Helicobacter pylori*, мімікрія по відношенню до Lewis-антигенів та антигенів протонної помпи [352, 353] супроводжується утворенням аутоантитіл серед 20-30% інфікованих, що призводить до більш швидкому розвитку гіпо- і ахлоргідрії, пов'язаної з пошкодженням клітин шлунка [353].

Запалення в слизовій оболонці шлунка викликане *Helicobacter pylori* асоційоване зі зміною секреції кислоти та активністю процесів клітинного оновлення.

У переважної більшості інфікованих спостерігається гіпергастринемія різного ступеня вираженості, обумовлена перш за все гіперстимуляцією G-клітин цитокінами, які виділяються клітинами запального інфільтрату власної пластинки слизової оболонки. Доведено також, що не тільки цитокіни, а й безпосередній контакт мононуклеаров з G-клітинами здатний стимулювати секрецію гастрину. Крім того, при безпосередньому контакті бактерій з епітеліоцитами в останніх збільшується вміст ядерного фактора транскрипції NF-κB, який поряд з іншими ефектами призводить до збільшення продукції гастрину. Крім цього, IL-8, що секретується епітеліоцитами під дією *Helicobacter pylori*, гальмує активність D-клітин, що призводить до зниження концентрації соматостатину. Вкрай важливими є дані, що свідчать про те, що вміст імунореактивних G- і D-клітин в слизовій оболонці шлунка не залежить від ступеня колонізації *Helicobacter pylori*, але корелює зі ступенем запальних змін, а також топографією гастриту. Антрум-

гастрит супроводжується стимуляцією G-клітин і пригніченням D-клітин. В цей час у тілі шлунка запалення ще немає, тому депресивний вплив ІЛ-1 на парієтальні клітини відсутній. Гіперхлоргідрія призводить до потрапляння кислого вмісту в дванадцятипалу кишку, що сприяє виникненню патологічних процесів (шлунковій метаплазії, заселенню *Helicobacter pylori*, виразці). Звідси і позначення антрум-гастриту як «виразковий». Зростання колонізації *Helicobacter pylori* та переміщення його в тіло шлунка, яке виникає внаслідок виснаження парієтальних клітин і підвищення рН антральному відділі, зумовлює паракринний вплив цитокінів Th1-лімфоцитів і макрофагів - ІЛ-1 $\beta$ , інтерферону- $\gamma$  (ІФН- $\gamma$ ) –що здійснюють інгібуючий вплив на парієтальні і ентерохромафінні клітини, та призводить до гіпо-, а потім і ахлоргідрії.[80].

Враховуючи всі вищезгадані наслідки до яких призводить бактеріальна колонізація можна заключити, що саме ерадикація *Helicobacter pylori* є одним з першочергових завдань у профілактиці раку шлунка.

### **1.9 Дисбіоз та методи його профілактики**

Аналіз вище наведеної літератури вказує на те, що одним із впливових негативних факторів, який виникає в результаті гіпоацидності шлункового соку є порушення мікробіоценозу, та заселення шлунку патогенною та умовно-патогенною флорою [45, 47, 49, 50, 354, 355]. Періодично і в здоровому організмі відбувається колонізація шлунка транзитною мікрофлорою і висівають такі види бактерій, як *Veillonella*, *Clostridium*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Staphylococcus*, дріжджі [356, 357]. Транзитні бактерії встановлюють невеликі колонії протягом коротких періодів часу, та не колонізуються в слизовій оболонці шлунка, окрім бактерії *H. Pylori*, яка пошкоджує слизову оболонку шлунка складним

комплексом бактеріальних механізмів. *H. Pylori* уникає ліквідації в шлунку, через уреазу, та вироблення аміаку з сечовини. Аміак нейтралізує кислоти, тим самим дозволяє бактерії проникати через шар слизу, колонізуватися в епітелії і стимулювати складну запальну відповідь, яка пошкоджує слизову оболонку шлунка і призводить до хронічного гастриту в більшості інфікованих людей, або виразки, а також пухлин шлунка. За нормальних умов завдяки рефлюксу жовчних кислот в шлунок, товщині шару слизу і ефективності шлункової перистальтики перешкоджається бактеріальна колонізація шлунка [47].

Склад шлункової мікробіоти є динамічним і залежить від таких факторів, як харчові звички, використання лікарських засобів, запалення слизової оболонки шлунка і, звичайно ж, антихелікобактерної терапії. В літературі останніх років представлені дослідження, які демонструють вплив дієти на склад мікрофлори кишечника у людей [358, 359]. Проте, доказів у дослідженнях проведених на тваринах про вплив дієти на шлункову мікробіоту існує не багато [360].

Бактеріальна мікрофлора шлунка разом з гідрохлоридною кислотою відіграє важливу роль у сприянні колонізаційній резистентності проти патогенних мікроорганізмів в шлунку.

На сьогодні вже доведено, що рото-глоткові і фекально-подібні бактерії поширені у хворих після терапії інгібіторами протонної помпи. Вчені показують, що лікування протягом 2 тижнів інгібіторами протонної помпи знижує секрецію шлункової кислоти на 75%, і цього досить, щоб забезпечити бактеріальну колонізацію шлунка [50].

Антибіотики, як відомо, також мають негативні екологічні наслідки для гастроінтестинальної мікрофлори. Дослідження на тваринах свідчать, що лікування пеніциліном зменшує популяції лактобацил і сприяє колонізації епітелію шлунка дріжджами. З використанням культурозалежних і культуронезалежних підходів Mason та співавтори показали, що лікування

цефоперазоном у людини викликає довгострокову зміну мікрофлори шлунка, а саме, скорочення кількості лактобацил і надмірно швидке зростання ентерококів [361].

Мікробіота шлунка переважно складається з лактобактерій, серед яких *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* і *Lactobacillus fermentum*. Колонізація мишачого шлунка декількома видами *Lactobacillus* показала, чим нижче кислотність в шлунку мишей тим краще лактобактерії колонізували шлунок. Крім того, за допомогою гістологічного аналізу було показано, що у цих мишей не спостерігалось жодних явних запальних змін в шлунках [362]. З іншого боку, Zavros і ін. [324] повідомили, що гіпохлоргідрія індукованих мишей, сприяє бактеріальному росту в шлунку, що призводить до запалення слизової оболонки. Результати досліджень лактобактерій-асоційованих мишей показали різке зниження експресії гена гастрину в порівнянні з неінфікованими мишами. Імуногістохімія також продемонструвала, що кількість гастрин-позитивних (гастрин (+)) клітин значно нижче, в лактобактерій-асоційованих мишей, ніж у вільних від бактерій мишей. У дослідних мишей рівні РНК *Nkx6.3*, *Pdx1* і *Ngn3*, які є транскрипційними регуляторами диференціювання G клітин в шлунку були також значно нижче [363].

Дослідження на тваринах і людях доводять, що колонізація шлунка бактеріями, які зазвичай колонізують кишечник може вплинути на розвиток Н. Рулогі-асоційованої інфекції і збільшує ризик розвитку раку шлунка [364].

Зараз вже доведений тісний взаємозв'язок між раком та інфекцією [365, 366]. Травний тракт має контакт з великою кількістю чужорідних агентів та має особливі специфічні та неспецифічні механізми захисту. Мікроби-резиденти сприяють як здоров'ю так і хворобам макроорганізма. Дослідники починають визначати мікроорганізми, які сприяють розвитку шлунково-кишкових злоякісних пухлин і механізмів, за допомогою яких це відбувається. Резидентні мікроорганізми можуть викликати запалення, що

призводить до проліферації клітин і динамічних змін стовбурових клітин, що може призвести до порушень в цілісності ДНК і імунній регуляції та стимулювати канцерогенез. Дослідження проведені на людях і гризунах на різних моделях раку виявили зміни в мікробіоті шлунка, стравоходу і товстої кишки, які збільшують ризик розвитку злоякісних новоутворень [77]. Отже, надмірний бактеріальний ріст є потужним активатором запального процесу в травному тракті.

З метою корекції та лікування хронічних запальних та інфекційних захворювань травного тракту сьогодні широкого використання набули пробіотики [357, 367, 368]. Згідно сучасним уявленням, механізм позитивного впливу пробіотиків полягає в багатогранності властивостей фізіологічної мікрофлори. Цей механізм передбачає здатність пробіотиків активно пригнічувати життєздатність патогенної та умовно-патогенної мікрофлори, зміцнювати бар'єрну функцію слизових оболонок, активізувати індигенну мікрофлору, позитивно впливати на її метаболічну активність, стимулювати імунну систему, брати участь в покращенні травної функції, проявляти антитоксичні, антимуtagenні і антиоксидантні властивості [368–370]. Особливо значущим біотерапевтичним ефектом пробіотиків є пригнічення надлишкового росту популяцій потенційно шкідливої мікрофлори. Антагоністична здатність пробіотичної флори реалізується за допомогою синтезу коротколанцюгових жирних кислот, пероксиду водню, лізоцима, антибіотиків, бактеріоцинів, атрактантів і репелентів, конкуренції за поживні середовища, високої швидкості розмноження клітинних популяцій і тощо [371, 372]. Основна функція пробіотичної терапії полягає у відновленні фізіологічного мікробного балансу в біотопі і функції індигенного мікробіоценозу, індивідуально для кожної людини.

За визначенням пробіотики - це «живі мікроорганізми, які при призначенні у відповідних кількостях роблять сприятливо діє на здоров'я організму-господаря» [357]. В наш час до пробіотиків відносять широкий

спектр лікарських препаратів, спеціальних харчових продуктів, біологічно-активних добавок, що містять живі клітини мікрофлори, які при природному способі введення проявляють ефективність через оптимізацію і стабілізацію функцій нормальної мікрофлори. Різноманітність пробіотиків, обумовлене їх складом, технологією виробництва, концентрацією клітин і біологічно-активних компонентів, станом мікробіоценозу та імунної системи пацієнта, його віку та базової медикаментозної терапії, ставлять клініцистів перед складним завданням підібрати оптимальний пробіотик для тієї чи іншої клінічної ситуації [372]. Ефективність пробіотиків в значній мірі визначається складом та станом мікрофлори, яка входить до складу препарату. Пробиотики можуть бути моно-, мультиштамними та у ліофілізованій формі (порошки, таблетки, капсули, супозиторії) та живі. Доведено, що застосування монопрепаратів (наприклад, Біфідумбактерину або Лактобактерину), менш ефективне, ніж призначення мультипробиотиків, так як дефіцит одного з компонентів облігатної флори неминуче призводить до ослаблення активності інших видів. Важливо відзначити, що всі бактеріальні штами взаємодіють між собою за типом мутуалістичного симбіозу, тобто взаємно стимулюють розвиток клітин і біологічну активність своїх симбіонтів. Дослідженнями доведено, що пробіотики, які містять кілька видів лактобацил і біфідобактерій при високій концентрації є більш ефективними в запобіганні дисбактеріозу, ніж моноштамні пробіотичні препарати [373, 374].

Більш ефективні «живі» пробіотики, які виробляються у вигляді рідкої суспензії пробіотичних клітин в спеціальному захисному середовищі. У рідких пробіотики бактерії знаходяться в живій, біологічно активній формі і можуть діяти негайно, відразу після прийому препарату.

В складі пробіотиків найчастіше використовуються представники родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus*, інколи і деякі інші.

В дослідженнях показано, що пробіотик з бактерією *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 сприяє профілактиці й лікуванню деяких кишкових захворювань. У природніх умовах дослідження показали, що цей пробіотик значно знижує в слизовій оболонці кишечника рівень прозапальних цитокінів (інтерлейкін 8, інтерлейкін-1 $\beta$ , інтерферон-гама, фактор некрозу пухлини  $\alpha$ ) у новонароджених щурів [375]. За даними літератури, штами *L. reuteri* здатні колонізувати слизову оболонку шлунка людини, інгібувати зв'язування *H. pylori* з епітеліальними клітинами шлунка *in vitro*, сприяти зменшенню побічних ефектів під час антихелікобактерної терапії, а отже, можуть відігравати певну роль у лікуванні пацієнтів з інфекцією *H. pylori*. Вчені доводять, що 28-денний курс вживання добавки *L. reuteri* зменшує внутрішньошлункове бактеріальне навантаження *H. pylori*. Вторинними кінцевими точками були зменшення вираженості симптомів диспепсії і оцінка впливу попереднього прийому *L. reuteri* на швидкість ерадикації *H. pylori* після звичайної антибактеріальної терапії [376].

Можливими механізми, за допомогою яких *L. reuteri* можуть інгібувати ріст *H. pylori*, на думку авторів, є: пряма й неспецифічна бактеріостатична активність; продукція інгібіторних сполук, таких як лактат, перекис водню, і бактерицидні речовини (реутерін); конкуренція за поживні речовини; неспецифічна імуностимуляція синтезу IgA в слизовій оболонці; здатність *L. reuteri* прилипати до епітеліальних клітин шлунка (адгезія) [376]. Подібні механізми дії мають і інші пробіотики.

Основною проблемою для встановлення причинно-наслідкового зв'язку для лікування дисбактеріозу пробіотиками є відсутність стандартного визначення «нормальної» мікрофлорою. Існують індивідуальні особливості мікроорганізмів, присутніх в різних частинах і органах тіла, які також змінюється в залежності від віку, географічного району і стану здоров'я господаря. Різниця між індигенними видами обумовлена особливостями харчування [377].

Найбільш високу ефективність зазвичай виявляють пробіотики, основу яких складають мікроорганізми, виділені в регіонах, в яких проживає людина, що приймає цей препарат [378, 379]. Тому пробіотики, які розроблені та використовуються в Україні мають найбільшу високу здатність у прояві своїх властивостей до її населення.

### Заклучення

Аналіз наведеної літератури вказує на те, що незважаючи на велику кількість наукових досліджень спрямованих на вивчення функціонування шлунково-кишкового тракту за умов тривалої гіпоацидності шлункового вмісту, залишається невирішеною проблема можливих негативних впливів гіпоацидності. Адже, одним з головних наслідків тривалого пригнічення гідрохлоридної кислоти є зростання рівня гастрину в крові, тобто виникнення явища гіпергастринемії, яка розвивається в результаті посиленої секреції гормону гастрину G-клітинами слизової оболонки шлунка. Неодноразово доведено, що гіпоацидність і гіпергастринемія є тими патологіями, які виникають майже одночасно та запускають механізми, що викликають структурно-функціональні зміни в шлунку. Не менш важливим наслідком тривалої гіпоацидності є порушення мікробіоцинозу шлунка та наявність хронічної інфекції *Helicobacter pylori*, які спричиняють розвиток процесів запалення в травному тракті.

Згідно наведених літературних даних широке застосування інгібіторів  $H^+, K^+$ -АТФи протягом тривалого часу при лікуванні кислотозалежних захворювань шлунка призводить до гіпергастринемії та дисбіозу, які дають поштовх до розвитку низки негативних процесів в організмі, серед яких і канцерогенез.

Саме тому, підсумувавши результати літературного пошуку, ознайомившись з механізмами роботи секреторного апарату шлунка, ми прийшли до висновку, що вивчення секреторної функції шлунка після тривалого пригнічення кислотоутворення є не тільки актуальною проблемою в дослідженні механізмів структурно-функціональних змін в шлунку в умовах тривалої гіпергастринемії, але і відкриває перспективи для методів профілактики цих змін.

Вищевикладене обумовило мету та завдання дисертаційної роботи, які полягали у дослідженні секреторної функції шлунка у щурів в умовах тривалої гіпергастринемії, викликаній введенням блокатора  $H^+,K^+$ -АТФі омепразолом, та пошук можливих засобів профілактики негативних наслідків, до яких призводить тривале зниження шлункової секреції.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1 Об'єкт і методи дослідження

Дослідження проведені на білих нелінійних щурах масою 135-235 г. Вибір цього виду тварин зумовлений тим, що вони належать до всеїдних ссавців і таким чином процеси травлення мають спільні з людиною закономірності.

Експериментальні дослідження були проведені з дотриманням міжнародних нормативів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [88], у відповідності до Закону України від 21.02.2006 № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» та згідно інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі, що стосуються правил роботи з лабораторними тваринами (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, National Academy Press, Washington DC, 1996) [90] [380–384].

Тварин утримували в умовах акредитованого віварію згідно зі "Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)".

Щури знаходились в полікарбонатних клітках розміром 550x350x180 мм з кришками з оцинкованої сталі і скляними поїлками для води, в кожній клітці утримувалось по 10 тварин. Для підстилки використовували тирсу листяних порід дерев (не хвойні рослини). В приміщенні віварію дотримувались наступних умов: температура - 20-24°C, вологість - 30-60%, 12-годинний світловий день.

## 2.2 Моделювання гіпоацидності в шлунку щурів

Для виконання поставлених у роботі задач застосовано експериментальну модель гіпоацидності, викликану тривалим введенням препарату омепразолу (виробництва «Sigma», США) [27]. Його діюча речовина – омепразол ((RS)-5-метокси-2-[(4-метокси-3,5-диметилпіридин-2-іл)метил)сульфініл]-3H-бензimidazol), є інгібітором  $H^+K^+$ -АТФази, ключового ферменту апікальної мембрани парієтальних клітин шлунку, який бере участь у секреції гідрохлоридної кислоти. Наслідком дії омепразолу є зменшення рівня секреції гідрохлоридної кислоти. Завдяки своїй хімічній структурі омепразол є надзвичайно ліпофільним і легко проникає в парієтальні клітини слизової оболонки шлунку і концентрується в них. Він не здійснює блокуючого впливу на  $H_2$ -рецептори, але є інгібітором  $H^+K^+$ -АТФази парієтальних клітин шлунку, блокуючи цим заключну стадію синтезу гідрохлоридної кислоти [160].

Оскільки омепразол є слабкою основою, при нейтральному рН він неефективний, однак в кислому середовищі (нижче 3.0) каналців парієтальних клітин він перетворюється на активний метаболіт сульфенамід, який незворотно інгібує мембранну  $H^+K^+$ -АТФазу, з'єднуючись з SH-групами її  $\beta$ -субодиниці за рахунок дисульфідного містка. Цим пояснюється висока вибірковість дії омепразолу саме на парієтальні клітини, де є необхідне для утворення сульфенаміда кисле середовище [385].

## 2.3 Схема експерименту

*Вивчення впливу гіпоацидності різної тривалості на базальну шлункову секрецію.*

Щурів було поділено на 8 груп. Перші 4 групи були залучені у вивчення впливу омепразолу (виробник Sigma Chemical Co, St. Louis, США) на

базальну шлункову секрецію за умов різної тривалості його введення. Омепразол вводили в дозі 14 мг/кг [27] внутрішньочеревинно (в/о), який розчиняли в 0,2 мл фізрозчину. 4 інші слугували контролем для відповідних груп. Схема експериментів була наступною:

- 1 група – щури, яким омепразол вводили протягом 7 днів;
- 2 група – щури, яким протягом 7 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем для 1 групи щурів;
- 3 група – щури, яким омепразол вводили протягом 14 днів;
- 4 група – щури, яким протягом 14 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем для 3 групи щурів;
- 5 група – щури, яким омепразол вводили протягом 21 дня;
- 6 група – щури, яким протягом 21 дня вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем для 5 групи щурів;
- 7 група – щури, яким омепразол вводили протягом 28 днів;
- 8 група – щури, яким протягом 28 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем для 7 групи щурів.

Через добу після останнього введення омепразолу або води проводили експеримент, в якому визначали рівень базальної секреції кислоти.

*Вивчення впливу блокатора кальцієвих рецепторів верапамілу на шлункову секрецію за умов 28-денної гіпоацидності*

Дослідження проведені на 35 нелінійних щурах-самцях масою 180-230г. На початку експерименту щурів було поділено на 4 групи.

1 група – контрольна, щурі яким протягом 28 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем.

2 група – щурам протягом 28 днів вводили інгібітор  $H^+K^+$ -АТФази омепразол («Sigma», USA) в дозі 14 мг/кг внутрішньочеревинно (в/о) один раз на добу, який розчиняли в 0,2 мл фізрозчину.

3 група – щурам 28 днів перорально вводили блокатор кальцієвих каналів верапаміл (0,5 мг/кг) [54].

4 група – щурі протягом 28 днів одночасно отримували омепразол та верапаміл.

*Вивчення впливу проглуміду на шлункову секрецію за умов 28-денної гіпоацидності.* Щурів було поділено на 3 групи.

Щури першої групи, яким протягом 28 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем. Щурам другої групи протягом 28 днів вводили омепразол ( виробник Sigma Chemical Co, St. Louis, США, Доктор Реддіс Лабораторіс Лтд, Індія) в дозі 14 мг/кг внутрішньочеревинно (в/о) один раз на добу, який розчиняли в 0,2 мл фізрозчину. Щурам третьої групи протягом 28 днів одночасно з введенням омепразолу вводили проглумід (10 мг/кг, в/о) [386–388].

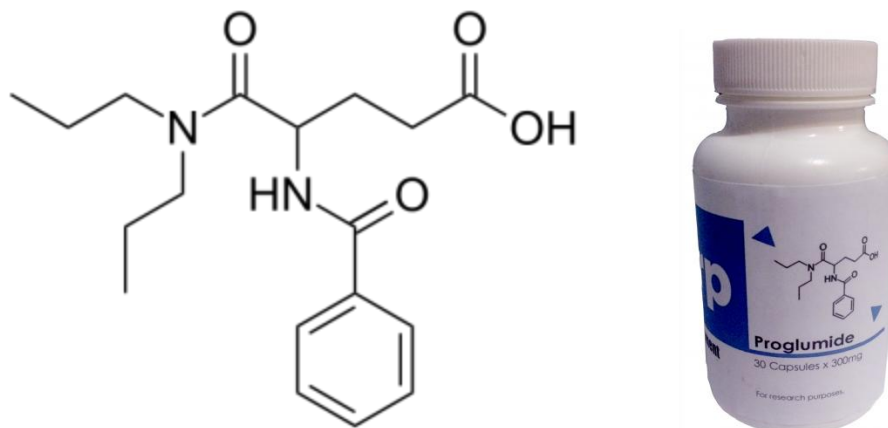


Рис. 2.1. Хімічна будова проглуміду

*Вивчення впливу агоністів ядерних рецепторів типу гамма, що активують проліфераторацію пероксисом (PPAR $\gamma$ ) на шлункову секрецію за умов 28-денної гіпоацидності.* Дослідження проведені на нелінійних щурах-самцях масою 190-235г. На початку експерименту щурів було поділено на групи.

1 група – контрольна, щурі яким протягом 28 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем.

2 група – щурам протягом 28 днів вводили інгібітор  $H^+K^+$ -АТФази омепразол («Sigma», USA) в дозі 14 мг/кг внутрішньочеревинно (в/о) один раз на добу, який розчиняли в 0,2 мл фізрозчину.

3 група – щурам 28 днів перорально вводили агоніст PPAR $\gamma$  піоглітазон (" Мікро Лабс Лімітед", 30 мг/кг, per os).

4 група –щурі протягом 28 днів одночасно отримували омепразол та агоніст PPAR $\gamma$  піоглітазон (" Мікро Лабс Лімітед", 30 мг/кг, per os)

5 група – щурам 28 днів перорально вводили природній агоніст PPAR $\gamma$  меланін (0,1 мг/кг per os)

6 група –щурі протягом 28 днів одночасно отримували омепразол та меланін (0,1 мг/кг per os)

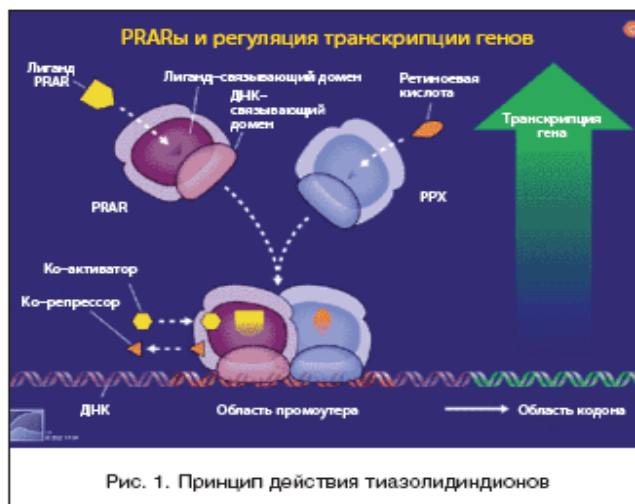


Рис. 2.2. Принцип дії агоністів PPAR $\gamma$  (Рисунок із статті : Александров А.А. Тиазолиндионы – агонисты гамма рецепторов, активируемых пролифераторами пероксисом // РМЖ. 2011. – № 13. – С. 15.)

*Вивчення впливу мультипробіотиків на шлункову секрецію за умов 28-денної гіпоацидності.*

На початку експерименту щурів було поділено на 3 групи. Щури першої групи, яким протягом 28 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, слугували контролем. У щурів другої групи модулювали тривале зниження шлункової

секреції. Для цього їм протягом 28 днів вводили блокатор ключового фермента синтезу гідрохлоридної кислоти  $H^+K^+$ -АТФази омепразол (Sigma Chemichal Co, St. Louis, USA) в дозі 14 мг/кг внутрішньочеревинно (в/о) один раз на добу, який розчиняли в 0,2 мл фізрозчину. Щурам третьої групи протягом 28 днів одночасно з введенням омепразолу орально вводили мультипробіотик "Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний" концентрований (або «Симбітер форте», «Апібакт») (ТОВ фірма "О.Д. Пролісок в дозі 0,14 мл/кг. Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний концентрований - це біомаса живих клітин симбіозу 14 штамів пробіотичних бактерій. В склад однієї дози симбітеру (10 мл) входить концентрована біомаса живих клітин симбіозу мікроорганізмів, КУО/см<sup>3</sup>, не менше: лактобацили і лактококи –  $6,0 \times 10^{10}$ , пропіоновокислі бактерії –  $3,0 \times 10^{10}$ , біфідобактерії –  $1,0 \times 10^{10}$ , оцтовокислі бактерії –  $1,0 \times 10^6$ .

Особливості контамінації слизових оболонок шлунка умовно-патогенною та нормальною мікрофлорою оцінювали після 28 доби від початку експерименту.

*Схема експерименту дослідження чутливості секреторних клітин шлунка до стимуляторів шлункової секреції після відміни омепразолу та після сумісного тривалого введення омепразолу і мультипробіотика.* Експерименти проведено на білих нелінійних щурах-самцях.

Відповідно кожному із стимуляторів було проведено три серії експериментів, кожна з яких включала три групи тварин: 1 група (контроль) – щури, яким протягом 28 днів щодня вводили по 0,2 мл фізрозчину внутрішньочеревинно (в/о) та 0,5 мл фізрозчину орально, 2 група - щури, яким протягом 28 днів вводили блокатор  $H^+K^+$ -АТФази омепразол (Sigma Chemichal Co, St. Louis, USA) в дозі 14 мг/кг (в/о) один раз на добу, який розчиняли у 0,2 мл фізрозчину, 3 група – щури, яким протягом 28 днів одночасно з введенням омепразолу орально вводили мультипробіотик «Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний» концентрований (ТОВ фірма "О.Д. Пролісок") в дозі 0,14 мл/кг, розчинений у 0,5 мл фізрозчину.

Через добу після останнього введення щурам препаратів в умовах гострого експерименту досліджували базальну та стимульовану (карбахоліном 10 мкг/кг, пентагастрином 26 мкг/кг, гістаміном 3 мг/кг (в/о) [389]) шлункову секрецію гідрохлоридної кислоти методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом. Щурів наркотизували уретаном (Sigma Chemichal Co, St. Louis, USA) в дозі 1,15 г/кг маси тіла (в/о). Стимулятори вводили на фоні базальної секреції через 120 хвилин після початку експерименту. У зібраних 10-ти хвилинних пробах електротитриметрично визначали загальну кислотність перфузату за допомогою іономіра ЭВ-74 з використанням 0,01 N розчину гідроксиду натрію (NaOH). Кількість NaOH, що йшла на титрування перфузату в 10-ти хвилинній пробі, дорівнювала дебіту гідрохлоридної кислоти, що виділялася в шлунку за даний період часу.

Після цього обчислювали дебіт кислоти, що виділювався впродовж досліду (120 хвилин базальна+ 120 хвилин стимульована) у мкмоль. Після завершення дослідів щурів умертвляли за допомогою летальної дози уретану (3 г/кг, в/о).

#### **2.4 Методика дослідження шлункової секреції кислоти**

Шлункову секрецію досліджували в умовах гострого експерименту методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом [390] під уретановим знечуленням (Sigma Chemichal Co, St. Louis, USA), який вводили в дозі 1,15 г/кг (в/о)

Виконували трахеотомію, після чого робили лапаротомію по серединній лінії очеревини. З черевної порожнини діставали шлунок, знаходили дванадцятипалу кишку та нижче пілоричного сфінктера підводили лігатуру. За тим через стравохід вводили в шлунок привідний катетер, по якому подається перфузійний розчин, фіксували його на рівні розрізу трахеї.

Робили розріз на дванадцятипалій кишці, через який в шлунок вводився ще один катетер – вивідний. Його фіксували трохи нижче пілоричного сфінктера і вище розрізу дванадцятипалої кишки. Привідний катетер приєднували до перистальтичного насосу НП-1, за допомогою якого перфузійний розчин подавався в шлунок з постійною швидкістю (15 мл за 10 хвилин). Відвідний катетер приєднувався до колектора фракцій, який автоматично збирав 10-хвилинні проби перфузату впродовж всього досліджу. Об'єм вихідного розчину залишався незмінним та був рівним 15 мл. Це свідчить про те, що шлунок щурів секретує за 10 хвилин об'єми шлункового соку, що візуально не визначаються. Кислотність шлункового соку визначали в 10-ти хвилинних пробах перфузату шляхом його титрування 0,01 н розчином NaOH.

*Титрування шлункового соку* здійснювали з допомогою напівавтоматичного електротитриметричного пристрою, який дозволяє проводити автоматичне титрування з регульованою швидкістю подачі титрувальних розчинів. Швидкості подачі розчинів, будучи встановленими на певному рівні, залишалися незмінними впродовж всього титрування проби.

Порогове електронне реле часу дозволяє використовувати напівавтоматичний електротитриметричний пристрій для титрування розчинів до будь-якого необхідного рівня рН в лужному або в кислому діапазонах. При дослідженні шлункового соку титрування зручніше проводити до рН 7,0.

Підготовка рН-метра і електронної мішалки до роботи проводять у відповідності до інструкцій по експлуатації. Порогове реле часу слід вмикати в електромережу за 30 хвилин до початку вимірювань. Бюретку заповнюють титрувальним розчином. Для визначення кислотності шлункового соку ми використовували децинормальний NaOH .

Дослідження проводили наступним чином. В титрувальний стакан наливали 20 мл дистильованої води , рН якої попередньо доводили розчином

лугу до 7,0. Потім в нього вносили 1-5 мл кислого шлункового соку, що викликало відхилення стрілки приладу в бік низьких величин рН. Стакан після внесення в нього магніту ставили на мішалку, включали мішалку, і в стакан обережно за допомогою гвинтів штатива опускали піпетку титрувального розчину, термометр та електроди для рН-метрії, повністю занурюючи їх активну частину в воду. Відхилення стрілки приладу залежить від кислотності шлункового соку. Реєстрували рН досліджуваного розчину. Включали перистальтичний насос, який подавав луг в титрувальний розчин. При досягненні рН розчину 7,0 перистальтичний насос пороговим електронним реле автоматично відключався і подача лугу припинялася. Відмічали кількість лугу, що витратилась на титрування об'єму шлункового соку, внесеного в стакан, після чого розраховували дебіт  $H^+$  в шлунковому соку, виділеному за певний проміжок часу.

## **2.5 Визначення концентрації гастрину в сироватці крові щурів**

Після завершення експерименту робили забір крові для визначення концентрації гастрину в плазмі крові. Гастрин визначали радіоімунологічним методом із використанням аналітичного набору фірми "MP Biomedicals, LLC" (USA). Радіоімунний метод визначення гастрину базується на тому, що досліджуваний гастрин сироватки крові, що виконує роль антигену, вибірково конкурує з гастрином стандартного реактиву, який міченим радіоактивним йодом 125, і витісняє його з імунного комплексу. Виникаючі таким чином зміни радіоактивності системи дозволяють судити про концентрацію досліджуваного гастрину в сироватці крові.

Дослідження виконують *in vitro*, що означає. Для РІА випускають стандартні набори реагентів, кожен з яких визначає концентрацію певної однієї речовини. Аналіз проводиться в декілька етапів:

- Змішують біологічний матеріал з реагентом;

- Отриману суміш інкубують кілька годин;
- Розділяють вільну і радіоактивну речовини;
- Здійснюють радіометр проб;
- Розраховують результати.

В основному для мітки антитіл і антигенів застосовують ізотоп йоду 125 - він має високу питому радіоактивність і період напіврозпаду 60 днів. Мічений антиген додають в певній кількості, що дозволяє визначити частину речовини, яка зв'язалася з антитілами та іншу, яка в результаті конкуренції з виявленим неміченим антигеном, залишилася незв'язаною.

## **2.6 Методика визначення видового та кількісного складу мікрофлори слизової оболонки шлунка**

Проведення аналізу та облік результатів при дослідженні мікробіоценозу порожнини шлунка здійснювали згідно наказу №535 МОЗ СРСР від 1985 р. та наказу №59 МОЗ України від 2003 р. Кількісні показники мікрофлори шлунка вивчали шляхом висіву 1 мл з 10-ти кратного розведення кожної проби слизової оболонки шлунка на диференційно-діагностичні середовища: Ендо, Плоскірева, ВСА для виявлення патогенних ентеробактерій; жовточно-сольовий агар та середовище Сабуро для визначення стафілококів та грибів; Ендо та цитрат Сімонса для визначення кишкової палички та умовно-патогенних ентеробактерій; 5% кров'яний агар та середовище ЕДДС для визначення ентерококів; середовище Блаурока для біфідобактерій та MRS для лактобацил. Кількісні показники росту мікробних клітин визначались в десятинних логарифмах мікробіоценозу колонієутворюючих одиниць на 1 г взятого матеріалу (lg КУО/г).

## 2.7 Морфологічні дослідження шлунка

Щурів умертвляли летальною дозою уретану (3 г/кг, внутрішньоочеревино), після чого видаляли шлунок. Шлунок розрізали по великій кривизні, брали шматочки з фундального та антрального відділу шлунка.

Шматочки фіксували у 10% розчині нейтрального формаліну протягом 1 доби. Далі препарати піддавали зневодненню у розчинах етилового спирту зростаючих концентрацій (50,60,70, 80, 90, 96, 96 % – по одній годині у кожному розчині), та залишали у останньому спирті на 12 годин, потім просвітлювали у ксилолі (0,5–1 год), далі використовували суміш парафіну з ксилолом 1:1 (до 2 год 37°C) та чистий парафін (2 год 56°C), після чого заливали у чистий розплавлений парапласт. На роторному мікротоні виготовляли парафінові зрізи стінки шлунка завтовшки від 4 мкм, які фарбували гематоксиліном та еозином.

Забарвлення гематоксиліном та еозином (за Бьомером) за стандартною методикою :

- Зрізи піддавали депарафінуванню протягом 10 хв. у двох змінах бензолу,
- проводили по спиртах зі зменшенням концентрацій (96%, 90%, 80%, 70% - по 5 хв. у кожному),
- промивали у дистильованій воді (протягом 5 хв.),
- забарвлювали гематоксиліном Бьомера (протягом 2-3 хв.),
- промивали у проточній холодній воді (протягом 5-7 хв.),
- зрізи дофарбовували 0,5%-им водним розчином еозину, після чого промивали у дистильованій воді,
- зрізи зневоднювали у розчинах етилового спирту зростаючих концентрацій (споліскуючи у 80% та 90%, у 96% – 5 хв.),

просвітлювали у бензолі (по 5 хв. у кожному) та заключали під покривне скельце у канадський бальзам.

Гістологічні препарати аналізували якісно та кількісно на світлооптичному рівні.

Гістологічні препарати аналізували при збільшенні мікроскопа у 100, 200 і 400 разів. Кольорові мікрофотографії отримували за допомогою цифрової фотокамер Olympus C-5050 Zoom та мікроскопа Olympus BX-41 ("Olympus Europe GmbH", Японія).

Визначення секреторної активності гландулоцитів в слизовій оболонці фундального відділу шлунка піддослідних щурів оцінювали на підставі аналізу:

- 1) ширини слизової оболонки фундального відділу, як показника висоти секретуючих епітеліоцитів, якими і утворена слизова оболонка.

2) площі перерізу клітинних ядер ендокриноцитів.

3) площі перерізу ядер парієтальних клітин,

Вважали, що морфологічно посилення синтетичних та секреторних процесів у гландулоцитах виявляється у збільшенні висоти слизової оболонки, а також збільшенні розмірів ядер ендокриноцитів. Ознакою гіпофункції клітин слизової оболонки вважали зниження цих параметрів.

## **2.8 Лектиногістохімічні дослідження**

На початку експерименту щурів було поділено на 3 групи. Щури першої групи, яким протягом 28 днів вводили 0,2 мл води для ін'єкцій, слугували контролем. У щурів другої групи модулювали тривале зниження шлункової секреції. Для цього їм протягом 28 днів вводили блокатор  $H^+K^+$ -АТФази омепразол («Sigma», США) в дозі 14 мг/кг (в/о) один раз на добу, який розчиняли в 0,2 мл фізрозчину. Щурам третьої групи протягом 28 днів

одночасно з введенням омепразолу орально вводили мультипробіотик «Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний» концентрований (або «Апібакт») (ТОВ фірма "О.Д. Пролісок") в дозі 0,14 мл/кг. Через день після останнього введення речовин щурів піддавали евтаназії та видаляли шлунок.

Для візуалізації функціональної реорганізації мікроскопічних уражень слизової оболонки шлунка гістологічний матеріал шлунка фіксували у 10% нейтральному формаліні і заливали у парафін за загальноприйнятою методикою з фарбуванням гематоксиліном та еозином. Оцінювання вуглеводних компонентів глікопротеїнових рецепторів слизової оболонки шлунка проводили за аналізом хімічного складу гістохімічної реакції за наявністю чорного (коричневого) осаду у місцях зв'язування лектину напівкількісним методом з використанням лектинів різної вуглеводної специфічності мічених пероксидазою [391]. Підбір панелі лектинів був здійснений з урахуванням їхніх відмінностей у вуглеводній специфічності з метою більш точної та повної ідентифікації вуглеводних компонентів глікопротеїнових рецепторів СОШ: лектину зародків пшениці (WGA), специфічного до  $\text{NAcDGlc} \rightarrow \text{NAcNeu}$ ; лектину насіння арахісу (PNA), специфічного до  $\beta\text{DGal-H} \rightarrow 3\text{DGalNAcDGal}$ , який як правило не взаємодіє з глікопротеїнами зрілих клітин, зв'язування відбувається лише при їх десіалюванні; лектину кори бузини чорної (SNA), специфічного до  $\text{Neu5Ac/2} \rightarrow 6\text{Gal}$ , служить для виявлення сіалюваних залишків галактози; лектину виноградного слимака (HPA), специфічного до  $\alpha\text{NAcDGal}$ , лектин насіння рицини звичайної (RCA), специфічного до  $\beta\text{DGal}$ , лектину насіння сої (SBA), специфічний до  $\alpha\text{NAcDGal}$ , лектину «золотого дощу звичайного» (LABA), специфічний до  $\alpha\text{LFuc}$  (НДЛ „Летинотест”, м.Львів) [391, 392]

табл.2.1

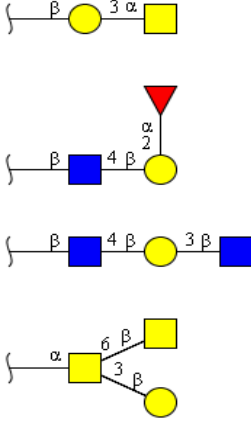
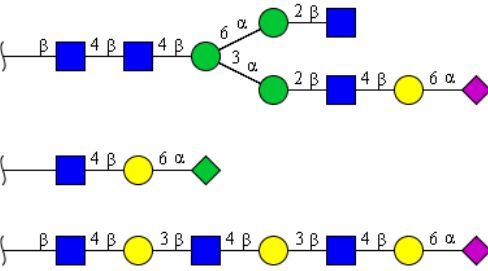
Зрізи піддавали депарафінуванню у трьох змінах ксилолу по 10 хв. у кожному і протягом 10 хв. витісняли ксилол 96% спиртом, після чого протягом 30 хв. тримали у метанолі з 0,3% розчином перекису водню.

Таблиця 2.1.

## Характеристика лектинів, використаних у роботі

Джерело отриманих лектинів	Сировина	Абревіатура назви	Вуглеводна Специфічність	Молекулярна маса, кДа
2	3	4	5	6
<i>Arachis hypogaea</i> арахіс підземний	насіння	PNA	$\beta$ D-галактозамін; N-ацетил-галактозамін ( $\beta$ DGal-H $\rightarrow$ 3DGal NAcDGal)	110
<i>Helix pomatia</i> , виноградний слимак	екстракт	HPA	N-ацетил-D-галактозамін ( $\alpha$ NAcDGal)	79
рицина звичайна <i>Ricinus communis</i>	насіння	RCA	$\beta$ DGal	120
лектин «золотого дощу звичайного»	кора	LABA	$\alpha$ LFuc	85

## Продовження Таблиці 2.1.

<i>Sambucus nigra</i> , бузина чорна	кора	SNA	N-ацетил-нейра- мінова кислота (Neu5Ac/2→6Gal)	140
				
<i>Triticum vulgare</i> , пшениця звичайна	зародки	WGA	N-ацетил-D-глюкозамін, сіалова кислота (βNAcDGlc>NAcNeu)	36
				
<i>Soybean agglutinins</i> , соя	насіння	SBA	αNAcDGal	120

Метанол протягом 5 хвилин вимивали 70% спиртом, після чого тримали у двох змінах забуференого фізіологічного розчину (ЗФР) по 10 хвилин у кожному. Забарвлення препаратів лектинами проводили протягом 1 години у вологій камері. Для контролю зафарбовування замість розчину лектинів використовували забуферений фізіологічний розчин. Після забарвлення лектинами препарати промивали у двох змінах забуференого фізіологічного розчину по 10 хв. у кожній і протягом 3-5 хв. для проявлення забарвлення

піддавали експозиції розчину 3,3-діамінобензидинтетрагідрохлориду. Для зупинки реакції препарати промивали протягом 5-10 сек. у дистильованій воді, зневоднювали у 70% спирті протягом декількох секунд та у трьох змінах 96% спирту по 5 хв. у кожній. Препарати просвітлювали у трьох змінах ксилолу протягом 10 хв. у кожній і заключали під покривне скельце у канадський бальзам [391]. Отримані препарати аналізували якісно та кількісно на світлооптичному рівні при збільшенні мікроскопа x100 та x400. Лектини виготовлені канд.фарм.наук Антонюк В.О. (лабораторія «Лектинотест»).

Перегляд препаратів та фотографування здійснювали за допомогою мікроскопа Carl Zeiss. Інтенсивність лектин-рецепторної реакції оцінювали напівкількісним методом („-“ – відсутність зв'язування, „+“ – слабе зв'язування, „++“ – помірне зв'язування, „+++“ – інтенсивне зв'язування) за забарвленням препаратів. Активність пероксидази і відповідно локалізацію зв'язування лектину з глікокон'югатами визначали за коричневим продуктом окислювальної полімеризації 3,3' діамінобензидину.

## **2.9 Методика дослідження продуктів катаболізму протективних білків у слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка**

У слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка та гомогенаті слизової оболонки шлунка та визначали вміст вільного оксипроліну [393], фукози [394] та гексуронових кислот [395].

*Визначення оксипроліну.* Вміст вільного оксипроліну визначали за методом [393], який заснований на реакції пірол-2 карбонової кислоти, що утворюється при окисненні оксипроліну з парадиметиламінобензолдегідом. Концентрацію визначали по каліброваному графіку і виражали в мкмоль/г. У досліджувані пробірки накладали по 0,1 мл гомогенату, а в контроль 0,1 мл дистильованої води. У всі пробірки добавляли по 0,4 мл охолодженого

абсолютного спирту. Проби добре змішували. Досліджувані пробірки центрифугують 10 хвилин при 3000 об/хв. Готують новий ряд центрифужних пробірок. Рідину, що обула утворена над осадам після центрифугування і рідину з контрольною пробірки переносять у нові відповідні пробірки. Готують окислювач: 1ч 7% хлораміну змішують з 4 частинами ацетат-цитратного буфера. У всі пробірки додають 0,1 мл окислювача. Перемішують і додають 0,1 мл ізопропілового спирту. Витримують 4 хвилини. Потім у всі пробірки додають 0,3 мл реактиву Ерліха. Об'єм рідини в кожній пробірці доводять до 1 мл ізопропіловим спиртом. Добре розмішують. Ставлять на водяну баню і витримують 30 хвилин при температурі 60°C. Охолоджують. Вимірюють оптичну щільність за довжини хвилі 540 нм в кюветі 10 мм проти контролю. Розрахунок проводять відповідно до калібрувальної кривої.

*Визначення фукози.* Фукоза визначали методом Dishe, Shettles [394]. Принцип методу полягає в тому, що фукоза при нагріванні з сірчаною кислотою з додаванням цистеїну утворюється продукт, концентрація якого прямо пропорційна концентрації фукози. Для з'ясування помилки поправки на фарбування, яка може викликатися різними сахарами, оптичну густину визначають при різній довжині хвиль 396 нм і 430 нм.

У дві пробірки додавали по 0,1 мл гомогенату і 5 мл 95% етанолу. Центрифугували 15 хвилин (3000 оборотів / хвилину), декантирували, знову збовтували осад у 5 мл етанолу. Центрифугували і знову повторно декантирували. Осаджені білки розчиняли в 1 мл 0,1 Н NaOH. У пробірки додавали по 4,5 мл охолодженої сірчаної кислоти (сірчана кислота: вода = 6:1). Вміст пробірок перемішували. Після цього нагрівали на водяній бані 3 хвилини, охолоджували. Додавали 0,1 мл цистеїнового реактиву в одну з досліджуваних пробірок, в іншу додавали воду. Проби залишали на 1 годину при кімнатній температурі. Екстинкцію визначали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвиль 396 нм і 430 нм. Обов'язково ставили холосту пробу -

замість цистеїнового реактиву додавали 0,1 мл дистильованої води. Розрахунок проводили відносно стандартного розчину фукози і обраховували в мкмоль/г.

*Визначення гексуронових кислот.* Принцип методу визначення гексуронових кислот полягає в тому, що гексуронові кислоти при нагріванні з сильними кислотами (сірчаною) перетворюються на альдегід фурфурол або його гомологи. Отримані альдегіди конденсуються з ароматичними фенолами (карбазолом), які потім визначають фотометричним методом.

У центрифужну пробірку додавали 0,5 мл гомогенату і 2 мл охолодженого розчину 94% етанолу, який містить 0,1 М оцтовокислого калію і 0,17 М оцтової кислоти. Пробу перемішували, через 5-6 хвилин центрифугували 15 хвилин при 3000 обертів за хвилину. Осад емульгували у 3,0 мл 6% трихлороцтової кислоти. Пробу охолоджували, центрифугували 10 хвилин при 3000 оборотів / хвилину. У рідині над осадом визначали вміст гексуронових кислот. Для цього на кожну пробу брали по дві пробірки, додавали в кожну по 1 мл рідини, що була над осадом і по 5 мл концентрованої сірчаної кислоти, яка містить 0,2 М кристалічного тетраборнокислого натрію. Нагрівали 10 хвилин в киплячій бані, охолоджували. У першу пробірку додавали 0,1 мл 0,01 М розчину карбазолу в 16,1 М етанолу, а в іншу - 0,1 мл розчину 16,1 М етанолу. Нагрівали 120-130 секунд на киплячій водянній бані. Через 10 хвилин колориметровали в кюветах шириною 10 мм при зеленому світлофільтрі проти розчину сірчаної кислоти з тетраборнокислий натрієм. Розрахунок проводили щодо стандартного розчину глюкуронової кислоти ти визначали в мкмоль/г.

*Отримання сироватки крові щурів.* У щурів, яких умертвили, розрізали грудну клітку, відкривали доступ до серця, яке ще продовжувало скорочуватися, в стерильний шприц набирали кров. Кров збирали у центрифужні пробірки без антикоагулянту та лишали на 20-30 хв за кімнатної температури для повного утворення згустка. Після цього зразки

крові центрифугували при 3500 об./хв (2200 g) протягом 15 хв. Осад з форменними елементами та згусток відкидали, а супернатант (сироватку) відбирали в окремі одноразові мікропробірки, заморожували при  $-20^{\circ}\text{C}$  та використовували для подальших досліджень.

## **2.10 Статистична обробка результатів досліджень**

Статистичні розрахунки проводили з використанням пакету програм StatisticSoft 6.0. Одержані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тест Шапіро-Вілка. Оскільки наші дані виявилися нормально розподілені, порівняння вибірок проводилося за допомогою t-критерію Стюдента для незалежних вибірок. Розраховували середнє значення (M), стандартне відхилення (SD). Для наших даних ми приймали рівень значущості  $p < 0,05$  [396].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

### РОЗДІЛ 3

#### ВПЛИВ ТРИВАЛОЇ ГІПОАЦИДНОСТІ ШЛУНКОВОГО СОКУ НА СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ШЛУНКА У ЩУРІВ

Накопичена на сьогодні велика кількість літератури свідчить, що блокатори протонної помпи, які є найбільш сильними антисекреторними препаратами, використовують не лише з метою профілактики і лікування гастро-дуоденальних ерозій і виразок різного генезу [397–399], але і при лікуванні гастро-езофагеальної рефлюксної хвороби, синдрому Золлінгера-Еллісона, панкреатиту [51, 163, 165, 294]. Основною перевагою даного класу препаратів є блокування кінцевого етапу шлункової секреції, а саме пригнічення активності  $H^+/K^+-ATP$ ази, на відміну від селективних і неселективних холінолітиків, блокаторів  $G$ -рецепторів і кальцієвого транспорту, блокаторів  $H_2$ -гістамінових рецепторів, які блокують інші механізми виділення кислоти. Але, як відомо з літератури, тривале зниження кислої шлункової секреції призводить до зростання концентрації гастрину в крові, тобто гіпергастринемії [59, 62, 400–402]. Внаслідок трофічної дії гастрину можуть виникати морфо-функціональні зміни в слизовій оболонці шлунку, що підтверджується даними літератури, за якими довготривала терапія омепразолом призводить до явищ атрофічного гастриту [51] та спричиняє появу поліпів фундальних залоз шлунка, деякі з яких відносяться до передракових станів [403].

В 2006 р. вийшла стаття Jensen [62], в якій наведений власний унікальний досвід лікування хворих з гастриномами. Автор показує, що гіпергастринемія може викликати порушення росту ентерохромафіноподібних (ECL) клітин, включаючи неоплазію. Хоча ще раніше на експериментальних тваринах було показано, що тривале

пригнічення кислотності шлункового соку омепразолом викликає рак шлунку [404, 405]. Протилежну думку мають інші автори, які власними дослідженнями підкреслюють факт безпечності тривалого пригнічення кислотоутворення інгібіторами протонної помпи [37–40]. Зокрема Fujimoto K. та співавтори на пацієнтах з рефлюкsezофагітом, яким протягом 104 тижнів пригнічували шлункову секрецію вказують на відсутність атрофії в шлунку та розвиток карціноїду ентерохламаффіноподібних клітин, при цьому сироватковий гастрин підвищувався в перші 24 тижні, в подальшому не змінювався [37]. Інші вчені проводили спостереження за хворими, які мали ще більший термін прийому антисекреторних препаратів від 10 до 15 років. Хворим з синдромом Золлінгера – Еллісона протягом 10 років призначали блокатор  $H^+/K^+$ -АТФази лансопразол. В своїх спостереженнях вченими було відмічено, що інтрагастральний рН підвищився в середньому з 1,2 до 3,4, гастрин в сироватці крові на тлі лікування не змінився у хворих з синдромом Золлінгера - Еллісона. Поглиблене спостереження за пацієнтами показало ефективність і безпеку 10-річного застосування лансопразолу [39].

Більш докладно хотілося б зупинитися на дослідженні G. Brunner з співавт, присвяченому цій проблемі, що опубліковане в 2012 році в журналі *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. Особливістю даного дослідження, проведеного в Німеччині в 1990-2007 рр., було вивчення максимально тривалого застосування інгібіторів протонної помпи. У ньому було вивчено безперервне лікування пантопразолом протягом 15 років. Автори відзначили, що тривале пригнічення шлункової секреції здатне викликати гіпергастрінемію, однак це підвищення найчастіше помірне і рідко буває високим; в даному дослідженні було показано, що гастрин відразу підвищується, а в подальшому знаходиться на постійному рівні; дана помірна гіпергастрінемія не є важливою з клінічної точки зору. Подібна ситуація спостерігається щодо щільності ентерохламаффіноподібних клітин в слизовій оболонці шлунка: вона підвищується протягом перших 3 років, в

подальшому практично не змінюється. Проведене дослідження показало сприятливу тенденцію гістологічної картини на тлі тривалого лікування пантопразолом. Терапія призводила до зменшення запальної лімфоплазмоцитарної інфільтрації, відсутності ознак підвищення метаплазії. Помірне підвищення ступеня атрофії в тілі шлунка в перший час лікування спостерігалось тільки у Н.рулогі-позитивних хворих і було успішно усунуто після ерадикації хелікобактерій [38].

Отже, відсутність єдиної думки на питання впливу довготривалого прийому блокаторів протонної помпи на стан слизової оболонки шлунка послуговало підставою для формулювання одного із завдань дисертаційного дослідження.

### **3.1 Базальна шлункова секреція та концентрація гастрину в сироватці крові щурів після індукованої омепразолом гіпоацидності різної тривалості**

Першим етапом наших експериментів було дослідити вплив блокатору Н+/К+-АТФази омепразолу на базальну шлункову секрецію та концентрацію гастрину в сироватці крові щурів за умов різної тривалості його введення.

В результаті проведених досліджень встановлено, що введення щурам омепразолу протягом 7 днів призводило до зростання дебіту кислоти базальної секреції в шлунку з  $34,0 \pm 16,0$  мкмоль/120 хв на 173,5% ( $p < 0,05$ ) (табл.3.1). Разом із зростанням кислої секреції зростає рівень гастрину в сироватці крові з  $59 \pm 35,5$  пг/мл в контролі до  $181,18 \pm 59,68$  пг/мл ( $p < 0,01$ ), або на 206,7% ( $p < 0,05$ ) (рис.3.1).

При збільшенні тривалості введення омепразолу до 14 днів дебіт кислої шлункової секреції зростає до  $176,0 \pm 75,0$  мкмоль/120 хв, що на 194% більше, ніж в контролі ( $p < 0,01$ ) (табл.3.1). При цьому концентрація гастрину в

сироватці крові порівняно зі щурами контрольної групи мав тенденцію до зростання, але ці зміни не були статистично значущими.

Таблиця 3.1

Базальна секреція кислоти в шлунку щурів через добу після введення омепразолу різної тривалості (14 мг/кг, в/о, щоденно), ( $M \pm SD$ )

	Контроль мкмоль/120 хв	Омепразол мкмоль/120 хв	Ефект у (%)
7 днів	34,0 $\pm$ 16,0 n=8	93,0 $\pm$ 56,0* n=8	↑ 173,5
14 днів	59,7 $\pm$ 17,7 n=10	176,0 $\pm$ 75,0** n=10	↑ 194
21 день	60,0 $\pm$ 18,7 n=9	136,0 $\pm$ 55,0** n=9	↑ 126

Примітки:

\* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$  по відношенню до контролю;

n – кількість дослідів у серії експериментів.

Подовження тривалості введення омепразолу до 21 дня не спричиняло подальшого зростання дебіту кислоти базальної секреції кислоти. Це збільшення було дещо меншим, ніж після 14 днів введення блокатора  $H^+K^+$ -АТФази і складало 136,0 $\pm$ 55,0 мкмоль/120 хв проти 60,0 $\pm$ 18,7 мкмоль/120 хв у відповідному контролі. Тобто, дебіт кислоти збільшувався на 126% ( $p < 0,01$ ) (табл. 3.1). Через 21 день після щоденного введення омепразолу концентрація гастрину в сироватці крові зростала до 136,3 $\pm$ 61,7 пг/мл ( $p < 0,01$ ) (рис. 3.1). Наші дані підтверджуються чисельними даними літератури, за якими тривале застосування інгібіторів протонної помпи призводить до збільшення концентрації гастрину в крові [48, 62, 406]. Слід зазначити, що рівень даного

гормону збільшувався як після тривалого пригнічення шлункової секреції [130, 164, 167] так і після короткочасного її пригнічення [407].

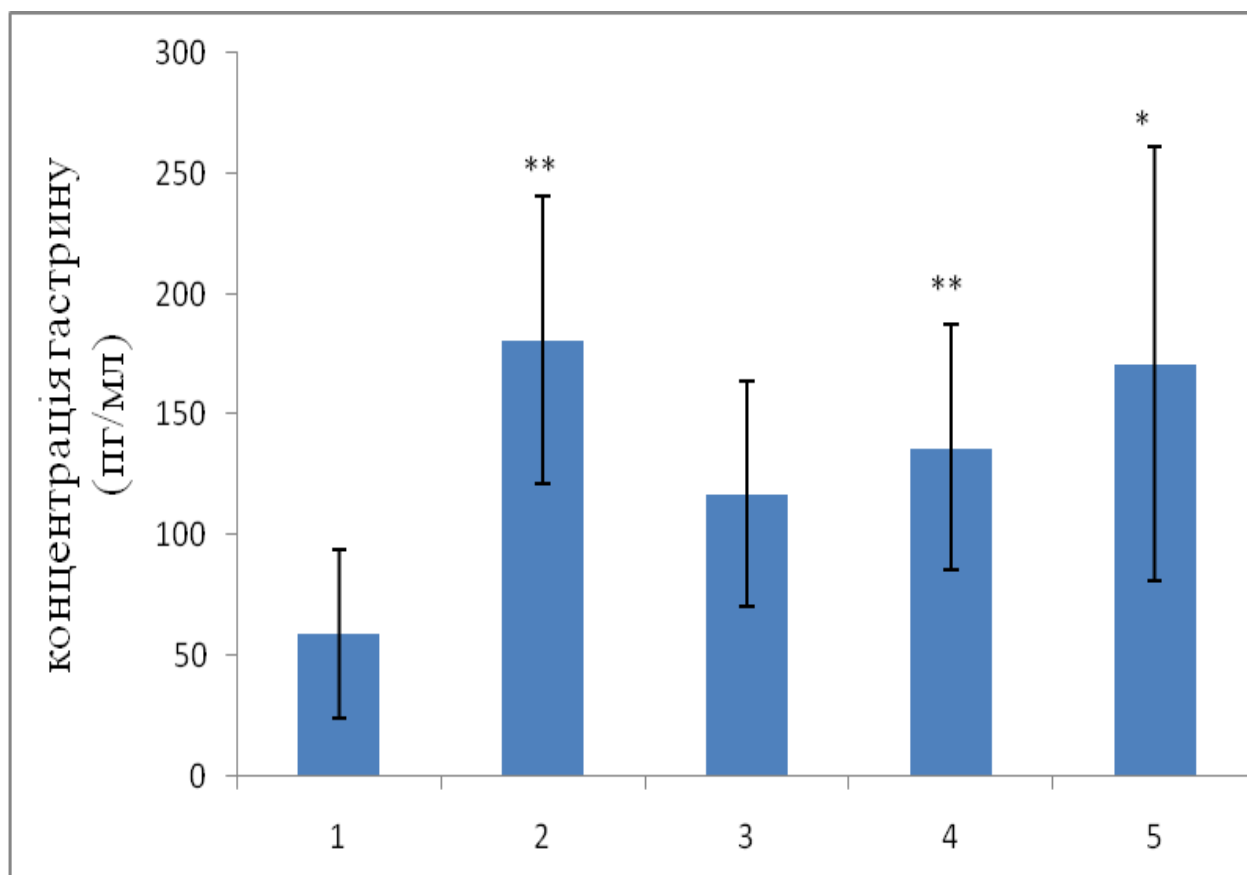


Рис. 3.1 Концентрація гастрину в сироватці крові щурів після різних термінів введення омепразолу (14 мг/кг), ( $M \pm SD$ ):

1- контроль, n=10

2- омепразол 7 днів, n=8

3- омепразол 14 днів, n=10

4- омепразол 21 днів, n=9

5- омепразол 28 днів, n=10

Примітка: \*\* -  $p < 0,01$ ; \* -  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем

Слід зазначити, що технічно неможливо було провести всі дослідження одночасно. Вони проводились протягом 12 місяців. Експерименти по

вивченню впливу 7 денного введення омепразолу та відповідні контрольні досліді проводили влітку, 14 та 21 денного введення омепразолу та відповідні контрольні досліді – восени, а 28 денного введення – зимою та навесні. Контрольні експерименти, проведені протягом різних пір року, показали, що кислотність шлункового соку залежить від пори року. В наших експериментах вона була більшою восени та весною. Недарма виразкова хвороба дванадцятипалої кишки найчастіше загострюється восени та весною. При цьому результати досліджень, проведені протягом одного сезону були більш-менш стабільними. Аналогічну картину відносно різного рівня базальної шлункової секреції у щурів спостерігали і інші автори [408], які ділили щурів на групи з високою та низькою базальною секрецією кислоти в шлунку. Це спонукало нас також поділити щурів контрольної групи для 28 денного введення омепразолу на 2 групи: щурів з високою та щурів з низькою базальною секрецією (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

Базальна секреція кислоти в шлунку щурів через добу після 28 денного введення омепразолу з різним вихідним рівнем базальної секреції гідрохлоридної кислоти (14 мг/кг, в/о, щоденно), ( $M \pm SD$ )

Контроль мкмоль/120 хв	Омепразол мкмоль/120 хв	Ефект у (%)
33,1 $\pm$ 17,4 n=18	156,0 $\pm$ 41,8*** n=9	↑ 371
56,6 $\pm$ 20,0 n=8	32,9 $\pm$ 12,9** n=8	↓ 41,8
40,3 $\pm$ 21,0 n=26	85,2 $\pm$ 72,2** n=14	↑ 211,4

Примітка: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  по відношенню до контролю; n – кількість дослідів в серії експериментів.

В результаті ми отримали 2 групи контрольних щурів з відповідними показниками дебіту базальної секреції кислоти:  $33,1 \pm 17,4$  мкмоль/120 хв та  $56,6 \pm 20,0$  мкмоль/120 хв. (табл.3.2). При цьому виявилось, що в першу групу увійшли тварини, дослідження на яких проведені зимою, а в другу групу – тварини, дослідження на яких проведені весною.

Так як протягом одного дня ми ставили 2 експерименти, один з яких проводили на щурі контрольної групи, а другим – на щурі з групи з введенням омепразолу, то результати впливу 28 денного введення омепразолу на базальну секрецію кислоти також були поділені на 2 групи відповідно до пори року. Встановлено, що в серії експериментів, проведених паралельно контрольній групі щурів з низьким рівнем базальної секреції, 28-денне введення омепразолу призводило до зростання базальної секреції кислоти на 371,0 % ( $p < 0,001$ ). В іншій серії експериментів, проведених паралельно контрольній групі щурів з високим рівнем базальної секреції, 28 денне введення омепразолу призводило до зменшення базальної секреції кислоти на 41,8% ( $p < 0,01$ ). Після об'єднання значень кислотності у двох контрольних та двох дослідних групах після 28 днів введення омепразолу було показано, що дебіт кислоти базальної секреції в середньому зростав на 111,4% ( $p < 0,01$ ). Хоча ми вважаємо, що таке об'єднання не є доцільним, так як дослідження проведені в різні пори року. Концентрація гастрину в сироватці крові всіх щурів, незалежно від змін в базальній секреції, була збільшеною і в середньому складала  $171,7 \pm 90,7$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) після 28 днів введення омепразолу (рис.3.1).

Зростання базальної шлункової секреції через 24 години після останнього введення омепразолу у груп (7, 14, 21денним введенням) очевидно, пов'язано з ефектом „відміни”, який часто лікарі спостерігають у хворих та інші дослідники в експериментах на щурах [409–411]. На нашу думку, цей ефект є результатом тривалої трофічної дії гастрину, який зумовлює ріст і проліферацію клітин слизової оболонки шлунка і, як наслідок, зростання

кількості парієтальних клітин. Що стосується 28-денного введення омепразолу, то зростання секреції кислоти у однієї групи щурів також, очевидно, є наслідком проліферативного процесу в слизовій шлунка. Подібну картину спостерігав в своєму дослідженні Schubert, яку пояснював тим, що блокування Н-К-АТФази інгібітором протонної помпи призводить до компенсаторної гіпергастринемії, яка, якщо затягується, призводить до гіперплазії парієтальних і ентерохромафінних клітин [412].

Падіння ж секреції у інших щурів за однакових умов експерименту, очевидно, пов'язане з розвитком дисплазії слизової оболонки шлунка, що виникає на фоні інтенсивної проліферації. Підтвердженням цьому є роботи інших авторів, які пояснюють зменшенням секреції гідрохлоридної кислоти шлунком зниженням диференціації парієтальних клітин, яка виникає внаслідок тривалої гіпергастринемії [413, 414].

### Висновки підрозділу 3.1

1. 28-денне введення щурам омепразолу призводить до гіпергастринемії та різнонаправлених змін базальної шлункової секреції, яка у частини щурів зростає, а у частини – знижується.
2. Гіпергастринемія, викликана 7-, 14- та 21-денним введенням щурам блокатора Н<sup>+</sup>-К<sup>+</sup>-АТФази омепразолу, через добу після його останнього введення спричиняє зростання базальної шлункової секреції кислоти.

### **3.2 Чутливість парієтальних клітин до пентагастріну після блокади Н<sup>+</sup>-К<sup>+</sup>-АТФази різної тривалості**

Попередніми нашими дослідженнями вже було показано, що разом зі збільшенням терміну введення блокатору протонної помпи омепразолу зростала концентрація гастріну в сироватці крові щурів (рис. 3.1). Поряд з цим відбувалися зміни в базальній секреції гідрохлоридної кислоти в

шлунку, які виникали внаслідок гіпергастринемії [24, 60, 101, 415]. Дослідження, як змінюється чутливість парієтальних клітин до екзогенного введення гастрину після поступового збільшення тривалості введення блокатора  $H^+K^+$ -АТФази стало завданням наступної серії наших досліджень. В якості стимулятора нами був обраний синтетичний аналог гастрину пентагастрин [416]. Цей вибір обґрунтований дослідженнями, де було відмічено, що шлункова секреція стимульована пентагастрином є найбільш чутливою до гіпохлоргідрії [417]. Отже, в результаті проведених досліджень було показано, що у щурів контрольної групи, дебіт стимульованої пентагастрином шлункової секреції змінювався з  $37,6 \pm 12,3$  мкмоль/120 хв до  $107,5 \pm 28,4$  мкмоль/120 хв, а саме в 2,8 раз ( $p < 0,001$ ) (рис.3.2(1)).

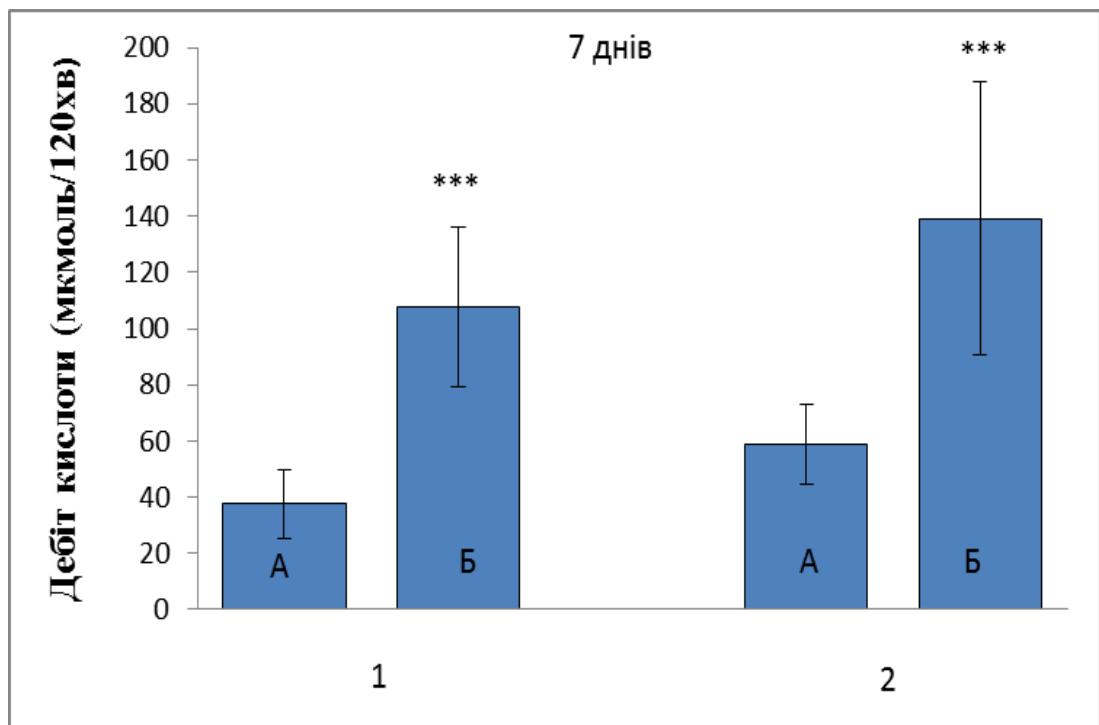


Рис. 3.2. Базальна (А) та стимульована (Б) пентагастрином (26 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у контрольної групи щурів та у щурів після 7-ми денного введення омепразолу (14 мг/кг) ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10), 2 – омепразол (n=9).

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$ , порівняно з базальною секрецією.

Подібна картина спостерігалася і у групи щурів, яким протягом 7-ми днів вводили омепразол. Пентагастрин стимулював у цих тварин шлункову секрецію в 2,4 рази ( $p < 0,001$ ) (рис.3.2(2)).

Хоча вихідний рівень базальної шлункової секреції у груп був різним, проте між ефектами на стимуляцію пентагастрином між контрольною групою щурів та групою з 7-ми денним введенням омепразолу статистично значущої різниці не було.

Збільшення тривалості введення омепразолу до 14 днів призводило як до змін базального рівня шлункової секреції, так і до зміни відповіді парієтальних клітин шлунка на екзогенне введення пентагастрину. Так, при зростанні дебіту базальної шлункової секреції у щурів дослідної групи до  $91,9 \pm 22,3$  мкмоль/120 хв, введення пентагастрину стимулювало секрецію в 1,8 раз ( $p < 0,01$ ).

Аналізуючи результати контрольної групи щурів, ми хоч і спостерігали деяке зростання рівня базальної шлункової секреції до  $62,7 \pm 15,4$  мкмоль/120 хв (проти  $37,6 \pm 12,3$  мкмоль/120 хв. після 7 днів), що, очевидно, пов'язано з реакцією на стрес, який виникає як наслідок 14-денного парентерального введення фізрозчину, однак, стимуляція пентагастрином призводила до зростання дебіту шлункової секреції до  $176,5 \pm 47,1$  мкмоль/120 хв, тобто в 2,8 рази ( $p < 0,001$ ) (рис.3.3(1)). Порівняння між контрольною групою, де пентагастрин стимулював шлункову секрецію в 2,8 раз, та групою з 14 денною блокадою  $H^+ - K^+ - AT$ Фази, у якої стимуляція пентагастрином викликала зростання секреції 1,8 раз, ми побачили очевидну різницю, яка свідчить про падіння чутливості до стимулятора.

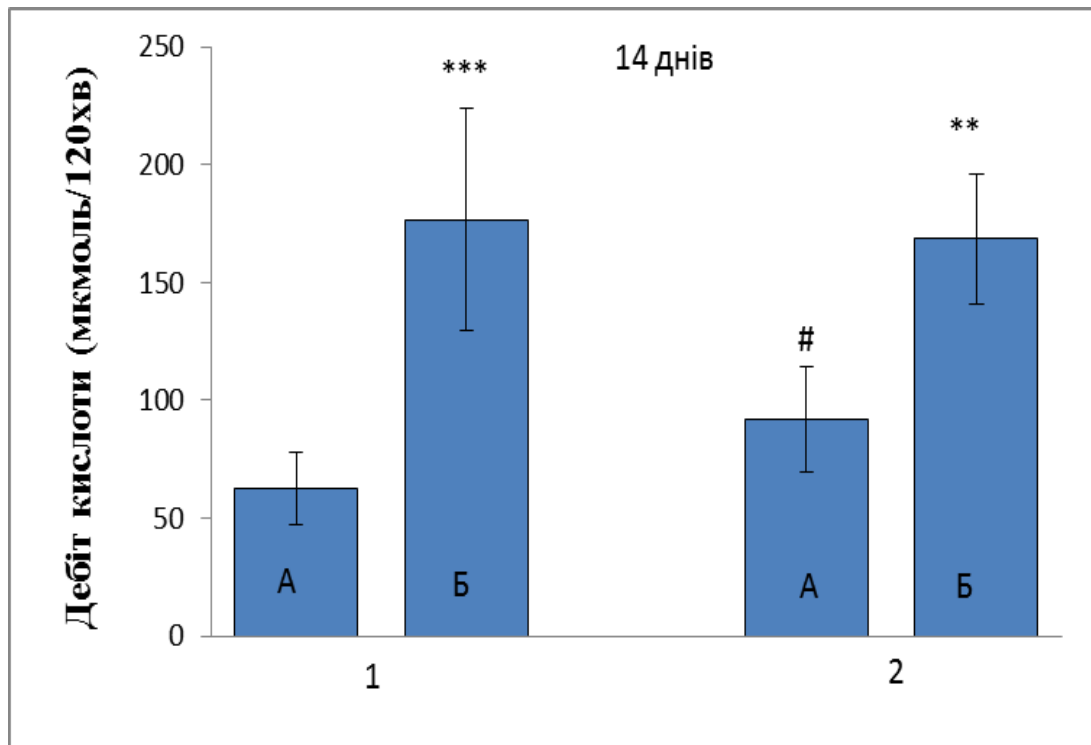


Рис. 3.3. Базальна (А) та стимульована (Б) пентагастрином (26 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у контрольній групі щурів та у щурів після 14-ти денного введення омепразолу (14 мг/кг) ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10),

2 – омепразол (n=10).

Примітки: \*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\* -  $p < 0,01$  порівняно з базальною секрецією,

# -  $p < 0,05$  порівняно з базальною секрецією в контрольній групі

Продовжуючи експеримент та збільшуючи термін введення блокатору  $H^+K^+$ -АТФази до 21 дня, ми спостерігали наступні зміни. Так, у щурів контрольної групи дебіт базальної шлункової секреції становив  $58,8 \pm 15,1$  мкмоль/120 хв, а введення пентагастріну викликало зростання кислотовиділення в 2,7 разів ( $p < 0,001$ ) (рис.3.4), що майже не відрізнялось від контрольних груп попередніх серій. Проте, у щурів дослідної групи дебіт базальної шлункової секреції після 21-денної гіпохлоргідрії становив  $118,5 \pm 34,7$  мкмоль/120 хв, введення пентагастріну призводило до стимуляції

виділення паріетальними клітинами гідрохлоридної кислоти та зростання дебіту шлункової секреції до  $193 \pm 32,21$  мкмоль/120 хв, або в 1,6 раз ( $p < 0,05$ ) (рис.3.4.), що вказує на зниження чутливості секреторних клітин до секретагога у порівнянні з контрольною групою щурів.

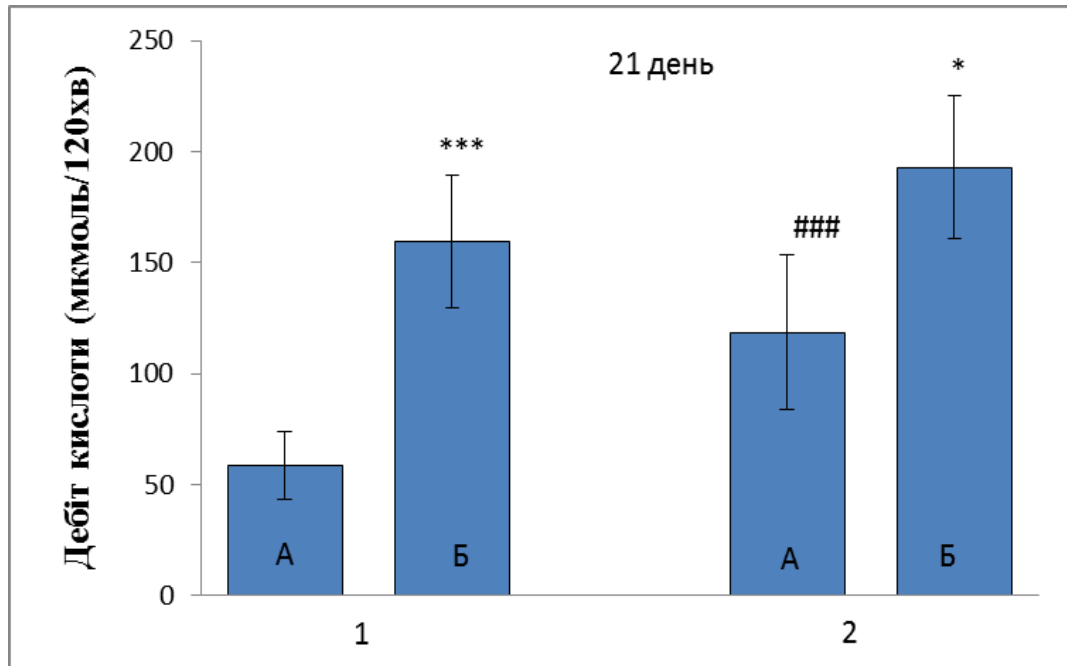


Рис.3.4. Базальна (А) та стимульована (Б) пентагастрином (26 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у контрольній групі щурів та у щурів після 21-ти денного введення омепразолу (14 мг/кг) ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10),

2 – омепразол (n=10).

Примітки: \*\*\* -  $p < 0,001$ , \* -  $p < 0,05$  порівняно з базальною секрецією, ### -  $p < 0,001$  порівняно з базальною секрецією в контрольній групі.

Отже, аналізуючи отримані в експериментальних дослідженнях дані ми заключили, що зростання рівня гастрину в крові внаслідок блокади  $H^+K^+$ -АТФази омепразолом призводить не тільки до зміни дебіту базальної шлункової секреції, про що мова йшла в розділі 3.1, але змінюється чутливість паріетальних клітин до екзогенно введеного гастрину. Як видно з

представлених результатів, у щурів контрольної групи, незалежно від того, яким був базальний секреторний рівень, пентагастрин стимулював шлункову секрецію в середньому в 2,75 рази. Тоді як у щурів після введення омепразолу впродовж 7, 14, 21 днів відбувалося зростання базальної шлункової секреції та зменшувалася співвідношення між базальним та стимульованим дебітом шлункової секреції, що чітко видно після 14- і 21-денного введення інгібітора протонної помпи.

У подальшому ми продовжили вивчати чутливість парієтальних клітин до екзогенного введення гастрину після більш тривалого терміну введення блокатору протонної помпи. В даній серії досліджень рівень базальної шлункової секреції у щурів контрольної групи, яким протягом 28 днів вводили фізрозчин дещо відрізнявся від попередніх серій і становив  $21,8 \pm 8,7$  мкмоль/120 хв. Стимуляція шлункової секреції в даній групі пентагастрином призводила до зростання дебіту кислоти в 3,2 раз до  $68,9 \pm 15,4$  мкмоль/120 хв, ( $p < 0,001$ ) (рис.3.5)

Дослідна група щурів після 28-денного введення омепразолу аналогічно серії з підрозділу 3.1 за вихідним рівнем базальної секреції була поділена на дві групи, з низьким базальним рівнем гідрохлоридної кислоти, де дебіт становив  $34,8 \pm 10,3$  мкмоль/120 хв та з високим з дебітом кислоти  $135,6 \pm 43$  мкмоль/120 хв.

Стимулювання шлункової секреції пентагастрином призводило до зростання дебіту гідрохлоридної кислоти в групі з низьким рівнем до  $54,2 \pm 13,4$  мкмоль/120 хв, ( $p < 0,01$ ), або в 1,5 раза.

Інтенсивність соковиділення у групи щурів з високим базальним рівнем секреції після введення пентагастрину зростала до  $227,2 \pm 53,2$  мкмоль/120 хв, ( $p < 0,01$ ), або в 1,7 разів. Як можна побачити з отриманих результатів, ефект впливу стимулятора в обох дослідних групах був майже однаковим та в середньому призводив до зростання секреції в 1,6 раз.

Порівнюючи результати отримані у щурів дослідних груп із контрольною групою щурів слід зазначити, що відповідь на пентагастрин була в 2 рази ( $p < 0,01$ ) нижчою. Так як використовувана доза пентагастрина залишалася незмінною у всіх експериментах, отриманий нами ефект можна пояснити падінням чутливості парієтальних клітин до гастрину у щурів після тривалої гіпохлоргідрії (рис.3.5).

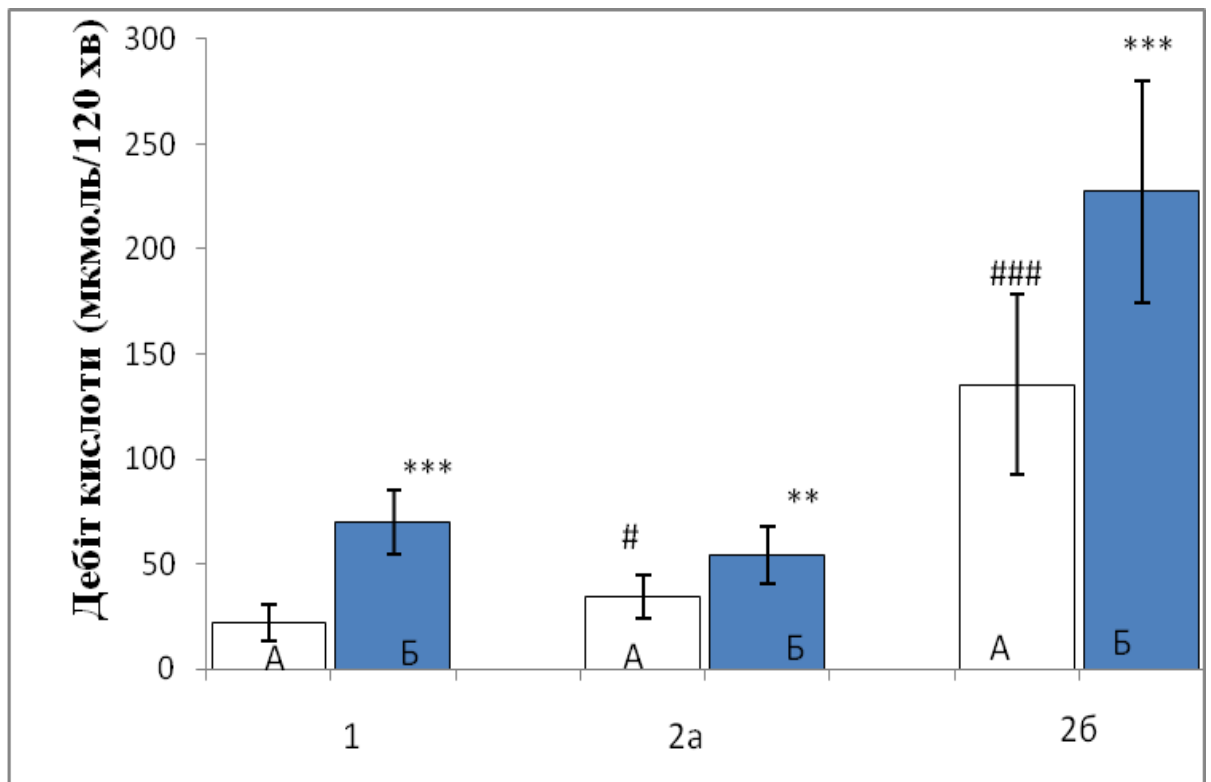


Рис.3.5. Базальна (А) та стимульована (Б) пентагастрином (26 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у контрольної групи щурів та у щурів після 28- денного введення омепразолу (14 мг/кг) ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10),

2а – з низьким базальним рівнем секреції після омепразолу (n=8),

2б – з високим базальним рівнем секреції після омепразолу (n=10)

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\* -  $p < 0,01$  порівняно з базальним рівнем, # -  $p < 0,05$ ,

## -  $p < 0,01$  порівняно з контрольною групою

Слід також зазначити, що використання пентагастріну, як стимулятора шлункової секреції застосовується для діагностування синдрому Золлінгера-Еллісона, при цьому співвідношення базальної до стимульованої секреції більше ніж 0,6 вважається специфічним для гастрином [418].

Ми також спробували оцінити отримані результати пентагастрінової шлункової секреції. У нашому експерименті, незалежно від того, якою була група тварин з високою чи низькою базальною секрецією, це співвідношення було наближене до 0,6. Цей факт ще раз засвідчує про те, що в обох дослідних групах внаслідок надмірного трофічного впливу гастріну відбуваються морфо-функціональні порушення в клітинах слизової оболонки шлунка.

### **3.3 Чутливість парієтальних клітин до гістаміну і карбахоліну після 28-денного введення блокатору $H^+K^+$ -АТФази**

Як вже було зазначено раніше, тривала гіпохлоргідрія в шлунку, яка супроводжується гіпергастринемією є результатом взаємодії між рН шлункового вмісту та секрецією гастріну. Зростання рН в антральному відділі спричиняє збудження рецепторів на поверхні гастрин-продукуючих клітин, що призводить до синтезу і секреції гастріну [59, 62, 102, 400–402]. Окрім участі в регуляції кислотоутворення, гастрин справляє трофічний вплив на слизову оболонку травного тракту [24]. Мішенями трофічної дії гастріну є клітини слизової оболонки шлунка. Саме гастрин може зумовлювати ріст і проліферацію клітин слизової оболонки шлунка, зростання кількості парієтальних клітин. В дослідженнях з блокування  $H^+K^+$ -АТФази інгібітором протонної помпи було показано, що компенсаторна гіпергастринемія, яка виникає та затягується, призводить до гіперплазії парієтальних і ентерохромафіноподібних клітин [412]. При цьому є роботи

інших авторів, які показують зниження диференціації парієтальних клітин, розвиток дисплазії слизової оболонки шлунка, що виникає внаслідок тривалої гіпергастринемії. [413, 414]. Наслідок таких змін, безперечно, буде мати відбиток на секреторному процесі шлунка.

Як результат морфологічних змін відбуваються і функціональні порушення в шлунку, а саме змінюється базальна шлункова секреція. Це підтверджується даними літератури [17, 59, 419–421], про що вже згадувалось у попередніх підрозділах. Що стосується впливу тривалої гіпохлоргідрії на харчову або стимульовану шлункову секрецію, то ці дослідження зустрічаються в декількох роботах [400, 410, 422] . Адже кожен із стандартних стимуляторів (карбахолін, гастрин, гістамін) діє специфічно до кожної фази шлункової секреції [423, 424] . Так, перша нейро-рефлекторна фаза регулюється центральною нервовою системою через блукаючий нерв, який здійснює передачу імпульсів до секреторних клітин слизової шлунка за допомогою ацетилхоліну. Друга, нейро-гуморальна фаза, характеризується максимальним викидом гормонів, таких як гастрин та гістамін. В третій, кишковій фазі шлункової секреції, задіяний також гастрин разом з іншими інтестинальними гормонами.

Тому метою наступного етапу нашої роботи було дослідити вплив стимуляторів шлункової секреції на секреторний апарат шлунка після тривалої гіпоацидності, викликанної введенням блокатору протонної помпи омепразолу.

В результаті проведених досліджень встановлено, що через добу після останнього введення фізрозчину у щурів контрольної групи дебіт гідрохлоридної кислоти базальної шлункової секреції становив  $30,4 \pm 10,2$  мкмоль/120 хв. Введення щурам цієї ж групи агоніста нікотинових і мускаринових ацетилхолінових рецепторів карбахоліну викликало зростання шлункової секреції до  $74,9 \pm 18,1$  мкмоль/120 хв, що відповідало збільшенню на  $162,0 \pm 25,2\%$  ( $p < 0,001$ ).

Проте, у дослідній групі щурів, які протягом 28 днів отримували омепразол, базальна шлункова секреція мала широкий діапазон розкиду даних, тому щурів було поділено на дві групи з низьким та високим рівнем секреторної активності. Аналогічний розподіл на групи нами був проведений у попередніх дослідженнях.

Отже, у однієї дослідної групи щурів через добу після 28 денного введення омепразолу відбувалось зниження дебіту базальної шлункової секреції в 2 рази ( $p < 0,01$ ) та становило  $14,5 \pm 6,8$  мкмоль/120 хв. У другій групі щурів навпаки відбувалося підвищення вдвічі інтенсивності базальної шлункової секреції в порівнянні з контролем ( $p < 0,01$ ). При цьому дебіт базальної шлункової секреції досягав рівня  $61,2 \pm 9,6$  мкмоль/120 хв.

Так як за рівнем базальної шлункової секреції щурів дослідної групи було поділено на дві групи для того, щоб більш наглядно побачити вплив стимулятора на шлункову секрецію в кожній із груп та порівняти з дією стимулятора в контрольній групі ми представили результати у відсотках, прийнявши базальний рівень за 100% як в контролі так і в групах з 28-денним введенням омепразолу.

Введення карбахоліну щурам з низьким рівнем базальної секреції стимулювало секреторну активність шлунка на  $101,6 \pm 18,8\%$  ( $p < 0,01$ ) (рис.3.6).

У дослідній групі щурів з високим базальним рівнем гідрохлоридної кислоти, введення карбахоліну стимулювало секрецію на  $199,4 \pm 17,7\%$  ( $p < 0,001$ ) (рис.3.6).

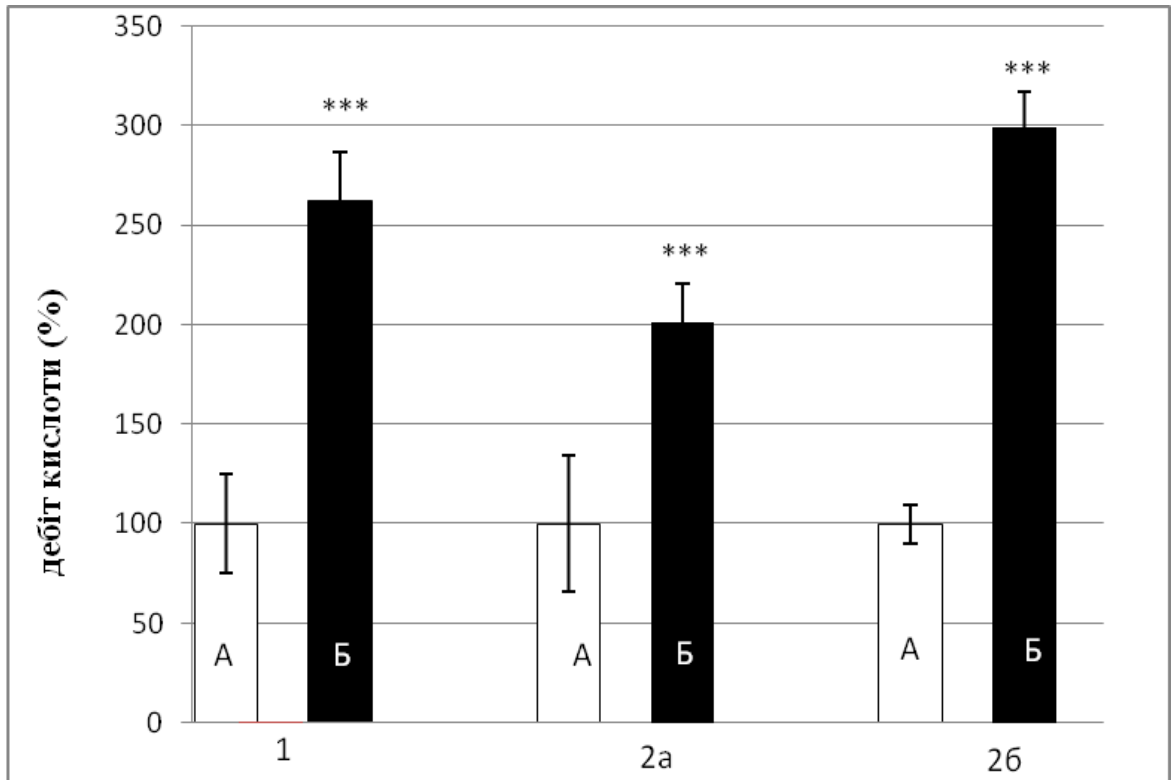


Рис.3.6. Базальна (А) та стимульована (Б) карбахоліном (10 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у контрольній групі щурів та у щурів після 28-ми денного введення омепразолу (14 мг/кг) ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10), 2а – з низьким базальним рівнем секреції після омепразолу (n=8), 2б – з високим базальним рівнем секреції після омепразолу (n=10).

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю.

При цьому незалежно від різнобічних змін базальної шлункової секреції після 28-денного введення омепразолу у щурів обох дослідних груп концентрація гастрину в плазмі крові збільшувалась на 189,3% ( $p < 0,05$ ), тобто спостерігалось явище гіпергастринемії [425] .

Після порівняння стимулюючого ефекту карбахоліну в обох дослідних групах щурів з контрольною групою можна побачити, що гіпергастринемія, викликана тривалим введенням омепразолу, статистично значуще не змінювала ефект секреторної відповіді парієтальних клітин на карбахолін,

тобто чутливість секреторних клітин до стимулятора залишалася майже однаковою (рис.3.6).

Добре відомо, що у процесі секреції шлункового соку ECL- клітини виступають як посередники між G-клітинами і парієтальними клітинами [95]. Продукція гастрину G-клітинами змушує ECL-клітини вивільняти гістамін. Останній сприяє посиленню секреції гідрохлоридної кислоти парієтальними клітинами. Значне підвищення рівня гастрину, що секретується в шлунку, призводить до гіперпластичних і гіпертрофічних змін ECL-клітин [24].

Внаслідок тривалої гіпохлоргідрії шлункового соку, викликаній тривалим введенням блокаторів протонної помпи, можуть розвиватися патологічні зміни ECL-клітин. На пізній стадії: від надмірної кількості клітин (гіперплазії) до їх неправильного розвитку (дисплазії) і переродження (неоплазії) [24, 60, 101, 415].

Тому в наступній серії експерименту нам було цікаво дослідити, як впливає екзогенне введення гістаміну на стимуляцію шлункової секреції у щурів після 28-денного введення омепразолу.

Отже в групі щурів, яка слугувала контролем в данній серії досліджень, дебіт базальної секреції гідрохлоридної кислоти складав  $25,4 \pm 11,1$  мкмоль/120 хв. Після введення гістаміну секреція кислоти зростала на  $203,0 \pm 32\%$  (до  $69,4 \pm 15,6$  мкмоль/120 хв, ( $p < 0,001$ )) (рис.3.7).

Аналогічно попередній серії досліджень після 28-денного введення омепразолу ми отримали дві групи тварин з підвищеною ( $75,1 \pm 12,9$  мкмоль/120 хв) та зниженою шлунковою секрецією ( $18,2 \pm 7,4$  мкмоль/120 хв). Введення гістаміну призводило до зростання соковиділення у групи з низькою шлунковою секрецією на  $137,0 \pm 33,5\%$  (до  $38,9 \pm 12,3$  мкмоль/120 хв) та на  $92,0 \pm 9,9\%$  (до  $143,2 \pm 27,8$  мкмоль/120 хв). В середньому у щурів обох дослідних груп гістамін стимулював соковиділення на  $110,7 \pm 15,4\%$  ( $p < 0,001$ ). Але порівнявши ефект впливу стимулятора гістаміна у щурів дослідних груп з контрольною групою тварин можна побачити, що

секреторна відповідь на гістамін у щурів після тривалого введення омепразолу була на 92,3% слабшою (рис.3.7).

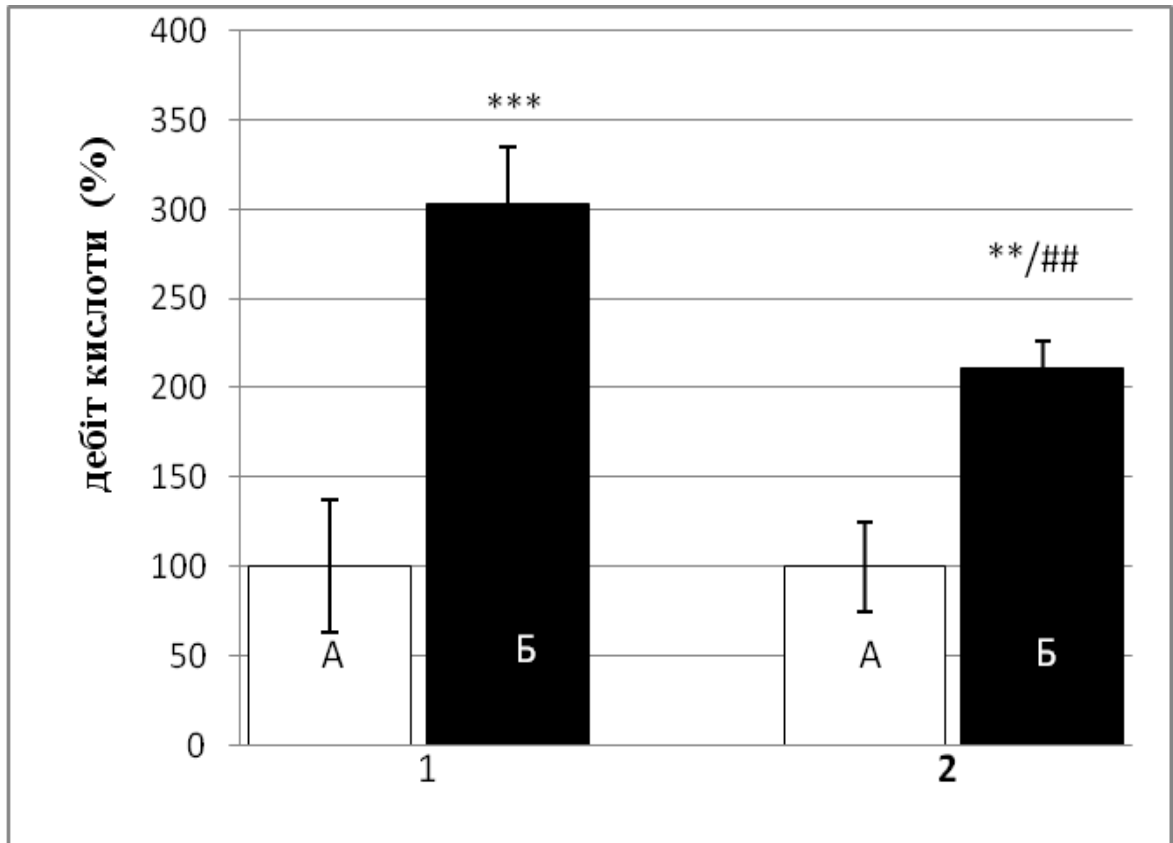


Рис.3.7. Базальна (А) та стимульована (Б) гістаміном (3 мг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у контрольній групі щурів та у щурів після 28-ми денного введення омепразолу (14 мг/кг) ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10),

2 – омепразол (n=17).

Примітки:\*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\* -  $p < 0,01$  порівняно з контролем, ## -  $p < 0,01$  порівняно з дією стимулятора в контрольній групі

З отриманих нами результатів можна зробити висновок, що гіпергастринемія викликана 28-денним введенням омепразолу призводить до падіння чутливості парієтальних клітин до пентагастріну та гістаміну, але не впливає на секреторну відповідь, стимульовану карбахоліном.

Одержані експериментальні дані розширюють наші уявлення про функціонування секреторного апарату шлунка після тривалої гіпергастринемії та в подальшому можуть бути використані для розробки засобів профілактики її негативних наслідків

### **3.4 Чутливість парієтальних клітин до екзогенно введеного гастрину в різні терміни після проведення ваготомії**

Добре відомо, що у регуляції секреції гідрохлоридної кислоти беруть участь різні хімічні і нейрогуморальні фактори [24, 100]. Найбільш сильний стимулюючий вплив мають гастрин і постгангліонарні волокна блукаючого нерва, які виділяють ацетилхолін, що діє на М3-холінорецептори парієтальних клітин. Механізми дії гастрину і блукаючого нерва тісно взаємопов'язані. Збудження блукаючого нерва призводить не тільки до стимуляції М- холінорецепторів парієтальних клітин, але і до прямої стимуляції G-клітин та вивільнення гастрину шляхом пригнічення секреції соматостатину D-клітинами антрального відділу, а в результаті - до посилення секреції гідрохлоридної кислоти [3]. В цей час знижується поріг чутливості парієтальних клітин до циркулюючого в крові гастрину. Збудження блукаючого нерва і вироблення гастрину стимулюють вивільнення гістаміну.

Тому одним із широко вживаних заходів минулого століття у лікуванні виразкової хвороби шлунка та 12-ти палої кишки було проведення різних видів ваготомій [426]. Але, як відомо, після ваготомії відбувається зростання рівня гастрину в крові та виникнення гіперпластичних процесів в слизовій оболонці шлунка [427, 428], тобто процесів подібних до тих, що виникають при медикаментозному пригніченні виділення кислоти H<sub>2</sub>-блокаторами та блокаторами протонної помпи.

Так, в роботі Кветного та співав. було показано, що ваготомія призводить до помірної атрофії слизової шлунка за рахунок гіперплазії парієтальних і головних клітин, але з часом слизова має здатність відновлюватись за рахунок появи незрілих парієтальних клітин, при відносній сталості кількісного складу головних екзокриноцитів [429].

Отже, провівши аналогію між медикаментозно та оперативно викликаною гіпохлоргідрією та її наслідками завданням наступних наших експериментів стало дослідження секреторної функції шлунка у віддалені на 1-2 місяці терміни після проведеної ваготомії.

В результаті наших досліджень через 1 місяць після проведеної стовбурової ваготомії ми спостерігали зростання концентрації гастрину в сироватці дослідних щурів на 95,0 % ( $p < 0,001$ ) до  $109,3 \pm 9,1$  пг/мл, тоді як у контрольних інтактних тварин гастрин становив  $55,9 \pm 13,2$  пг/мл (рис. 3.8). При цьому у ваготомованих щурів базальний рівень шлункової секреції був на 31,0 % ( $p < 0,01$ ) нижче, ніж у інтактних щурів (рис. 3.9), що узгоджується з літературними даними [430–432].

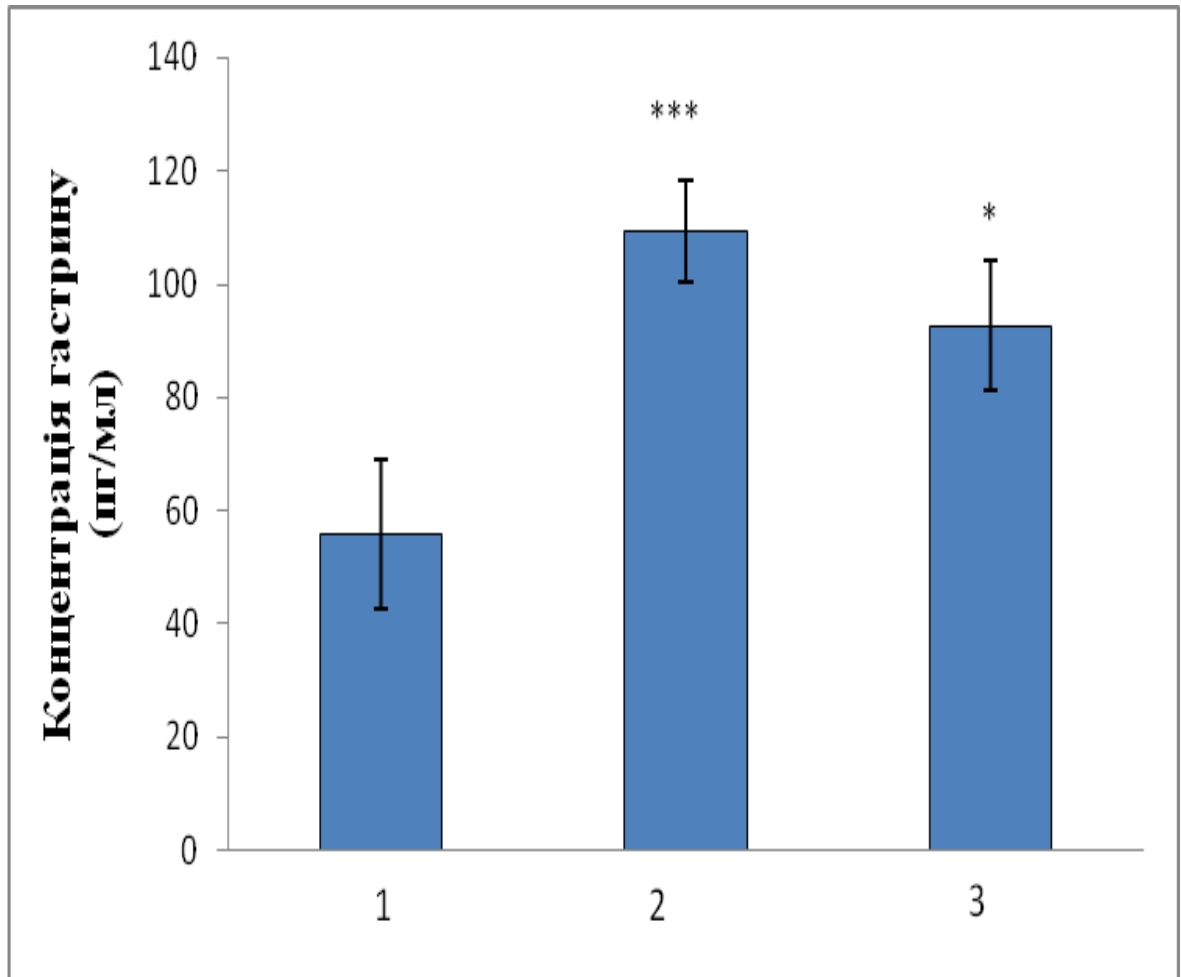


Рис. 3.8. Концентрація гастрину в сироватці крові щурів в різні терміни після ваготомії, ( $M \pm SD$ ):

1- контроль (n=10)

2- через 1 місяць після ваготомії (n=7)

3- через 2 місяця після ваготомії (n=8)

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$ ; \* -  $p < 0,05$  у порівнянні з контролем

Стимуляція шлункової секреції пентагастрином збільшувала базальний рівень гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів з інтактною нервовою системою на 210,0 % ( $p < 0,001$ ) з  $39,5 \pm 5,12$  мкмоль/120 хв до  $122,4 \pm 12,8$  мкмоль/120 хв (рис.3.9).

У групи ваготомованих тварин стимуляція пентагастрином збільшувала базальний рівень секреції на 89,0 % ( $p < 0,01$ ), а саме з  $27,3 \pm 4,2$  мкмоль/120 хв до  $51,8 \pm 9,9$  мкмоль/120 хв (рис. 3.9).

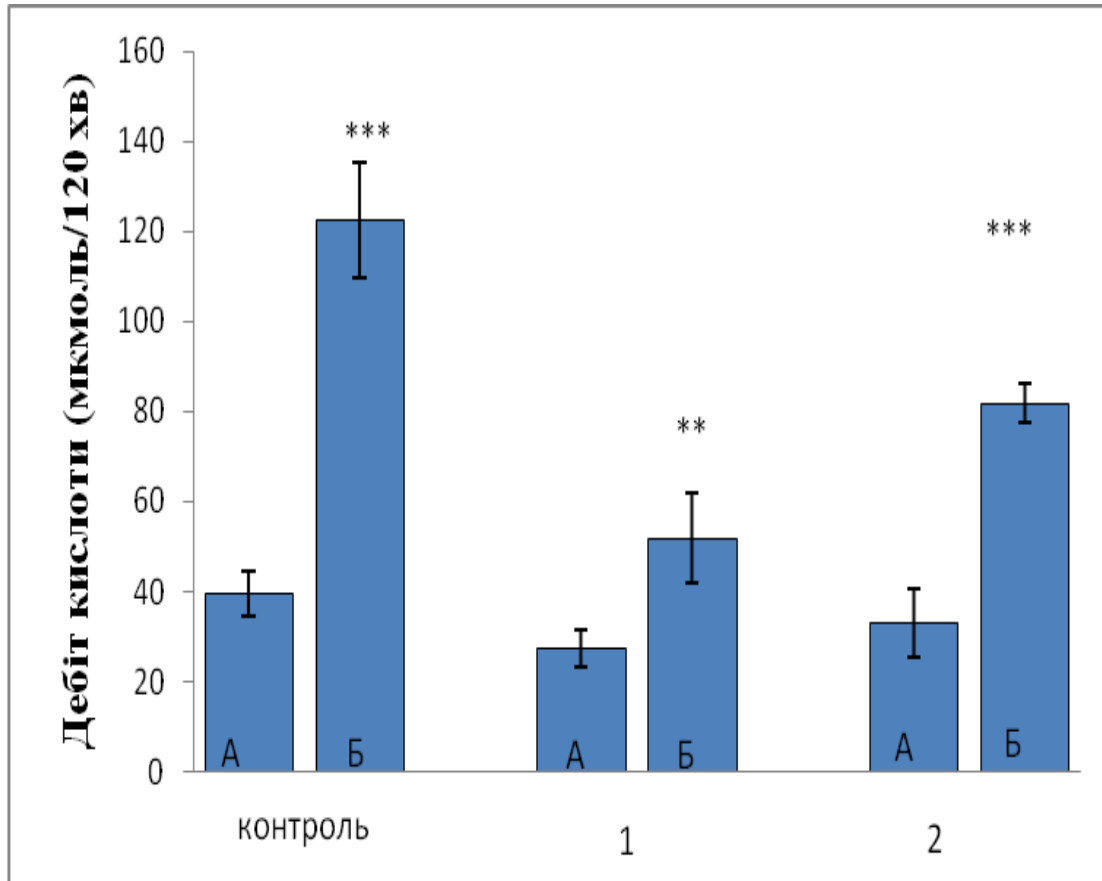


Рис.3.9. Базальна (А) та стимульована (Б) пентагастрином (26 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти у контрольній групі щурів та у щурів після ваготомії ( $M \pm SD$ ):

контроль– щурі з інтактною нервовою системою ( $n=10$ ),

1 – через 1 місяць після ваготомії ( $n=7$ ),

2 – через 2 місяці після ваготомії ( $n=8$ ).

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\* -  $p < 0,01$  порівняно з базальним рівнем секреції.

Одержані результати свідчать про те, що ваготомія усуває холінергічну регуляцію шлунка та зменшує чутливість парієтальних клітин

до гастрину. В підтвердження цього можуть стати дослідження Nakanson та співавторів які показують, що денервація шлунка пригнічує гіперпластичну відповідь ECL-клітин на гастрин [428].

Ми продовжили наші дослідження та дослідили зміни, які відбуваються у більш віддалений термін після проведеної стовбурової ваготомії.

Збільшення часу після проведеної денервації до 2 місяців показало, що рівень гастрину в сироватці крові хоч і мав тенденцію до зниження, проте залишався на високому рівні та становив  $92,7 \pm 11,4$  пг/мл (рис. 3.8).

Базальна шлункова секреція у щурів дослідної групи мала значення дещо нижчі ніж в контрольній групі та складала  $32,2 \pm 6,7$  мкмоль/120 хв, проте ця різниця не була статистично значущою. Введення пентагаstrину ваготомованим щурам призводило до зростання дебіту гідрохлоридної кислоти до  $81,9 \pm 4,3$  мкмоль/120 хв, тобто відбувалась стимуляція шлункової секреції на 154,0% ( $p < 0,001$ ).

Аналізуючи отримані результати ми бачимо, що з часом у прооперованих щурів секреторна відповідь на стимулятор збільшується, тобто зростає чутливість парієтальних клітин, що деякі автори пояснюють регенеративною здатністю слизової оболонки шлунка у віддалені терміни після операції [429, 433].

Таким чином, отримані нами дані співпадають з даними літератури [428, 434] та підтверджують, що інтактна вагусна інервація шлунка потрібна для повноцінного кислотостимулюючого ефекту дії екзогенно введених секретогів, зокрема гастрину.

### 3.5 Кількісний та якісний склад мікрофлори шлунка після 28-денної гіпохлоргідрії

Результатами описаними вище (підрозділ 3.1) було вже показано та підтверджено літературні дані [57, 59–62], що тривала гіпоацидність шлункового соку спричинена введенням омепразолу призводить до явища гіпергастринемії.

Поряд з цим, вченими неодноразово доведено, що тривале зниження кислотності шлункового соку призводить до мікробіологічних порушень і надмірного росту умовно-патогенної флори в шлунку, що може стати причиною запальних процесів в слизовій оболонці шлунка та розвитком інших патологій [435, 436]. В літературі також зустрічаються дані про безпосередній зв'язок впливу дисбіозу на секрецію гастрину [324, 437, 438]. Зокрема зазначається, що запальний процес, який спостерігається при дисбіозі спричиняє виділення прозапальних цитокінів (ІЛ-1 $\alpha$ , -1 $\beta$ , -6, -8, ІФ- $\gamma$  та ФНП- $\alpha$ ), які стимулюють експресію гастринового гена в G-клітинах антральної частини шлунка [222, 254, 324].

Тому подальші наші дослідження були спрямовані на вивчення мікробіоценозу шлунка після 28 денної омепразолвикликанної гіпохлоргідрії.

Так, аналіз мікрофлори шлунка контрольної групи щурів показав обмежений спектр бактерій, що входять до складу біоценозу цього органу (табл.3.5). З отриманих результатів видно, що з найбільшою частотою реєструвалась контамінація шлунка контрольних тварин грибами р. Кандіда, ентерококом, кишковою палочкою, лактобактеріями. Тоді як представники умовно-патогенної мікрофлори в шлунку практично не висівались. Тільки у десятої частини тварин було виявлено цитробактер. Кількісні показники висіву зі шлунка ентерокока, ешеріхій та грибів р. Кандіда не досягали високого рівня та складали  $10^2$ - $10^3$  КУО/г. Концентрація лактобактерій, що виділені зі шлунка, також була незначною ( $10^2$  КУО/г).

Після порівняння стану мікрофлори шлунка у щурів контрольної групи з групою, якій протягом 28 днів пригнічували синтез гідрохлоридної кислоти шляхом введення омепразолу, було відмічено, що у тварин цієї групи спостерігалось значне зменшення частоти висівання лактобактерій та тенденція до зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами р. Кандіда. Статистично підтверджено зниження кількісних показників висіву зі шлунка нормальної мікрофлори. У більш ніж третини тварин вони взагалі не виявлялись. Отримані результати узгоджуються з дослідженнями інших вчених, які зазначають, що індигенна мікрофлора шлунка, в тому числі і лактобацили, має життєво важливе значення в забезпеченні колонізаційної резистентності проти *Candida Albicans*. Автори вказують на те, що *Candida Albicans* може запобігти повторному зростання *Lactobacillus SPP* в шлунку та сприяти підвищенню колонізації *Enterococcus SPP* [361]. У шлунку *Lactobacillus*, робить важливий внесок, так як запобігає колонізації *Candida* через переміщення дріжджів з епітеліального шару шлунка. Лактобактерії можуть також пригнічувати інвазію системної інфекції [439].

Бактеріальний спектр шлунка тварин після 28-ми денної блокади синтезу гідрохлоридної кислоти омепразолом розширився за рахунок висіву клебсієли, ентеробактера, протей, цитробактера (табл.3.3). Концентрація цих умовно-патогенних бактерій досягла високого рівня ( $10^4$ - $10^5$  КУО/г). У нормі загальна кількість цих бактерій (колонієутворюючих одиниць, КУО) в 1 г має бути менше  $10^4$ . Більша кількість перерахованих бактерій є ознакою дисбактеріозу.

Таблиця 3.3

Мікробіоценоз шлунка у щурів після 28-денної омепразол-індукованої гіпохлоргідрії (14мг/кг, внутрішньоочеревинно) (lg КУО/г, M±SD)

Назва мікроорганізмів	Контрольна група n=10	Група з омепразолом n=10
<i>Escherichia coli</i>	3,2±0,03	4,8±0,09 *
<i>Escherichia coli</i> зі зміненими ферментативними властивостями	2,3±0,08	—
<i>Escherichia coli</i> лактозонегативна	—	4,2±0,04
<i>Klebsiella</i>	—	4,1±0,06
<i>Citrobacter</i>	3,9±0,18	4,3±0,15 *
<i>Proteus</i>	—	5,3±0,09
<i>Enterobacter</i>	3,1±0,06	4,3±0,08*
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	4,3±0,06
<i>Staphylococcus epidermidis</i> (з гемолізом)	—	2,7±0,09
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,9±0,09	4,2±0,08 *
<i>Enterococcus</i>	2,0±0,06	3,5±0,06 *
Гриби роду <i>Candida</i>	2,1±0,12	4,2±0,06 *
<i>Lactobacillus</i>	2,2±0,09	1,7±0,06 *

Примітка: \* -  $p < 0,05$ , по відношенню до контролю

На тлі тривалого пригнічення секреції шлункового соку у щурів був висіяний небезпечний *Staphylococcus aureus*, концентрація якого становила

4,2±0,02 lg КУО/г (табл.3.3)., відбувалося зростання концентрації в шлунку грибів роду *Candida* до 4,10±0,02 lg КУО/г, що узгоджуються з даними літератури, де аналогічну картину спостерігали дослідники при лікуванні виразки блокаторами H<sub>2</sub>-гістамінових рецепторів та нестероїдними протизапальними препаратами [440].

Одержані дані свідчать про зниження колонізаційної резистентності слизової оболонки шлунка у тварин на тлі тривалого пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку та про можливість транзиту мікрофлори з кишечника у шлунок висхідним шляхом.

Проте, єдиним мікроорганізмом, який висівався в контрольній групі тварин і був відсутній в групі тварин, які отримували омепразол був *Escherichia coli* (зі зміненими ферментативними властивостями). У зв'язку з цим слід навести дані літератури про те, що інгібітори протонної помпи мають здатність безпосередньо впливати на мембрани ряду бактерій і грибів, що містять АТФази, які блокуються інгібіторами протонної помпи, або побічний вплив на мікросередовище флори можливо за рахунок зміни рН [50, 441, 442]. Показано, що блокатори протонної помпи можуть гальмувати ріст і навіть вбивати деякі з цих мікроорганізмів (наприклад у *Helicobacter pylori*, *Streptococci*, *Lactobacilli*, *S. cerevisiae*) [50, 441, 442]. Тому зменшення висівання *Lactobacillus*, а також елімінацію *Escherichia coli* (лактозонегативні) ми частково пов'язуємо з прийомом омепразолу. В підтвердження отриманих нами даних, можна навести роботу Altman K.W та співавторів, які спостерігали порушення росту *Lactobacillus*, пригнічення нормальної флори та надмірно швидкого зростання дріжджів і інших грибів у природних умовах після прийому одного з інгібіторів протонної помпи пантопразолу [443]. Тому, на тлі яскраво вираженого зростання інших умовно-патогенних бактерій відсутність *Escherichia coli* (лактозонегативної) не позбавляє дисбактеріозу у шлунку після 28-денного прийому омепразолу.

Наші дослідження узгоджуються з дослідженнями інших вчених, які показують, що зменшення кислотності шлункового соку за будь-якої причини (хронічні аутоімунні гастрити, хронічна інфекція *H. pylori*, прийом антисекреторних фармакологічних препаратів) призводить до надмірного бактеріального росту в шлунку [444–449]. Вчені фіксували, що надмірний бактеріальний ріст відбувається, коли рН шлунка  $> 3.8$  [50] та більш поширений у хворих після терапії інгібіторами протонної помпи, ніж у хворих, які приймали  $H_2$ -антагоністи [450]. Лікування протягом 2 тижнів інгібіторами протонної помпи знижує секрецію шлункової кислоти на 75%, і цього було досить, щоб забезпечити бактеріальну колонізацію шлунка у здорових волонтерів [50].

Бактерії можуть потрапляти в шлунок із їжею, з ротової порожнини і глотки або мігрувати в шлунок з тонкого та / або товстого кишечника завдяки ентерогастральному рефлюксу та іншим моторним ефектам [50, 451]. В умовах же збереженої кислотності шлункового соку кислота захищає організм від проковтнутих мікроорганізмів [354, 355, 448, 452], а зменшена кислотність може призводити до інфекційних захворювань [45, 47, 49, 50, 452].

В умовах дисбактеріозу і гіпергастринемії під час зниження секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку розвивається окисний стрес, який пов'язаний з дисбалансом в системі антиоксидантного захисту. Дослідженнями проведеними в нашій лабораторії було вже показано, що після 28-денної омепразоліндукованої гіпохлоргідрії відбувається значне зростання продуктів перекисного окислення ліпідів в гомогенаті слизової оболонки шлунка щурів [453].

Отримані результати на тлі значного збільшення вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів можуть свідчити про розвиток окисного стресу в слизовій оболонці шлунка, який також пов'язаний з дисбалансом в

системі антиоксидантного захисту в шлунку в умовах гіпергастринемії і дисбактеріозу під час зниження секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку.

Таким чином, тривале зниження кислотності шлункового соку призводить до мікробіологічних порушень і надмірного росту умовно-патогенної флори в шлунку, яка може стати причиною серйозної інфекції, посилити запальні процеси в слизовій оболонці шлунка. Токсичні продукти метаболізму надмірно розмноженої умовно-патогенної флори посилюють симптоми інтоксикації, знижують детоксикаційну функцію печінки, пригнічують регенераційні процеси в слизовій оболонці, а дефіцит цукролітичних анаеробів знижує енергозабезпечення клітин епітеліальної тканини, викликаючи її дистрофічні зміни. Також в роботах Laheij та Herzig показано, що прийом інгібіторів протонної помпи може стати причиною розвитку внутрішньогоспітальної пневмонії [45, 46], доведено зв'язок між терапією інгібіторами протонної помпи і спонтанним бактеріальним перитонітом у пацієнтів з цирозом і асцитом [454].

На сьогодні вже відомо про взаємозв'язок між бактеріальним інфікуванням шлунку та секрецією гастрину [324]. Встановлено, що колонізація шлунку *Helicobacter pylori* запускає імунну відповідь Т-хелперів першого порядку (Th-1) [81] з вивільненням головного Th-1 цитокіну – інтерферону-гамма (ІФН- $\gamma$ ), який стимулює секрецію гастрину [222]. Гастрин же є мітогенним фактором для росту епітеліального шару клітин, та може бути причиною розвитку неопластичних процесів. Вчені пояснюють виникнення некардіального раку шлунка у пацієнтів з гіпохлоргідрією, насамперед, з надмірним бактеріальним ростом.

### **3.6 Морфологічний стан слизової оболонки шлунка щурів після 28 - денного введення омепразолу**

Описані в попередніх підрозділах зміни в секреторній активності парієтальних клітин, які виникають після 28-денної гіпохлоргідрії, ми спробували пояснити проведенням наступної серії експериментів.

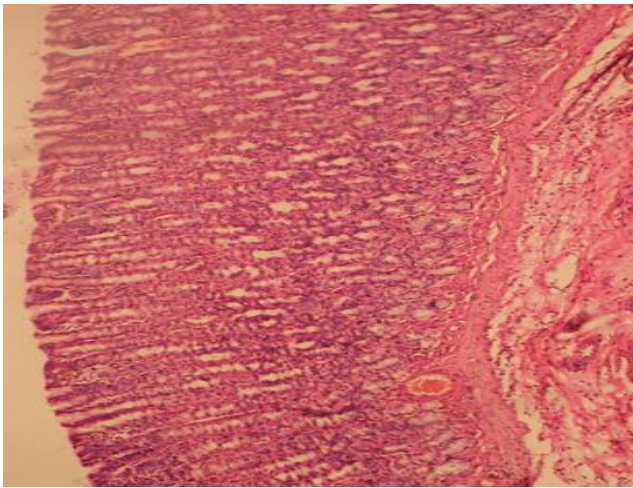
Так як секреція гідрохлоридної кислоти може вказувати на морфологічну цілісність слизової оболонки, тому метою наступного розділу дисертаційної роботи стало проведення морфологічного дослідження слизової шлунка за умов тривалої гіпоацидності, викликаної омепразолом.

Як відомо, стінка шлунка складається з чотирьох шарів – поверхню шлунка утворює слизова оболонка, за нею йдуть підслизова основа, м'язевий шар і серозна оболонка. В шлунку виділяють складки і ямки. Шлункові ямки являють собою численні заглиблення епітелія, в які відкриваються залози. Покривний епітелій шлунка складається з одного типу клітин циліндричних, поверхневих епітеліоцитів, які виділяють слизоподібний секрет, який виконує захисну функцію.

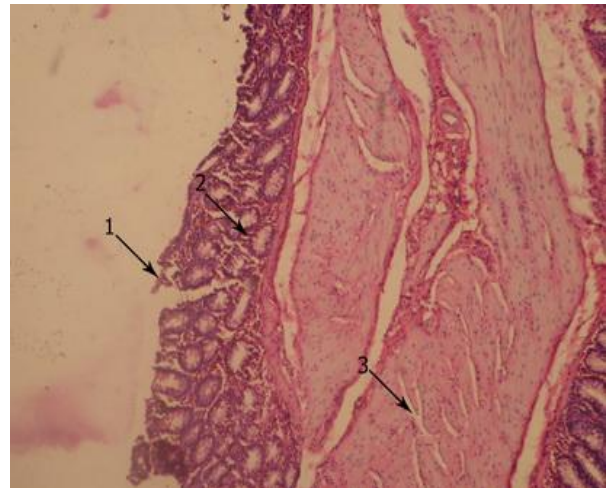
Мікроскопічно в слизовій оболонці шлунка виділяють три зони – кардіальну, фундальну і пілоричну (антральну). В кожній зоні знаходяться характерні для неї залози. В шлункових залозах виділяють шийку і головну частину, що складається з тіла і дна. Головна частина є секреторним відділом, а шийка – виводною протокою залози.

Аналіз гістологічної картини слизової оболонки шлунка показав, що у щурів контрольної групи, яким протягом 28 діб вводили фізіологічний розчин, слизова оболонка мала нормальну гістологічну будову (Рис.3.10 А). На препаратах фундального відділу шлунка можна було бачити прості трубчасті нерозгалужені залози (рис.3.10А). Шийка цих залоз складається з камбіальних клітин і шийкових мукоцитів. В епітеліальній стінці тіла і дна фундальних залоз виділяють головні і парієтальні екзокриноцити, мукоцити,

ендокриноцити і малодиференційовані епітеліоцити. Парієтальні клітини – крупні, овальні або неправильної форми клітини, розміщені у складі стінки залози поміж головними клітинами і мукоцитами. Цитоплазма парієтальних клітин різко оксифільна, ядро знаходиться в центральній частині клітини. В цитоплазмі є система внутрішньоклітинних секреторних каналців, що переходять в міжклітинні каналці. Мукоцити являють собою слизові клітини призматичної форми із світлою цитоплазмою, ущільненим ядром, яке зміщене в базальну частину. Розміщені мукоцити в головній частині залози, функцією їх є вироблення слизу.



А. Контрольна група.



Б. Група з омепразолом

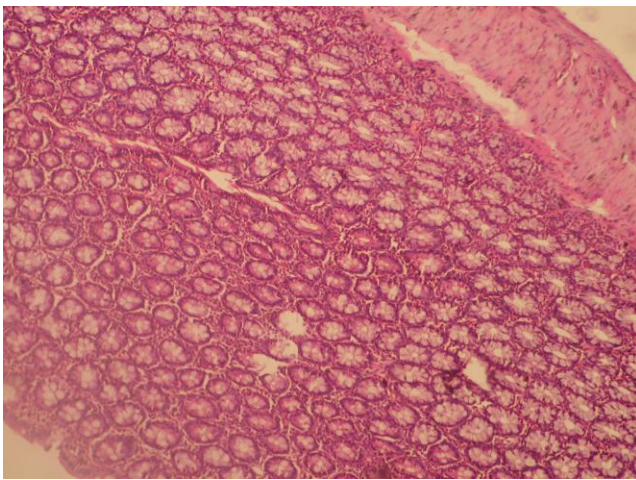
Рис. 3.10. Мікрофотографія слизової оболонки фундального відділу шлунка після 28-денного введення омепразола (14 мг/кг). Забарвлення гематоксиліном і еозином - х 120:

- 1-дисквамация епітелію,
- 2-деструктивні зміни glandулоцитів,
- 3- розшарування м'язової оболонки.

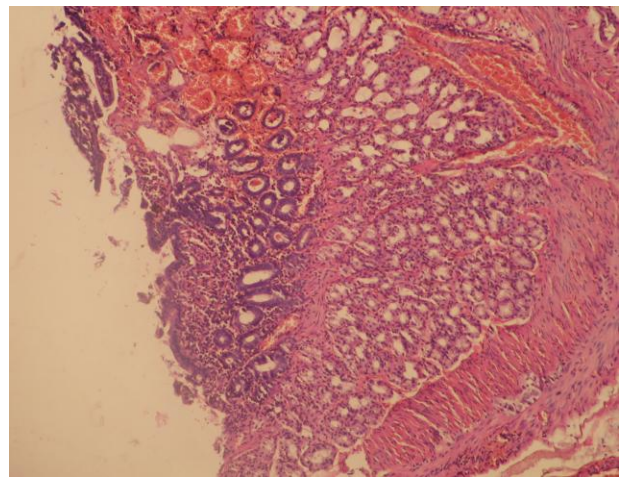
Ендокриноцити шлунка – клітини з більш світлою цитоплазмою, ніж в інших епітеліальних клітин, а також з наявністю в цитоплазмі секреторних гранул.

Оскільки ці клітини здатні відновлювати нітрат срібла, їх називають аргірофільними. На препаратах антрального відділу шлунка контрольної групи шурів було видно трубчасті залози з короткими і розгалуженими кінцевими відділами. Між цими залозами добре виражені прошарки сполучної тканини слизової оболонки. Епітелій пілоричних залоз утворений переважно мукоцитами і ендокриноцитами.

На гістологічних препаратах після 28-денного введення омепразолу у слизовій оболонці шлунка спостерігалася десквамція епітелію слизової оболонки, у окремих залозах гландулоцити піддавались деструктивним змінам. У підслизовій основі і власній пластинці слизової оболонки велика кількість клітин з оксифільною цитоплазмою. Спостерігалась інфільтрація власної пластинки і підслизової основи лейкоцитами. Зазнавав змін внутрішній шар м'язової оболонки- місцями спостерігаються розшарування (рис.3.10.Б). Також в антральному відділі відмічались ділянки поверхневого виразкування слизової (рис.3.11Б).



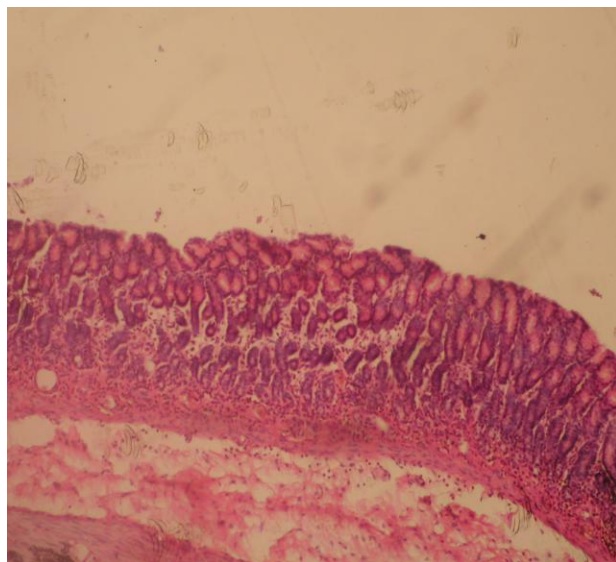
А.Контрольна група.



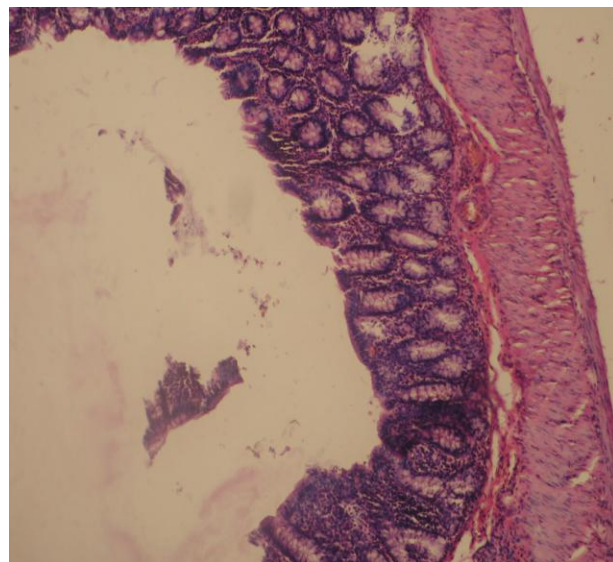
Б. Група з омепразолом (ділянки поверхневого виразкування слизової оболонки в антральному відділі шлунка)

Рис. 3.11 Мікрофотографія слизової оболонки антрального відділу шлунка після 28-денного введення омепразолу (14 мг/кг). Забарвлення гематоксиліном і еозином - x 120

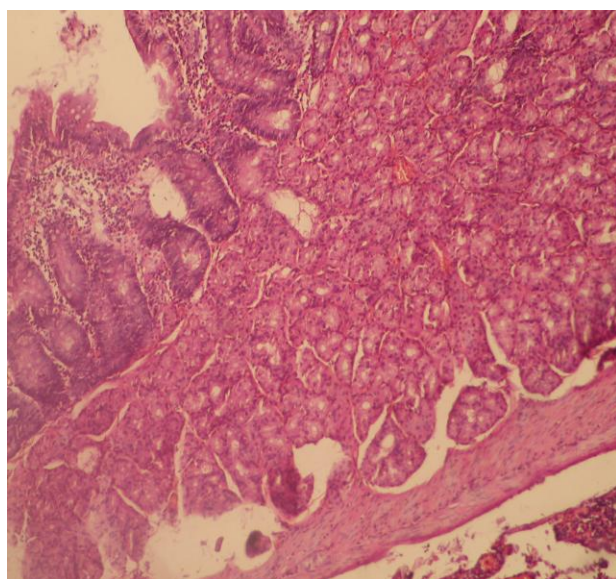
В групі тварин, що приймали 28 днів омепразол, відмічались вкорочення залоз і зменшення їх кількості, що є основною ознакою атрофії (рис.3.12.А).



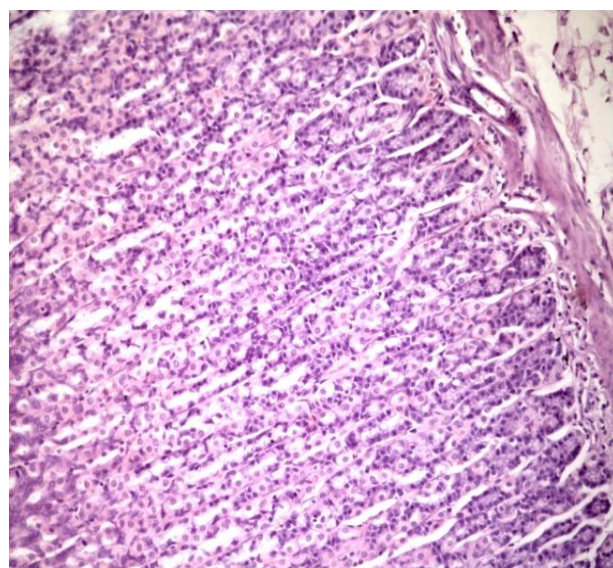
А



Б



В



Г

Рис. 3.12 Мікрофотографія слизової оболонки шлунка після 28 денного введення омепразолу. Забарвлення гематоксилином і еозином - x 120:

- А. Явища атрофії в слизовій шлунка – вкорочення залоз і зменшення їх кількості.
- Б. Явища кишкової метаплазії в слизовій оболонці фундального відділу шлунка.
- В. Ділянки кишкової метаплазії залоз в антральному відділі шлунка.
- Г. Явище гіпертрофії в слизовій оболонці антрального відділу шлунка

В частині випадків спостерігались ділянки значного вкорочення залоз і зменшення висоти слизової оболонки (Рис.3.12Б). Також на препаратах можна було побачити явища кишкової метаплазії залоз, коли келихоподібні клітини вистилають ворсини і крипти, в фундальному відділі (рис.3.12.А) і в антральному відділі (рис.3.12. В, Б).

Тривала омепразол-викликана гіпохлоргідрія призводила також і до гіпертрофії в слизовій оболонці антрального відділу шлунка (рис.3.12Г).

В одному з випадків в слизовій оболонці спостерігалась виражена лімфоїдно-клітинна інфільтрація із заміщенням залоз (рис.3.13).

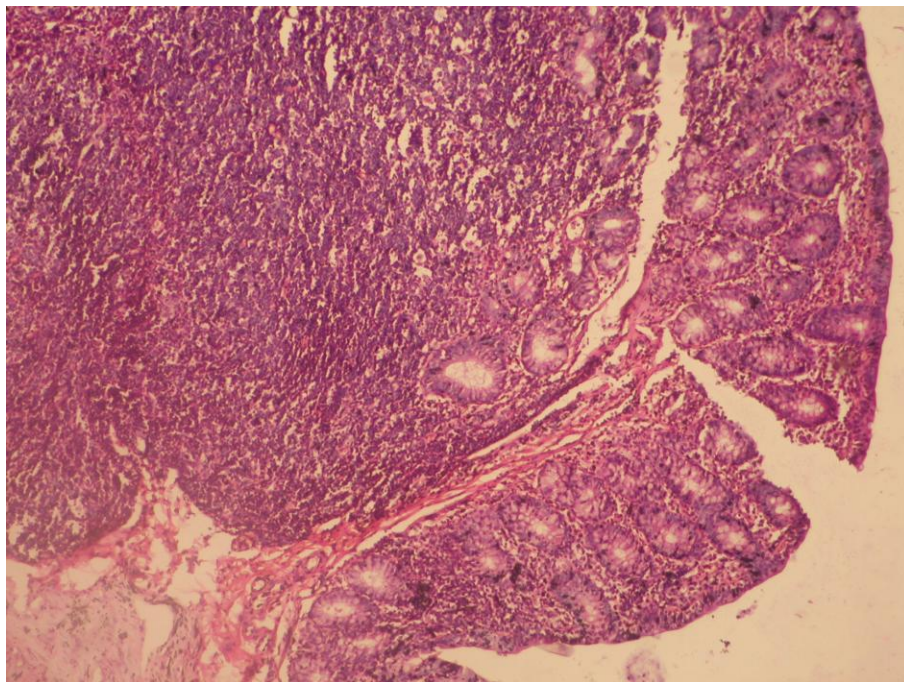


Рис. 3.13. Мікрофотографія слизової оболонки шлунка після 28-денного введення омепразолу. Вогнищева виражена лімфоїдноклітинна інфільтрація слизової оболонки шлунка із заміщенням залоз. Зabarвлення гематоксилін-еозином. x 120

При аналізі морфометричних показників в слизовій оболонці шлунка контрольної групи виявлено, що висота слизової оболонки фундального відділу шлунка шурів контрольної групи складає  $461,1 \pm 8,51$  мкм, площа

поперечного перерізу парієтальних клітин –  $197,29 \pm 12,19$  мкм<sup>2</sup>, площа поперечного перерізу ядер парієтальних клітин –  $33,95 \pm 1,89$  мкм<sup>2</sup>, ядерно-цитоплазматичне співвідношення становить  $0,173 \pm 0,014$  (табл. 3.4).

Аналіз морфометричних змін у слизовій оболонці шлунка після 28-денної гіпохлоргідрії виявив відмінності в цій групі щурів, які і дають змогу пояснити чому ми спостерігали різні зміни в секретії гідрохлоридної кислоти у дослідної групи щурів. Так, у частини щурів внаслідок 28-денного введення омепразолу висота слизової оболонки фундального відділу шлунка у порівнянні з контролем збільшується на 4,86% ( $p < 0,001$ ), площа поперечного перерізу парієтальних клітин – на 8,57% ( $p < 0,001$ ). Спостерігається зменшення площі поперечного перерізу ядер парієтальних клітин на 11,7% ( $p < 0,001$ ), ядерно-цитоплазматичне співвідношення також зменшується на 19,7 % ( $p < 0,001$ ) (табл.3.4). Отримана морфологічна картина після 28 денного введення омепразолу свідчить про розвиток дисрегенераторного процесу в клітинах слизової оболонки шлунка, а саме, явища атрофії.

Поряд з цим була частина тварин у яких після тривалого введення омепразолу висота слизової оболонки фундального відділу шлунка у порівнянні з контролем збільшується на 17,0% ( $p < 0,001$ ), площа поперечного перерізу парієтальних клітин зменшується на 19,5% ( $p < 0,001$ ). Спостерігається збільшення площі поперечного перерізу ядер парієтальних клітин на 26,0% ( $p < 0,001$ ), ядерно-цитоплазматичне співвідношення збільшується на 52,0% ( $p < 0,001$ ) (табл.3.4).

Морфометричні показники слизової оболонки шлунка даної групи щурів характерні для процесів дисплазії та метаплазії в слизовій шлунка. Об'єктивно відображає глибину структурних змін в слизовій оболонці шлунка пригнічення кислотоутворюючої функції, про що було описано вище.

Отже, омепразол викликає морфо-функціональні зміни як на рівні всієї слизової оболонки шлунка (збільшення висоти слизової оболонки , розвиток

запалення, набряк), так і на рівні її окремих структурних елементів (поліморфність клітин і ядер, зміни розмірів ендокриноцитів, зменшення або збільшення розмірів їх ядер, зміна ядерно-цитоплазматичного співвідношення).

Таблиця 3.4.

Морфометричні показники слизової оболонки фундального відділу шлунка після 28-денного введення омепразолу,  $M \pm SD$

Досліджуваний показник	Контрольна група n=7	Омепразол (14 мг/кг) n=18	
		№1 n=10	№2 n=8
Висота слизової оболонки	461,1±8,51 мкм	484,67±10,1*** мкм	539,3±12,1*** мкм
Площа поперечного перерізу парієтальних клітин	197,29±12,19 мкм <sup>2</sup>	215,78±6,47*** мкм <sup>2</sup>	159,5±4,44*** мкм <sup>2</sup>
Площа поперечного перерізу ядер парієтальних клітин	33,95±1,89 мкм <sup>2</sup>	29,97±3,36*** мкм <sup>2</sup>	42,86±5,22*** мкм <sup>2</sup>
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення	0,173±0,014	0,139±0,018***	0,212±0,011***

Примітка: \*\*\* - різниця статистично значуща в порівнянні з контролем ( $p < 0,001$ )

Отримані нами результати підтверджуються даними літератури, за якими гіпергастринемія у щурів, спричинена введенням як блокаторів  $H_2$ -

гістамінових рецепторів [455, 456], так і блокатора  $H^+-K^+$ -АТФази омепразолу викликає морфологічні зміни в слизовій оболонці шлунка [43, 44], що відображається на секреторному процесі. Так, при підвищеній секреторній функції шлунка нерідко виявляються гіперпластичні процеси слизової оболонки, гіпертрофія парієтальних клітин, посилення діяльності мукоїдних клітин, підвищення вмісту рибонуклеопротейдів в головних клітинах і активності окисно-відновних ферментів в цитоплазмі парієтальних клітин. Поєднання гіперплазії парієтальних клітин з їх прискореною диференціацією становить морфологічний субстрат гіперсекреторного синдрому [457].

За даними літератури, морфологічні порушення можуть залежати від тривалості введення омепразолу, та проявляються в гіперплазії ендокриноцитів, парієтальних клітин шлунку та зміні висоти слизової оболонки, а у деяких щурів до суттєвих ультраструктурних змін в слизовій оболонці шлунка, основними ознаками яких є поява епітеліоцитів з гіпертрофованими ядром і ядерцем та метаплазії (перетворення стовпчастих епітеліоцитів на типові епідермоцити з формуванням основних клітинних шарів, властивих епідермісу шкіри) [458]. Проведений аналіз показав, що у щурів, які отримували омепразол, в епітеліальному шарі спостерігаються такі перебудови клітин, які свідчать про розвиток пухлинного процесу. Це поява епітеліоцитів з ядром, що займає більшу частину об'єму клітин, та гіпертрофованим ядерцем [459, 460]. Але найбільш вагомим підтвердженням пухлинного переродження епітеліоцитів є метаплазія, яка відбувається в шлунку. Разом з тим, в інших шарах слизової шлунку посилюються процеси загибелі клітин шляхом апоптозу. Можна припустити, що це захисна відповідь організму, спрямована проти розвитку пухлини, так як відомо, що одним із механізмів спонтанної регресії пухлини є саме апоптоз.

Слід зазначити, що дисплазія у щурів за однакових умов введення омепразолу виникає не у 100% випадків. Так само і у людей,

гіпергастринемія, що розвивається на фоні гіпоацидності шлункового соку або ахілії не завжди веде до малігнізації слизової оболонки шлунка. Сотников В. та співавтори стверджують, що при атрофії 1 і 2 ступеня нормальна і підвищена кислотопродукція зустрічається так само часто, як і знижена. Лише при атрофії 3 ступеня спостерігається гіпоацидність [461].

Отже, отримані нами раніше дані про зміни в секторній функції шлунка мають пояснення та вказують на те, що 28-денне введення блокатора ключового фермента синтезу гідрохлоридної кислоти  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу призводить до морфологічних змін в слизовій оболонці шлунка [421]. В проведених нами дослідженнях, було показано перехід від гіперпластичних до диспластичних змін в слизовій оболонці шлунка, що відобразилось на секреторній функції шлунка. Адаже кислотність шлункового соку залежить від кількості функціонуючих парієтальних клітин. Нами було показано, що через добу після 28 днів введення шурам омепразолу, шлункова секреція кислоти у частини щурів зростає, а у частини – знижується, що обумовлено в першому випадку проліферацією парієтальних клітин, а у другому – розвитком диспластичних змін, які призводять до пухлин.

### **3.7 Цитотопографія лектинових рецепторів у слизовій оболонці шлунка щурів за умов 28-денного введення блокатора $H^+K^+$ -АТФази**

Як відомо, пухлинний ріст часто супроводжується змінами у ступені спеціалізації і типах зв'язку на поверхні пухлинних клітин. Зважаючи на це, для встановлення природи виявлених змін доцільно використати метод лектинової гістохімії. Поверхневі вуглеводні детермінанти плазмолемі відіграють значну роль у процесі метастазування і змінюються у процесі злоякісної трансформації, а їх блокада призводить до зменшення адгезії

клітин новоутворень до компонентів позаклітинного матриксу. Враховуючи дані літератури стосовно пухлинних процесів і участі у них глікополімерів поверхні клітин [462, 463] та структур позаклітинного матриксу, нами було досліджено цитотопографію лектинових рецепторів у слизовій оболонці шлунка щурів з тривалою гіпоацидністю шлункового соку, викликаній 28денним введенням омепразолу.

Як відомо, трансформація клітин супроводжується змінами складу глікокон'югатів їх плазматичних мембран, спостерігається тенденція до незавершеності кінцевих етапів біосинтеза вуглеводвмісних біополімерів у клітинах, а саме, пригнічення процесів сіалювання, манозилування, збільшення вмісту у складі таких дефектних глікокон'югатів макромолекул з кінцевими залишками D-галактози, N-ацетил-D-галактозаміна [391]. Гістохімічним свідченням незрілості клітин є D-галактокон'югати, які в значній кількості характерні для малодиференційованих клітин [392]. Ці та інші сполуки дають змогу виявити лектини, які являють собою групу глікопротеїнів, здатних специфічно розпізнавати та зворотньо зв'язуватись з вуглеводами та їх похідними у складі клітинних та субклітинних структур. Вуглеводзв'язуюча активність лектинів пов'язана з доменом вуглеводного розпізнавання, який являє собою специфічний білковий домен всередині лектинового поліпептиду і зв'язує вуглевод за схемою антиген-антитіло [391, 464, 465].

До рецепторів лектинів належать вуглеводвмісні молекули, такі, як глікопротеїни, протеоглікани, гліколіпіди, глікозаміноглікани та ряд інших полімерів. Завдяки вибірковості зв'язування окремих лектинів з різними клітинами можна диференціювати окремі субпопуляції морфологічно однорідних клітин. В основі здатності лектинів вибірково зв'язуватися з певними типами клітин чи їх популяцій лежить здатність лектинів проявляти максимальну авідність до глікокон'югатів чітко визначеної структури. Взаємодію лектину з глікокон'югатами лише певного різновиду клітин

зумовлюють додаткові фактори зв'язування - характер глікозидного зв'язку, конфігурація олігосахаридного ланцюга, заряди кінцевого вуглеводного залишка глікокон'югатів та активного центра лектина, відсутність стереохімічних перешкод для взаємодії лектина та його рецептора, структура кінцевого нередукуючого моносахаридного залишка олігосахаридного ланцюга [462, 464].

Порушення остаточного глікозилювання рецепторів лектинів зумовлено різким зниженням здатності фетальних та ракових клітин продукувати глікопротеїни та гліколіпіди з повністю синтезованим олігосахаридним ланцюгом, хоча можливі також зміни у бік посилення сіалювання. Найважливішими ознаками епітеліальних пухлин травного каналу вважаються збільшення кількості рецепторів лектинів арахіса, сої та «золотого дощу» у сполученні з атиповістю локалізації у пухлинних клітинах глікокон'югатів, які зв'язують ці лектини [391, 462, 465, 466]. При цьому дифузне розміщення рецепторів лектину арахіса на поверхні плазмолем та в цитоплазмі епітеліоцитів доброякісних пухлин вважається прогностичною ознакою їх малігнізації. При дисплазіях та доброякісних пухлинах відмічається переміщення рецепторів лектинів арахіса та зародків пшениці з апікальних поверхонь плазмалеми на всю поверхню епітеліоцитів, з'являються окремі клітини зі слабким гомогенним забарвленням цитоплазми, які накопичують рецептори лектинів. Характеристикою пухлинної прогресії є збільшення мозаїчності зафарбовування гістологічних препаратів при обробці лектинами, особливо лектинами арахіса, що свідчить про незбалансованість синтетичних процесів трансформованих клітин [391, 465]. Вона проявляється у зміні стійкості синтезованих глікополімерів до дії ферментів. Після синтезу незавершених або дефектних глікокон'югатів відбувається їх перерозподіл з місць типової локалізації спочатку на поверхню всієї плазмалеми, а потім дифузне накопичення в цитоплазмі. Найкращим маркером злоякісної трансформації клітин є лектин арахіса, який

дозволяє виявити пухлинну прогресію на найбільш ранніх етапах пухлинного розвитку [464, 465, 467]. Збільшення ступеня злоякісності пухлини корелює з редукцією числа рецепторів лектинів, що зумовлює зменшення інтенсивності забарвлення плазмалеми та появу ареактивних клітин. Зміни молекулярно-просторової структури глікокон'югатів поверхні плазмалеми трансформованих клітин супроводжуються зростанням латеральної рухливості мембранних рецепторів лектинів, а також утворенням локальних скупчень рецепторів у певних ділянках плазмалеми [391, 468].

Важливу роль у захисті слизової оболонки шлунка від механічних та хімічних пошкоджень виконує слиз, основними складовими якого є глікопротеїни та протеоглікани. Накопичені факти свідчать, що на етапі раннього передракового ураження шлунка, наприклад такого як кишкова метаплазія, втрачається нормальний характер глікозилювання, і в шлунковому епітелії з'являються кишкові муцини MUC2 та MUC4 [469, 470] та змінюється структура глікопротеїнів слизу [471]. Нами та іншими дослідниками було показано, що тривале пригнічення шлункової секреції інгібітором  $H^+K^+$ -АТФази омепразолом у щурів призводить до передракового ураження слизової шлунка [62, 472].

Для вивчення патоморфології пухлинних процесів останнім часом широкого використання набули лектини, тому що більшість асоційованих з пухлинами антигенів є вуглеводовмісними біополімерами і належать до глікопротеїнів [391]. Лектини-це білки рослинного, тваринного та мікробного походження, характерною ознакою яких є вибіркоче і зворотне зв'язування з вуглеводами, яке не призводить до зміни хімічної структури останніх. Лектини характеризуються специфічністю зв'язування як зі структурними компонентами нормальної слизової оболонки, так і з глікокон'югатами поверхні плазмалеми трансформованих клітин, що дає можливість локалізувати та охарактеризувати зміни, які виникають при розвитку

неопластичних змін. Маючи високий ступінь глікозилування, ракові клітини значно піддаються аглютинуючій дії лектинів [391, 465, 473].

У проведеному дослідженні лектинової гістохімії слизової оболонки шлунка було показано наступні особливості цитотопографії рецепторів використаних лектинів (табл.3.5). Так у тварин контрольної групи у структурних компонентах слизової оболонки більшість використаних нами лектинів таких як НРА, WGA, SNA, RCA зв'язувалися з клітинами епітеліальної пластинки (рис.3.14) особливо її апікальної поверхні, що вказує на присутність вуглеводних детермінант у вигляді NAcDGal, NAcDGle,

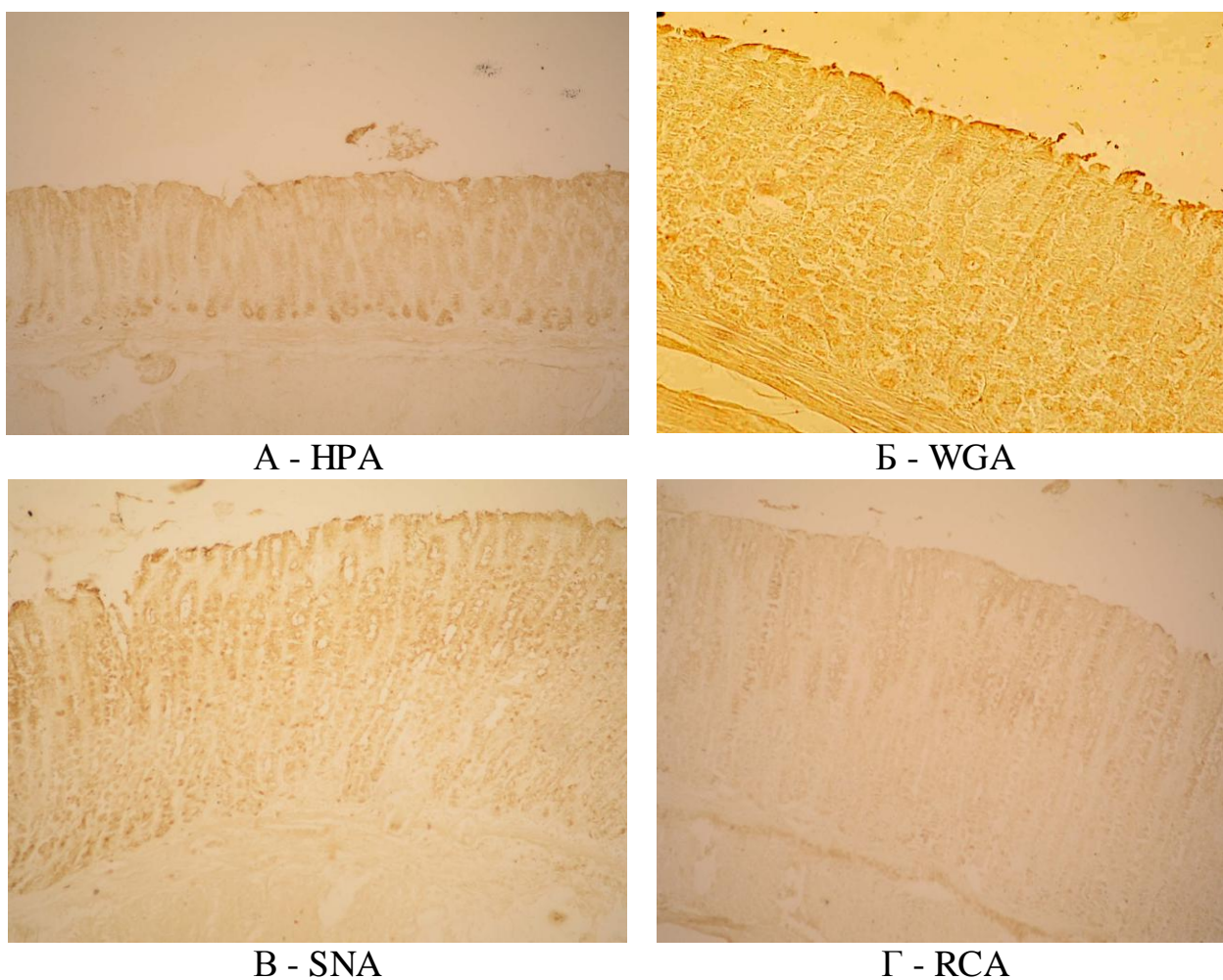


Рис. 3.14. Особливості експресії лектинових рецепторів НРА, WGA, SNA і RCA слизової оболонки фундального відділу шлунка контрольної групи щурів., x 100.

Neu5Ac/2→6Gal, що входять до складу слизово-бікарбонатного бар'єру та забезпечують процеси його в'язкості і проникності, а також процеси міжклітинної взаємодії.

Таблиця.3.5

Цитотопографія рецепторів лектинів у структурних компонентах шлунка щурів.

Експериментальні групи	Контроль					Омепразол				
	Е П	Залози				ЕП	Залози			
		ГК	ПК	М	е		ГК	ПК	М	е
Структурні компоненти СОШ										
Лектини та їх вуглеводна специфічність										
HPA, специфічний до NAcαDGal	++	-	+	-	-	++	++	++	+-	-
PNA, специфічний до βDGal	ГЗ			-	-	++ +	+	+	-	-
LABA, специфічний до αLFuc	ГЗ					ГЗ				
WGA, специфічний до NAcDGle, NeuNAe	+	-	++	-	-	++ +	+++	++	+++	-
SNA, специфічний до Neu5Ac/2→6Gal	++	-	++	-	-	+	-	-	-	-

Продовження таблиці 4.1

SBA, специфічний до NAcDGal	ГЗ					+	+++	-	-	-
RCA, специфічний до $\beta$ DGal $\beta$ DGalN Ac	++	-	++	-	-	++	+ - ++	+	+	-

Примітка: еп- епітеліальна пластинка, гк- головні клітини, пк-парієтальні клітини, е-ендокриноцити, м- мукоцити, ГЗ-гомогенне зв'язування, СОШ-слизова оболонка шлунка

+++ інтенсивне зв'язування

++ помірно зв'язування

+ слабке зв'язування

- відсутність зв'язування

+ - гетерогенність зв'язування

Слід звернути увагу, що компоненти слизово-бікарбонатного бар'єру слизової оболонки шлунка тварин контрольної групи були позбавлені  $\alpha$ LFuc і  $\beta$ DGal.

У залозах шлунка більшість лектинів проявляли спорідненість до парієтальних клітин у залежності від їх локалізації. Так у ділянці дна залоз у парієтальних клітинах відмічена експресія рецепторів лектинів НРА та WGA (рис.3.14), у процесі формування секрету дещо змінюється їх вуглеводний профіль.

При введенні омепразолу упродовж 28 днів (табл.3.5) ми констатували у складі слизово-бікарбонатного бар'єру появу  $\beta$ DGal (табл.3.5), що свідчить про незначні маркування сіалогліканів та порушення процесів кінцевого гліколізування вуглеводвміщуючих біополімерів, а саме відсутність маркування NAcDGal сіаловою кислотою [391].

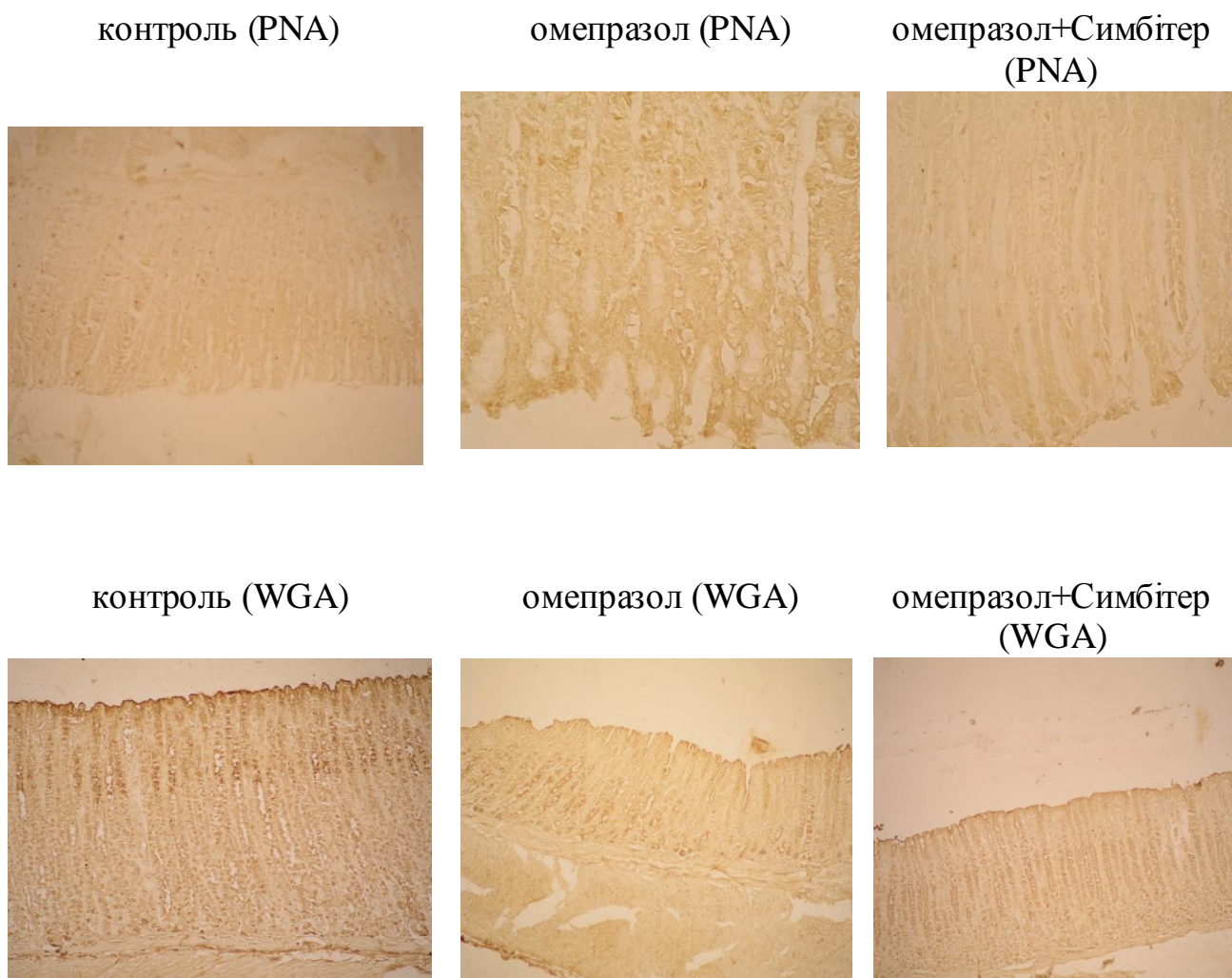


Рис.3.15. Мікрофотографії слизової оболонки шлунка щурів при забарвленні:  
 PNA – лектинами насіння арахісу PNA, (специфічного до  $\beta$ DGal-  
 H $\rightarrow$ 3DGalNAcDGal)  
 WGA – лектинами зародку пшениці WGA (специфічного до NAcDGle)

Натомість головні клітини залоз змінювали свій вуглеводний профіль, якщо у контролі ці клітини були ареактивні до лектинів або проявляли гомогенне зв'язування, то при введенні омепразолу ми констатували

експресію рецепторів лектинів HPA, SBA, WGA на поверхні мембран та у внутрішньоклітинних компартментах цих клітин, що вказує на зміну хімічного складу секрету, та процесів його формування. Характерно, що у ядрах як головних, так і парієтальних клітин з'являються рецептори  $\beta$ DGal-специфічного лектину PNA (рис.3.15). Мукоцити локалізовані ближче до дна шлункових ямок проявляли афінність до NAcDGlє специфічного лектину WGA. Отже, введення омепразолу призводить до змін слизово-бікарбонатного бар'єру та адгезивних міжклітинних взаємозв'язків, синтезу вуглеводних компонентів поверхні клітин та внутрішньоклітинних компартментів, до зміни характеру секрету цих клітин.

Слід зазначити, що глікополімери  $\beta$ DGal у нормальних і зрілих клітинах відсутні або їх вміст незначний. Глікополімери, що зв'язують лектин арахісу переважно виявляються у ембріональних або злоякіснотрансформованих клітинах здатних до метастазування [391]. Поява рецепторів лектину PNA у складі епітеліально-слизового бар'єру та ядрах гландулоцитів вказує на зниження рівня їх диференціації [391].

Лектиновий гістохімічний аналіз слизової оболонки шлунка ще раз підтвердив негативний вплив довготривалого пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти на структурно-функціональний стан шлунка.

Отже, ми вперше показали, що довгочасна гіпоацидність шлунка, викликана 28-денним введенням омепразолу призводить до можливого "перепрограмування" синтезу вуглеводних компонентів поверхні секретуючих клітин та внутрішньоклітинних компартментів, до зміни характеру секрету цих клітин, цілісності слизово-бікарбонатного бар'єру та адгезивних міжклітинних взаємозв'язків.

### **3.8 Стан слизово-епітеліального бар'єру шлунка щурів після 28-денного введення блокатору $H^+ - K^+ - AT$ Фази**

Важливим компонентом шлункового соку є слиз. Слиз є складною динамічною системою колоїдних розчинів високомолекулярних біополімерів, яка включає також низькомолекулярні органічні та мінеральні речовини, лейкоцити, лімфоцити та злущений епітелій. Слиз вкриває всю внутрішню поверхню шлунка, утворюючи шар товщиною 0,6 мм, який покриває слизову та захищає її від механічних та хімічних пошкоджень: слиз уповільнює зворотну дифузію іонів водню та виконує роль фільтра, який здатний пропускати лише низькомолекулярні сполуки і затримує високомолекулярні, зокрема пепсин. Захисну функцію шлункового слизу виконують неколагенові білки: нейтральні глікопротеїни (фукопротеїни), кислі глікопротеїни (сіаломуцини та сульфатовані глікопротеїни) та протеоглікани (глікозаміноглікани) [474–477]. Також важливу роль у забезпеченні структурної цілісності слизової оболонки шлунка виконують колагенові білки сполучної тканини, маркером деградації яких є вільний оксипролін. На сьогодні велика кількість робіт присвячена дослідженню складу та властивостей шлункового слизу, як фактору захисту, за умов гіперацидності шлункового соку [478, 479], яка є однією із ланок патогенезу виразкової хвороби дванадцятипалої кишки [480]. Накопичені факти свідчать, що на етапі раннього передракового ураження шлунка, наприклад такого як кишкова метаплазія, втрачається нормальний характер глікозилювання, і в шлунковому епітелії з'являються кишкові муцини MUC2 та MUC4 [470, 481] та змінюється структура глікопротеїнів слизу [471]. Не менш важливим є дослідження зміни складу шлункового слизу в процесі розвитку передракових станів шлунка на фоні тривалої гіпоацидності. Нами та іншими дослідниками показано, що тривале пригнічення шлункової

секреції омепразолу у щурів призводить до передракового ураження слизової [420, 445, 482].

У зв'язку з цим метою подальшої нашої роботи було дослідити стан слизового бар'єру шлунка в динаміці за умов різної тривалості пригнічення синтезу гідрохлоридної кислоти шляхом введенням інгібітору  $H^+ - K^+ - ATФ$ ази омепразолу (рис.3.16).

В результаті проведених нами досліджень було встановлено, що введення інгібітору протонної помпи омепразолу призводить до поступового

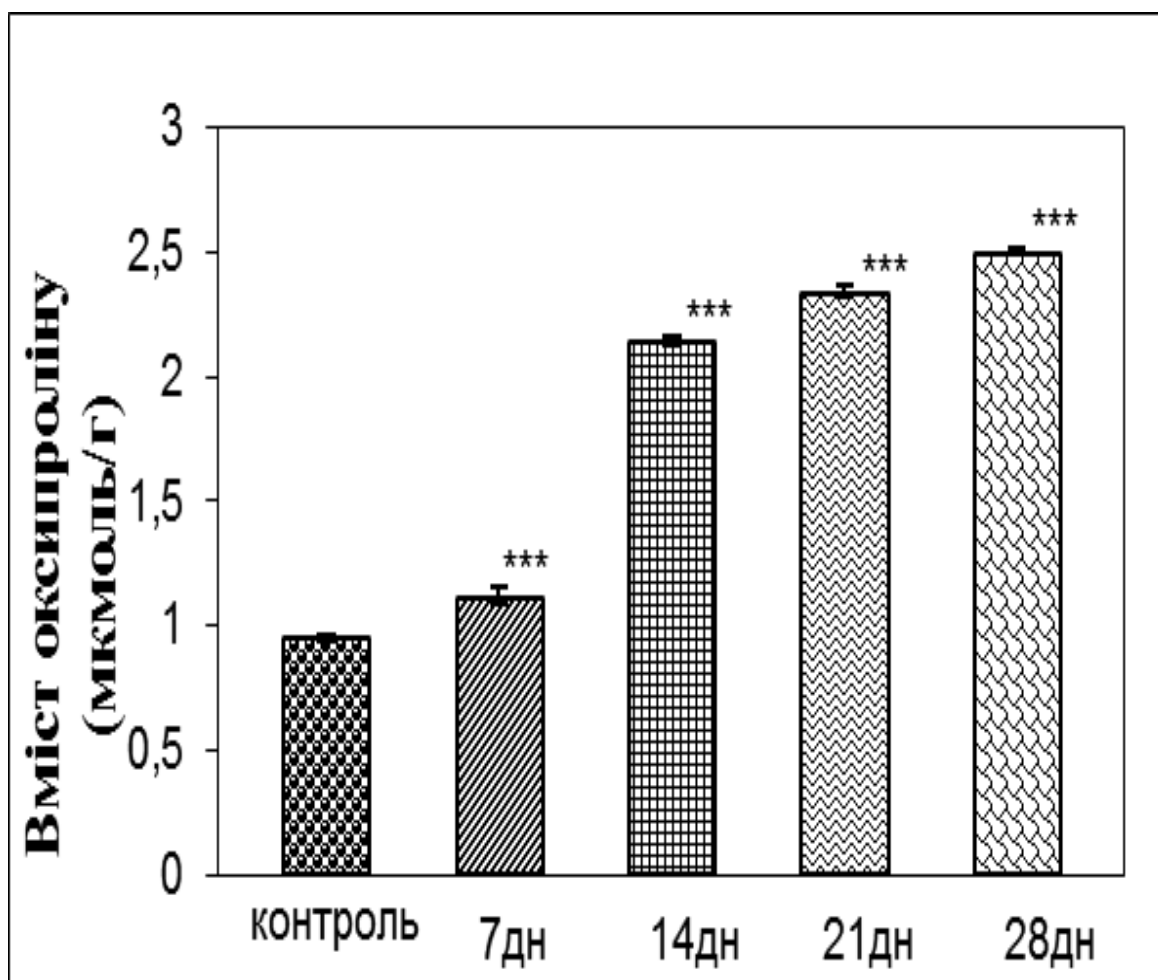


Рис. 3.16. Вміст оксипроліну в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів після різних термінів введення омепразолу,  $M \pm SD$ ,  $n=10$  (в кожній групі)

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  порівняно з контролем

статистично значущого збільшення рівня вільного оксипроліну на 17,9%, 25,2%, 46,3% в слизово-епітеліальному бар'єрі в динаміці проведення експерименту - на 7, 14, 21 та 28 день. Після 28 днів введення омепразолу вміст оксипроліну зростав на 163,2% ( $p < 0,001$ ) (рис.3.16). Це свідчить про те, що зі збільшенням тривалості гіпоацидності шлункового соку відбувається посилення деградації колагенових білків.

Аналогічну картину спостерігали при визначенні вмісту вільної фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі. За умов тривалого введення омепразолу показники рівня фукози збільшувались на 23,6% на 7 день введення, на 49,7% на 14 день та на 52,3% на 21 день порівняно з контролем (рис.3.17). Через 28 днів збільшувався вміст фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі з  $3,98 \pm 0,11$  мкмоль/г до  $8,24 \pm 0,09$  мкмоль/г, або на 107,0% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контролем. Це вказує на підсилення деполімеризації фукопротеїнів сполучної тканини.

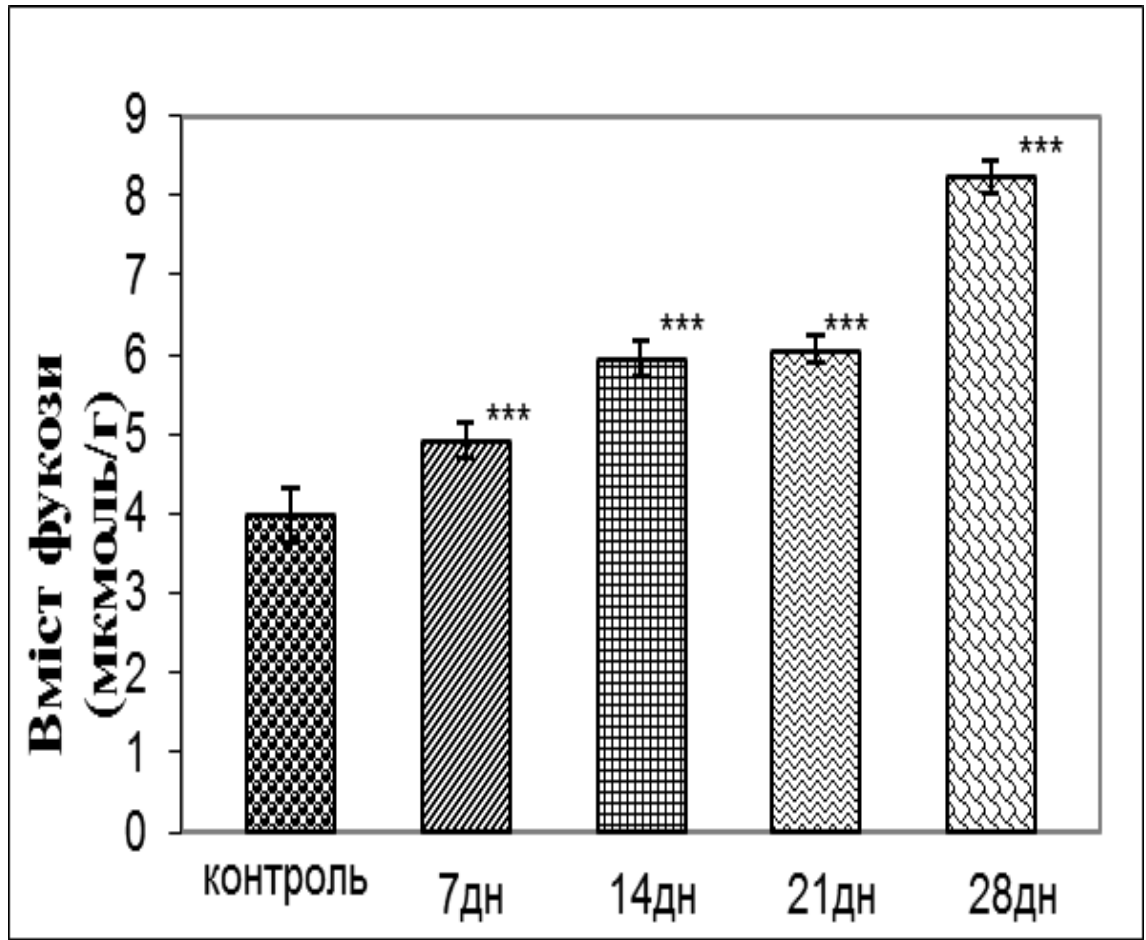


Рис.3.17. Вміст фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів після різних термінів введення омепразолу,  $M \pm SD$ ,  $n=10$

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  порівняно з контролем

У формуванні водонерозчинного шару слизового гелю важливу роль відіграє N-ацетилнейрамінова кислота, яка займає кінцеве положення у вуглеводному ланцюзі глікопротеїнів.

Виявлене на 14, 21 та 28 день (відповідно 62,2%, 79,3%, 113,8%) експерименту підвищення в результаті гіпоацидності вмісту N-ацетилнейрамінової кислоти свідчить про істотну дезорганізацію сполучнотканинних структур внаслідок деполімеризації неколагенових білків-глікопротеїнів і протеогліканів (рис.3.18). Після 28 днів введення омепразолу ми побачили ще вищий рівень з вмісту N- ацетилнейрамінової кислоти. На початку експерименту цей показник становив  $2,90 \pm 0,18$  мкмоль/г, а через 28 днів зріс на 113,8% ( $p < 0,001$ ). Одержані результати

вказують на втрату кінцевих мономерів вуглеводного компоненту глікопротеїнів у складі шлункового муцину, тобто їх деполімеризацію, послаблення резистентності останніх до протеолітичних ферментів і зниження їх захисних властивостей.

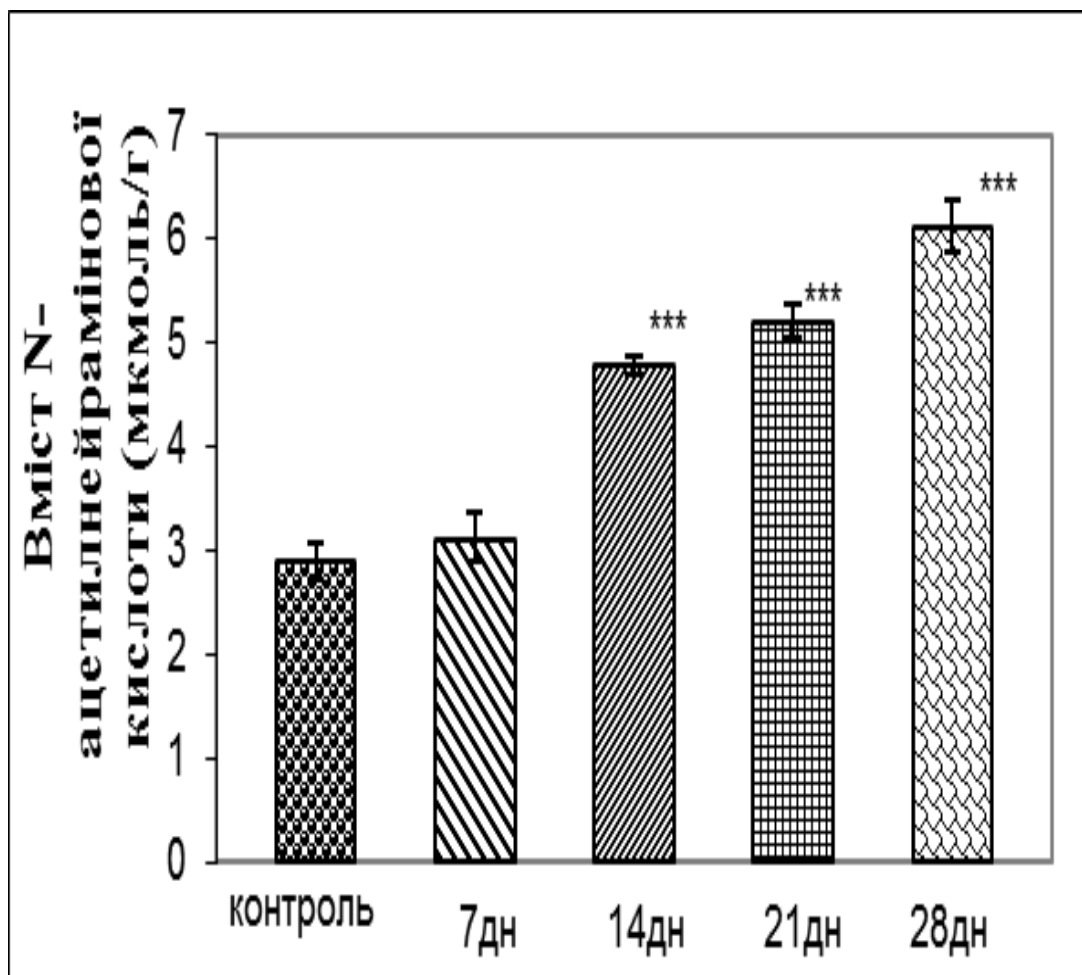


Рис.3.18. Вміст N-ацетилнейрамінової кислоти в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів після різних термінів введення омепразолу,  $M \pm SD$ ,  $n=10$

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  порівняно з контролем

Також під впливом збільшення тривалості введення омепразолу на 7, 14, 21 та 28 день поступово збільшувався рівень гексуронових кислот – компонентів протеогліканів сполучної тканини слизово-епітеліального

бар'єру шлунку (рис.3.19). Найвищі значення були після 21 та 28 дня введення. Так, через 21 день введення показник гексуронової кислоти збільшився на 78,5% ( $p < 0,001$ ), а через 28 днів на 74,0% ( $p < 0,001$ ). Отже, зростання рівня компонентів шлункового слизу призводить до дезорганізації сполучнотканинних структур слизової шлунка, обумовлену тривалим введенням омепразолу, про що свідчить збільшення вивільнення мономерів, які входять до їх складу, зокрема ацетилнейрамінової та гексуронової кислот. Подібну картину спостерігали дослідники при неспецифічному виразковому коліті, який в стадії загострення характеризувався високою еластолітичною активністю, підвищеним вмістом глікозаміногліканів та оксипроліну [483], що є підтвердженням запального та деструктивного процесу в організмі.

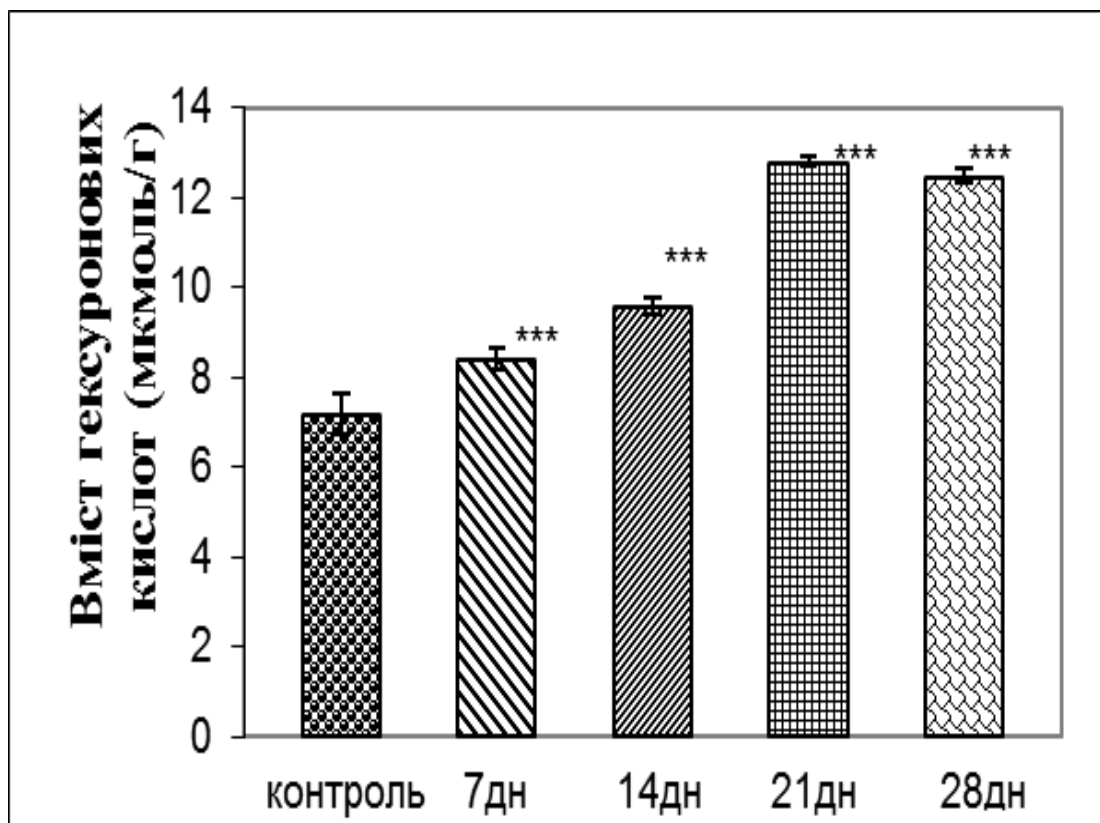


Рис.3.19. Вміст гексуронової кислоти в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів після різних термінів введення омепразолу,  $M \pm SD$ ,  $n=10$ .

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  порівняно з контролем

Виявлене нами підвищення через 28 днів вмісту N- ацетилнейрамінової та гексуранової кислот свідчить про істотну дезорганізацію сполучнотканинних структур внаслідок деполімеризації неколагенових білків-глікопротеїнів і протеогліканів. Втрата кінцевих мономерів вуглеводного компоненту глікопротеїнів у складі шлункового муцину, тобто їх деполімеризація, послаблює резистентність останнього до протеолітичних ферментів і знижує його захисні властивості.

У літературі є дані про зв'язок деполімеризації глікопротеїнів і протеогліканів з активацією процесів ПОЛ, що призводить до послаблення бар'єрної функції слизової шлунка [484].

Отже, тривала гіпоацидність шлункового соку активує колагенолітичні процеси в слизовій оболонці шлунка, свідченням чого є зростання вмісту вільного оксипроліну, посилює деполімеризацію фукопротеїнів і глікозаміногліканів сполучної тканини і протективних білків слизу, доказом чого є збільшення відповідно вмісту вільної фукози і гексуранових кислот. В результаті зменшується резистентність слизової оболонки. Так, рецептори G-клітин стають більш доступними до впливу високих рН, і це може бути однією з причин підвищеної секреції гастрину.

#### Висновки до розділу

1. Введення блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу викликає зростання концентрації гастрину в сироватці крові.
2. Гіпергастринемія, викликана 7, 14 та 21-денним введенням щурам блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу, через добу після його останнього введення спричиняє зростання базальної шлункової секреції кислоти.

3. 28-денне введення щурам блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу призводить до гіпергастринемії та різнонаправлених змін базальної шлункової секреції, яка у частини щурів зростає, а у частини – знижується, що обумовлено структурними змінами в слизовій оболонці шлунка, в першому випадку проліферацією клітин, а у другому – розвитком диспластичних змін, які ведуть до метаплазії.
4. Гіпергастринемія викликана 28-денним введенням омепразолу призводить до падіння чутливості парієтальних клітин до пентагастріну та гістаміну, але не впливає на секреторну відповідь, стимульовану карбахоліном.
5. Показано, що інтактна вагусна іннервація шлунка потрібна для повноцінного кислотостимулюючого ефекту дії екзогенно введених секретогогів, зокрема гастріну.
6. 28-денне зниження кислотності шлункового соку призводить до мікробіологічних порушень і надмірного росту умовно-патогенної флори в шлунку.
7. Тривала гіпоацидність шлунка, викликана 28-денним введенням омепразолу призводить до можливого "перепрограмування" синтезу вуглеводних компонентів поверхні секретуючих клітин та внутрішньоклітинних компартментів, до зміни складу секрету цих клітин, консистенції слизово-бікарбонатного бар'єру та адгезивних міжклітинних взаємозв'язків в шлунку.
8. 28 денна гіпоацидність шлункового соку активує колагенолітичні процеси в слизовій оболонці шлунка, свідченням чого є зростання вмісту вільного оксипроліну, посилює деполімеризацію фукопротеїнів і глікозаміногліканів сполучної тканини і протективних білків слизу, доказом чого є збільшення відповідно вмісту вільної фукози і гексуранових кислот.

## РОЗДІЛ 4

### КОРЕКЦІЯ НЕГАТИВНИХ НАСЛІДКІВ ТРИВАЛОЇ ГІПЕРГАСТРИНЕМІЇ

Як відомо з літератури та зазначено нашими власними дослідженнями, описаними вище, тривале зниження кислої шлункової секреції призводить до явища гіпергастринемії [43, 59, 62, 402, 485], яка в свою чергу, може причиною морфо-функціональних змін в шлунку [271, 486]. Це, насамперед, обумовлено трофічною дією гастрину на слизову оболонку шлунка, що пов'язана зі збільшенням синтезу білка, кількості парієтальних клітин та ECL-клітин [422, 487]. На сьогодні вже низкою досліджень доведено, що гастрин відіграє важливу роль у процесах канцерогенезу [68, 403, 488]. Гастрин багатофункціональний транскрипційний активатор, опосередковується експресією генів, що супроводжується поділом клітин, їх інвазією, ангіогенезом та антиапоптичною активністю, які є основою збільшення потенціалу розвитку злоякісних утворень [68]. На фоні довготривалої терапії омепразолом можуть виникнути поліпи фундальних залоз шлунка, деякі з яких відносять до передракових станів, збільшується ризик утворення карциноїдних пухлин та раку шлунка, відбувається гіперплазія ECL-клітин [236–239, 248]. Але зниження кислотності є наслідком гіпергастринемії не тільки через патологічні зміни в слизовій оболонці шлунка, такі процеси спостерігаються при вродженій гіпоацидності, а також є результатом вікових змін в слизовій оболонці шлунка. Тому актуальним є пошук профілактики трофічної дії гастрину.

Зважаючи на те, що тривала гіпоацидність шлунка різного генезу у людини сприяє виникненню ряду патологій, а відсутність ефективних засобів профілактики негативних наслідків при тривалому зниженні кислої

шлункової секреції стало підґрунтям для наступних завдань наших досліджень, а саме запропонованих нами методів корекції.

#### **4.1 Вплив проглуміду на функціональні зміни в секреторній функції шлунка, викликані тривалою гіпергастринемією**

Зростання рН в антральному відділі шлунка призводить до стимуляції рецепторів на мембрані G-клітин, в результаті чого зростає концентрація гастрину в крові [402, 489]. Тобто, першочерговою ланкою у відповідь на гіпохлоргідрію є гіпергастринемія. Ми припустили, що пригніченням дії гастрину речовинами, які блокують холецистокінін-гастринові рецептори може бути одним з методів попередження виникнення негативних наслідків тривалої гіпохлоргідрії.

В 1984 р. вперше було продемонстровано, що проглумід, неселективний блокатор холецистокінін-гастринових рецепторів, блокує трофічну дію екзогенного гастрину [490]. Проглумід за хімічною природою - похідне глутарамової кислоти [491]. Існує понад 30 похідних проглуміду, що відрізняються за довжиною алкільних груп у замісниках бензольного кільця. Деякі з цих речовин мають більшу спорідненість з ССК рецепторами підшлункової залози, ніж ССК рецепторами, що опосередковують скорочення жовчного міхура [492]. Принцип його дії полягає у пригніченні гастрин-стимульованої шлункової секреції, але деякі роботи вказують на те, що проглумід здатен блокувати секрецію кислоти, обумовлену не тільки гастрином, а і гістаміном, інсуліном та карбахоліном [493, 494]. В літературі також описані ефекти поєднання проглуміду з блокатором H<sub>2</sub>-гістамінових рецепторів, зокрема циметидину, що використовувались здебільшого для лікування виразки дванадцятипалої кишки. Ще у 1979 році вчені Vidal у

Plana та Bizzarri дослідили впливи циметидину і проглуміду на функціональний стан шлунка [495]. Вони спостерігали значне збільшення рівня гастрину в сироватці та маси парієтальних клітин в групі тварин, яким вводили блокатор H<sub>2</sub>-гістамінових рецепторів. В той час як у групі, де застосовували проглумід ніяких змін не спостерігалось. При паралельному введенні циметидину та проглуміду дослідники спостерігали пригнічення трофічної дії гастрину, при цьому зменшувалась маса парієтальних клітин. Автори зробили висновок, що проглумід блокував трофічну дію ендogenous гастрину.

Починаючи з 1980 років, в науковій літературі з'явилися дані стосовно пригнічуючого впливу проглуміду на ріст пухлин шлунка і товстого кишечника. У 1985 році Beauchamp з колегами досліджували дію проглуміду на ріст пухлин товстого кишечника. Вчені прийшли до висновку, що за допомогою антагоністів гастринових рецепторів можливо знижувати рівень проліферації пухлинних клітин [496]. Незабаром, результати цих досліджень знайшли своє підтвердження у роботі інших лабораторій. Зокрема, у 1989 році німецькі вчені, вивчаючи процеси росту карциноїдів, прийшли до висновку, що деякі з них є гастрин-залежними [497]. У цьому ж році вчені в клінічних умовах вивчали вплив міліде (проглуміду) при лікуванні пептичної виразки та виразки дванадцятипалої кишки. Міліде не змінював рівень гастрину в сироватці крові, але пригнічував його продукування. Використання проглуміду в терапевтичних цілях зменшувало вміст N-ацетилнейрамінової кислоти в складі шлункового соку, що частково обумовлює цитопротекторну дію міліде [498]. Harrison [499] у своїх дослідженнях показав, що гастрин викликає ріст пухлинних клітин, як шлунка, так і товстого кишечника *in vitro* та *in vivo*. Тому, на думку дослідників, використання блокаторів гастринових рецепторів збільшує ймовірність виживання мишей з такою патологією.

В медичній практиці проглумід більш відомий, як мілід використовують для лікування гастродуоденальних захворювань. За ефективністю дії препарат близький до H<sub>2</sub>-гістамінових рецепторів. Спектром його фармакологічної дії є зниження продукції кислоти в шлунку.

Відомо, що трофічний ефект гастрину, як і його секретостимулююча дія, опосередковується холецистокінін-гастриновим рецептором [68, 230, 241]. Проте в літературі відсутні дані про функціональні зміни в секреторній функції шлунка на фоні тривалої гіпергастринемії за умов блокади холецистокінін-гастринових рецепторів.

В зв'язку з цим метою даної частини роботи було дослідити вплив блокади холецистокінін/гастринових рецепторів на базальну секрецію кислоти в шлунку щурів на фоні тривалої гіпергастринемії, викликаній омепразолом.

В результаті проведених досліджень встановлено, що через добу після 28 днів введення щурам омепразолу концентрація гастрину в плазмі крові зростала до  $170,7 \pm 90,7$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) проти  $59,0 \pm 35,05$  пг/мл в контролі (рис.4.1). У щурів контрольної групи дебіт кислоти базальної шлункової секреції складав  $56,6 \pm 20,0$  мкмоль/120 хв. Через добу після 28 днів введення омепразолу дебіт кислоти базальної шлункової секреції зростав до  $155,0 \pm 55,8$  мкмоль/120 хв., що відповідало збільшенню на 173,9% ( $p < 0,001$ ) (рис.4.2). Зростання базальної шлункової секреції через 24 години після останнього введення омепразолу, очевидно, пов'язано з ефектом „відміни”, який часто лікарі спостерігають у хворих та інші дослідники в експериментах на щурах [409, 410]. Ми погоджуємося з висновком авторів про те, що механізм ефекту „відміни” пов'язаний із збільшенням маси парієтальних та ентерохромафіноподібних клітин у відповідь на гіпергастринемію, викликану гіпоацидністю, що виникає внаслідок прийому блокаторів протонної помпи, і, як результат, усунення гальмівного фактору на функціонування G-клітин.

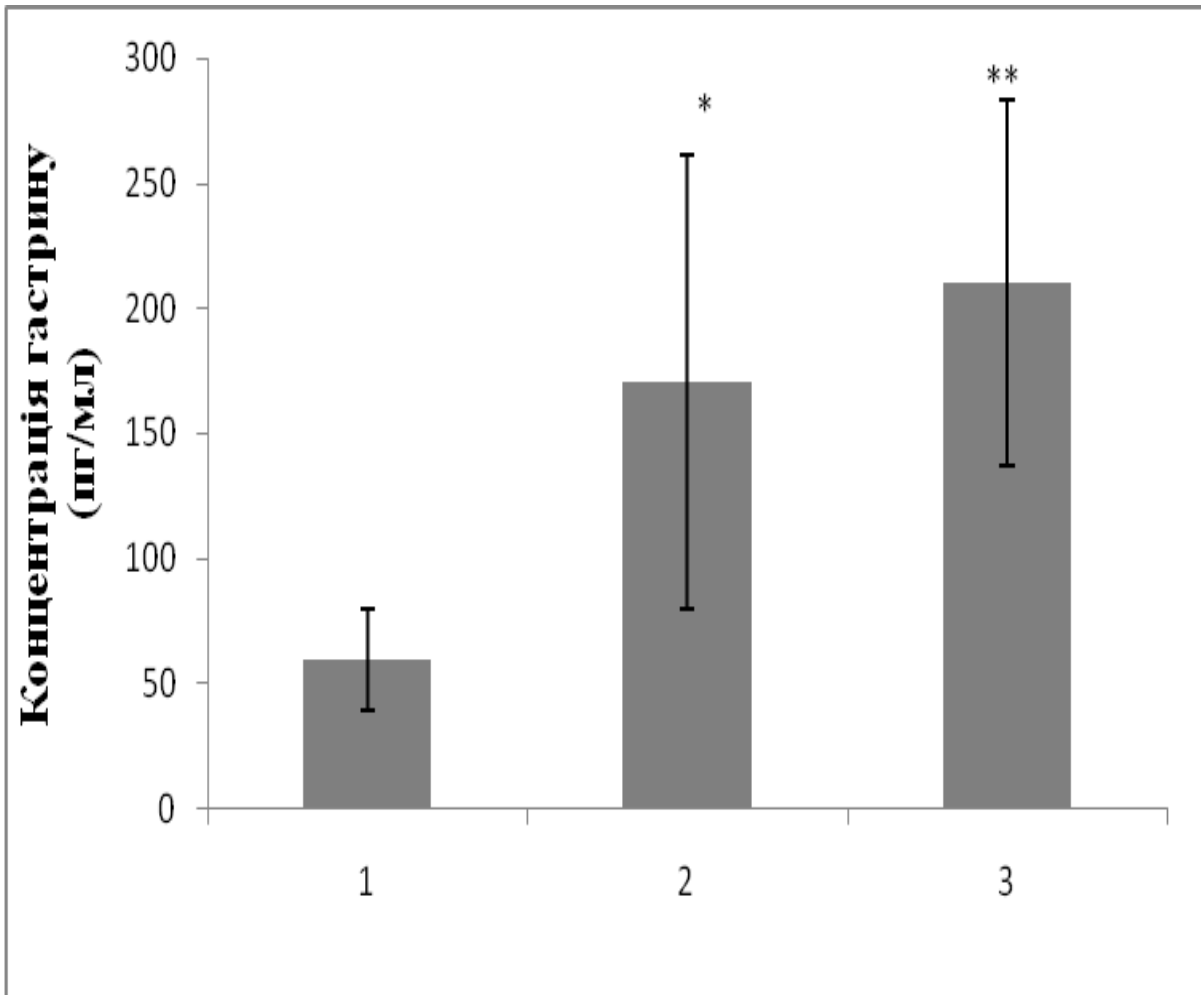


Рис.4.1. Концентрація гастрину в сироватці крові, ( $M \pm SD$ ):

1- контроль (n=8),

2- омепразол (n=7),

3- омепразол + проглумід (n=7)

Примітка: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з контролем

Це підтверджується нашими експериментами, в яких показано, що зростання базальної секреції кислоти у щурів через 28 днів введення омепразолу супроводжувалось зростанням концентрації гастрину в крові на 189,3%.

Таким чином, після тривалого застосування блокаторів протонної помпи проявляється трофічна дія гастрину, яка і зумовлює ріст та проліферацію клітин слизової оболонки шлунка і, як наслідок, зростання кількості парієтальних клітин та дебіту базальної кислоти. Через добу після 28 денного

одночасного введення щурам проглуміду та омепразолу дебіт базальної секреції кислоти складав  $79,8 \pm 25,7$  мкмоль/120 хв., що було на 48,5% ( $p < 0,05$ ) менше у порівнянні з дебітом базальної секреції кислоти у щурів після 28-денного ізольованого введення омепразолу. При цьому не було статистично значущої різниці між даними, одержаними в контрольній групі, та даними, одержаними на щурах після 28 денного одночасного введення

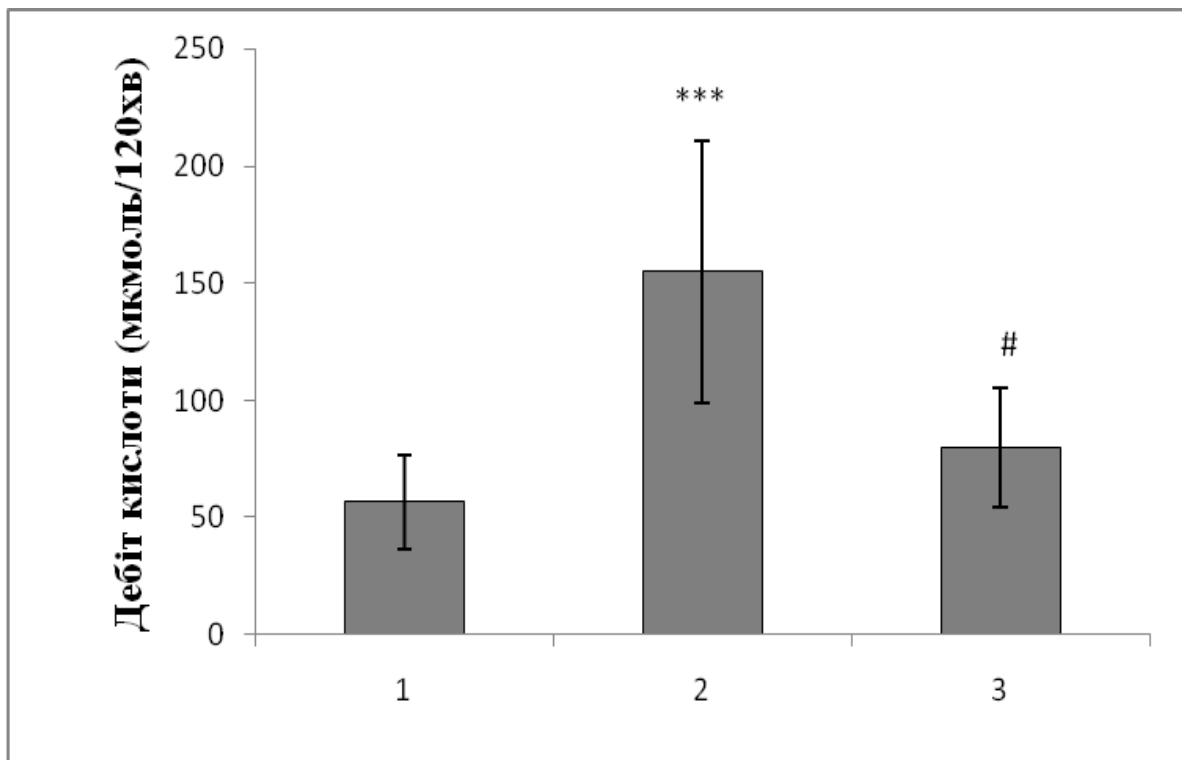


Рис. 4.2. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28-денного введення омепразолу (14мг/кг) та омепразолу з проглумідом (10 мг/кг), ( $M \pm SD$ ):

- 1- контроль (n=8),
- 2 - омепразол (n=7),
- 3 - омепразол+проглумід (n=7)

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  по відношенню до контролю, #-  $p < 0,05$  по відношенню групи щурів з омепразолом.

проглуміду та омепразолу, що свідчить про відсутність помітних змін у масі парієтальних клітин. Хоча у щурів після одночасного введення щурам проглуміду та омепразолу протягом 28 днів гіпергастринемія зберігалась (рис.4.1).

На користь нашого висновку свідчать роботи, в яких показана відсутність гістологічних змін в слизовій оболонці шлунка щурів за умов одночасного 28-денного введення омепразолу та проглуміду [472, 500]. Також проглумід при одночасному 28-денному введенні з омепразолом запобігав розвитку гіперплазії в слизовій оболонці товстого кишечника, яка виникала при ізольованій 28 денній дії омепразолу [472].

Таким чином, здається доцільним за умов необхідності тривалого використання омепразолу або у людей із гіпергастринемією різного генезу (знижена кислотність шлункового соку, ахілія, синдром Золлінгера-Еллісона, атрофічні гастрити, тривалий прийом блокаторів протонної помпи) призначати блокатор холецистокінін/гастринових рецепторів проглумід з метою запобігання трофічної дії гастрину, а значить профілактики гіперплазії клітин слизової оболонки шлунка. Проте, слід нагадати про деякі аспекти фізіологічної дії гастрину та холецистокініну. Гастрин є потужним стимулятором секреції жовчі [501]. Ця стимуляція в основному пов'язана з активацією скорочень гладеньких м'язів жовчного міхура. Та головна роль в стимуляції моторики жовчного міхура належить холецистокініну [405, 502, 503], який секретується слизовою оболонкою дванадцятипалої кишки при попаданні в неї хімуса, що містить жири. Скорочення жовчного міхура починаються приблизно через 2 хвилини після попадання хімуса на слизову дванадцятипалої кишки. Холецистокінін не лише активує скоротливу здатність гладеньких м'язів жовчного міхура, але і одночасно викликає скорочення гладеньких м'язів сфінктера Одді. До того ж, цей гормон стимулює каналікулярну і протокову секреції жовчі [504, 505].

Зростання концентрації гастрину в крові може стати причиною

підвищення тонусу сфінктера Одді, що регулює надходження жовчі та соку в панкреатичну залозу та у 12-типалу кишку [506, 507]. Порушення тонусу у сфінктері Одді може викликати закид у головну панкреатичну протоку жовчі та сприяти пошкодженню підшлункової залози детергентами, які має в своєму складі жовч. Обтурація протоки або ампули дуоденального сосочка призводить до виникнення гіпертензії в головній панкреатичній протоці, що в подальшому виклиє розриви дрібних протоків в панкреатичній залозі. Внаслідок цього панкреатичний сік потрапляє в паренхіму залози, що в подальшому сприяє розвитку деструктивних змін в залозі. Це призводить до виділення панкреатичного соку у паренхіму залози та активації гідролітичних ензимів, що викликає розвиток деструктивно-дегенеративних змін [506, 508, 509].

Наведені дані дозволили заключити, що, по-перше, тривала блокада холецистокінін/гастринових рецепторів, безумовно, призводитиме до порушення секреції жовчі та її виділення з жовчного міхура, що, в свою чергу, сприятиме як розвитку застійних явищ в жовчному міхурі, що є передумовою для холециститу та інших патологічних станів гепато-біліарної системи, так і порушенню процесу травлення, насамперед, гідролізу жирів. По-друге, можна рекомендувати приймати проглумід для запобігання трофічній дії гастрину лише короткими курсами.

При необхідності тривалого використання омепразолу доцільним є одночасний прийом блокатору холецистокінін/гастринових рецепторів проглуміду з метою профілактики гіперплазії парієтальних клітин.

## **4.2 Вплив блокатору рН-чутливих кальцієвих рецепторів верапамілу на секреторну функцію шлунка за умов 28-денної омепразолом індукованої гіпохлоргідрії**

В подальшому ми продовжили пошук засобів, які б запобігали виникненню патологій при тривалій гіпоацидності шлунка. Отже, не випадковий інтерес викликають лікарських препарати, які могли б впливати на різні механізми регуляції шлункової секреції.

Наявність рН-чутливих кальцієвих рецепторів (CaR), як безпосередньо на парієтальній клітині, так і на гастринпродукуючих G-клітинах робить кальцій важливою ланкою у процесі кислотоутворювання в шлунку. Експресія CaR на апікальній та базолатеральній мембранах G-клітин шлунку і їх активація  $\text{Ca}^{2+}$ , амінокислотами, і підвищенням рН дозволяє припустити, що CaR може функціонувати як фізіологічний датчик, що регулює виділення гастрину і секрецію кислоти [206].

Зважаючи на те, що тривале лікування інгібіторами  $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATФаз}$  призводить до підвищення рН в шлунку [510–512], на яке реагують рН-чутливі кальцієві рецептори G-клітин зростанням надходженням екстрацелюлярного кальцію в G-клітину і, тим самим, посилюється виділення гастрину з неї [513–515] перед нами стояло завдання уникнути явища гіпергастринемії та її негативних наслідків. Було зроблено припущення, що блокада рН-чутливого кальцієвого рецептору не дасть можливості G-клітині реагувати на збільшення рН в шлунку на тлі дії омепразолу та зростати концентрації гастрину. Для цього ми використали антагоніст кальцієвих рецепторів верапаміл, який гальмує надходження кальцію всередину клітини через спеціальні канали, так звані «повільні кальцієві канали» (L-типу). Кальцієві канали L-типу складаються з 5 субодиниць - альфа-1 і -2, бета, гамма і сігма [510]. Основне значення має

субодиниця альфа-1, вона є безпосередньо каналотворюючим білком і, крім того, рецептором кальцієвого антагоніста верапамілу [516, 517].

Отже, для вирішення даного завдання нами було проведено серію експериментальних досліджень шлункової секреції у щурів, яким протягом 28 днів одночасно з інгібітором  $H^+K^+$ -АТФази омепразолом вводили блокатор рН-чутливих кальцієвих рецепторів верапаміл.

Результати нашого експерименту показують, що рівень гастрину в плазмі крові щурів, яким протягом 28 днів вводили омепразол становив  $177,0 \pm 46,5$  пг/мл, що було на 239,0 % ( $p < 0,01$ ) вище ніж у щурів контрольної групи, де це значення становило  $52,5 \pm 21,3$  пг/мл (рис. 4.3).

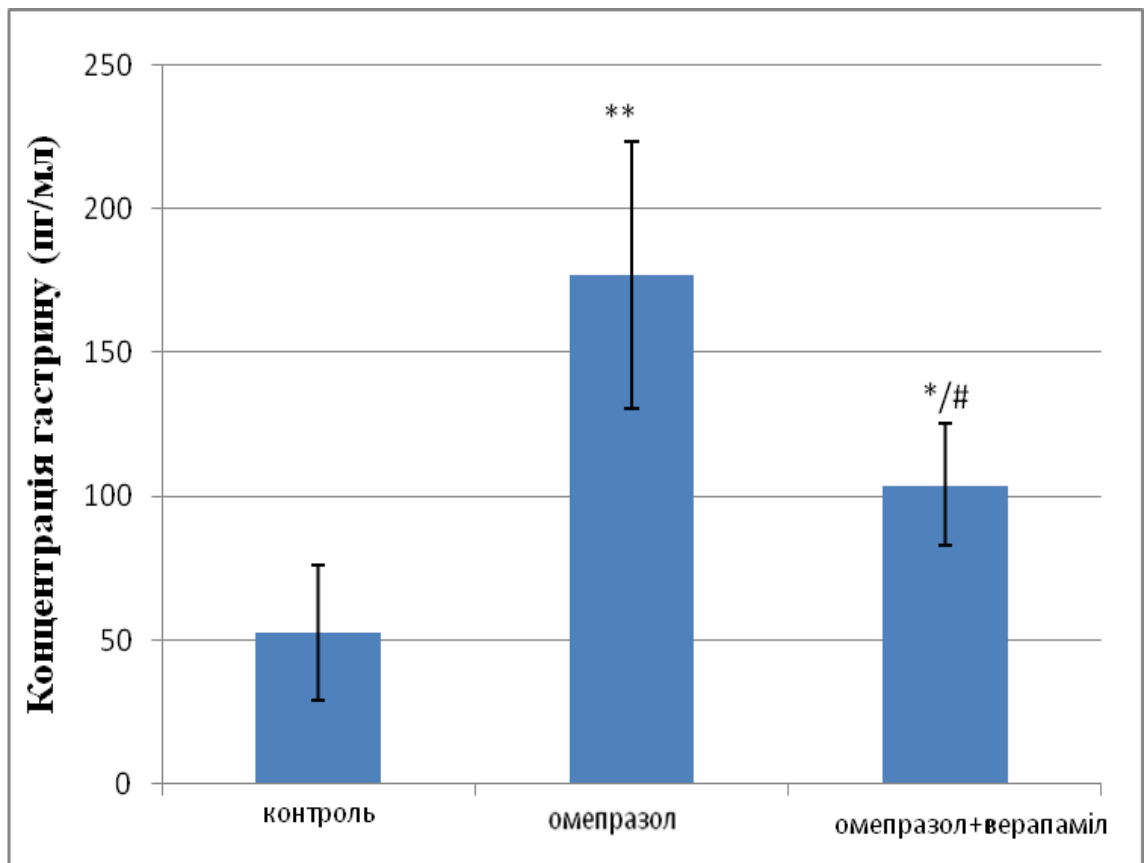


Рис.4.3. Концентрація гастрину в сироватці крові щурів ( $M \pm SD$ ):

\*-  $p < 0,05$  ,\*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з контрольною групою

#-  $p < 0,05$  у порівнянні з групою омепразолу.

В той же час, аналіз секреторної активності шлунка показав, що базальний рівень гідрохлоридної кислоти у щурів контрольної групи становив  $29,9 \pm 10,5$  мкмоль/120 хв ( $n=10$ ) (рис.4.4).

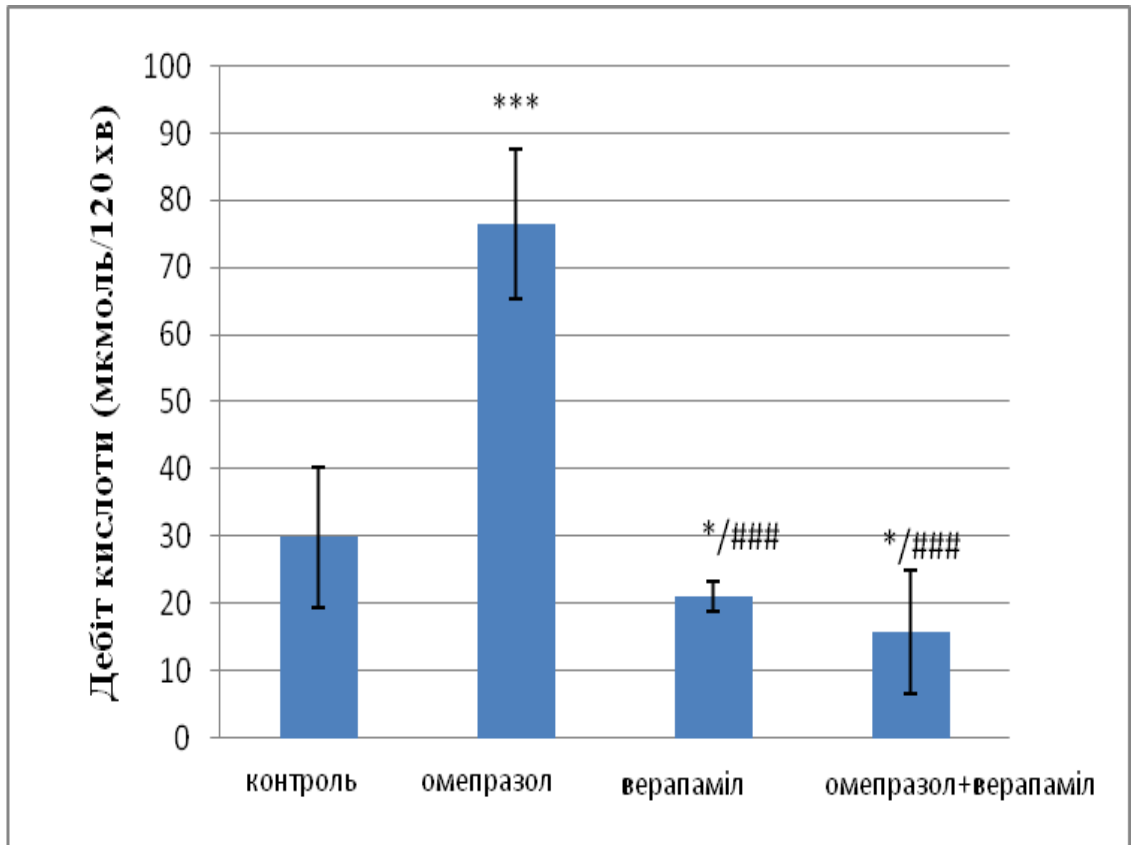


Рис.4.4. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28-денного ізольованого та сумісного введення омепразолу (14мг/кг, в/о) та верапамілу, ( $M \pm SD$ ):

- 1-контроль ( $n=10$ ),
- 2- омепразол ( $n=10$ ),
- 3-верапаміл (0,5 мг/кг, per os,  $n=7$ ),
- 4- омепразол+ верапаміл ( $n=8$ )

Примітки: \* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  у порівнянні з контрольною групою  
 ####-  $p < 0,001$  у порівнянні з групою омепразолу.

Після 28 денного введення інгібітора  $H^+ - K^+ - AT$ Фази омепразолу базальної секреція гідрохлоридної кислоти в шлунку збільшувалась на 167,0% та становила  $79,9 \pm 10,5$  мкмоль/120 хв ( $n=10$ ) ( $p < 0,001$ , рис.4.4).

Отримане збільшення рівня базальної шлункової секреції є показником гіперплазії та гіпертрофії парієтальних клітин шлунка внаслідок трофічної дії гастрину, що виникає за механізмом зворотнього зв'язку через тривале пригнічення виділення гідрохлоридної кислоти омепразолом [420, 518], що раніше нами було підтверджено морфологічно [458]. В нашому експерименті цей факт підтверджується показниками концентрації гастрину в плазмі щурів дослідної групи. Так рівень гастрину в плазмі крові щурів, яким протягом 28 днів вводили омепразол становив  $177,0 \pm 46,5$  пг/мл, що було на 239,0 % ( $p < 0,01$ ) вище ніж у щурів контрольної групи, де це значення становило  $52,5 \pm 21,3$  пг/мл (рис. 4.3).

Так як для уникнення розвитку гіпергастринемії нами було запропоновано сумісне введення з омепразолом антагоністу кальцієвих рецепторів верапамілу, тому виникла необхідність також дослідити вплив ізольованого 28-денного введенням верапамілу на базальну шлункову секрецію у щурів.

Отже, в результаті проведених досліджень встановлено, що базальна секреція гідрохлоридної кислоти в шлунку у групі щурів, яким протягом 28 днів вводили верапаміл пригнічувалась на 29,5% ( $p < 0,05$ ) і становила  $21,1 \pm 2,3$  мкмоль/120 хв ( $n=7$ ) у порівнянні з контрольними тваринами, яким 28 днів вводили фізрозчин. Одержані дані узгоджуються з даними літератури, де дослідники вивчали вплив блокаторів кальцієвих рецепторів як на базальну, так і на стимульовану секреторну активність шлунка [519, 520]. Отриманими результатами автори підкреслювали важливість участі позаклітинного кальцію в процесі секреції гідрохлоридної кислоти шлунком.

Аналіз наступної експериментальної групи тварин показав, що після 28 денного сумісного введення щурам омепразолу та верапамілу дебіт базальної шлункової секреції складав  $15,8 \pm 9,2$  мкмоль/120 хв., що було на 80,0% менше ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з дебітом базальної шлункової секреції у щурів після 28-денного ізольованого введення омепразолу. Таке зниження

шлункової секреції пояснюється отриманими результатами концентрації гастрину в плазмі крові щурів даної групи, де ми спостерігали зниження до  $104,0 \pm 21,3$  пг/мл (рис.4.3), тоді як у щурів з омепразолом результат був  $177,0 \pm 46,5$  пг/мл.

Тобто одночасне введення блокатору рН-чутливих кальцієвих рецепторів пригнічувало стимулюючий вплив на виділення гастрину G-клітинами шлунка спричинене зростанням рН внаслідок дії омепразолу. Крім того блокада кальцієвих рецепторів, що розташовані на паріетальних та ECL клітинах запобігала їх гіперплазії, пригнічувала шлункову секрецію, та не давала побачити «ефекту відміни», який спостерігається через добу після тривалого використання кислотознижуючих препаратів [521–523].

Таким чином верапаміл попереджав розвиток структурно-функціональних змін, що виникають на тлі тривалої гіпоацидності.

Отриманий ефект дії верапамілу дає нам підґрунтя розраховувати на можливість його використання разом з інгібіторами  $H^+K^+$ -АТФази при довготривалому лікуванні кислотозалежних захворювань. Проте, не слід забувати, що блокатори кальцієвих рецепторів використовуються в клінічній практиці, насамперед, як кардіопрепарати з гіпотензивною та антиаритмічною дією. Тому, враховуючи всі властивості верапамілу, ми можемо рекомендувати його використання лише людям, у яких захворювання травного тракту, що потребують довготривалого лікування інгібіторами  $H^+K^+$ -АТФази, поєднані з артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця.

### **4.3 Мікроекологічний та структурно-функціональний стан шлунка за умов одночасного застосування блокатору $H^+K^+$ -АТФази та мультипробіотиків**

Продовжуючи пошук засобів для корекції гіпоацидних станів шлунка слід врахувати отримані та описані нами результати в 3 розділі про те, що наявність тривалої гіпохлоргідрії стає причиною колонізації шлунка умовно-патогенною мікрофлорою. При цьому потрібно згадати дослідження вчених, які в своїх роботах показують, що порушення мікробіоценозу призводить до запальних процесів в шлунково-кишковому тракті [71, 315]. У відповідь на дисбіоз і хронічне пошкодження тканин бактеріальної етіології запускається цілий каскад молекулярних механізмів з активації численних рецепторів і ядерних факторів транскрипції, наслідком чого є продукція прозапальних цитокінів та інших сигнальних молекул. Рецептори і сигнальні шляхи імунної системи є не тільки учасниками запального каскаду, але одночасно і промоторами канцерогенезу [333, 334]. На сьогодні вже відомо, що білок (Omp-A), який виділяється бактеріальною клітиною, стимулює активність промотора гастрину в культурі клітин [82]. Таким чином, зростання умовно-патогенної флори в шлунку може призводити до збільшення рівня гастрину в плазмі крові, якій завдяки своїм трофічним властивостям задіяний в канцерогенезі.

Потужний каскад реакцій відбувається в слизовій шлунка в процесі переродження хронічний гастрит - атрофічний гастрит - рак шлунка. Хронічний гастрит – це захворювання, яке викликане запальними змінами слизової оболонки шлунка і порушеннями вироблення гідрохлоридної кислоти. Хронічний гастрит реєструють більш ніж у 50% дорослого населення розвинутих країн світу, в загальній структурі хвороб органів травлення він складає 35% [524]. До основних факторів патогенезу хронічного гастриту належать стреси різного генезу, умови харчування,

вживання в надмірній кількості міцних алкогольних напоїв та їх сурогатів, зловживання їжею, в склад якої входять очищені злаки та рафіновані масла, присутність в продуктах консервантів, емульгаторів, а в тваринній їжі – гормонів та антибіотиків, зараження бактеріями Хелікобактер пілорі [326, 353, 525]. Найбільш складними для лікування є хронічні гіпоацидні гастрити (гастрити, що супроводжуються зниженою кислотністю шлункового соку та ахілією), так як сучасні методи їх лікування – це замісна терапія шлунковим соком. Як вже неодноразово зазначалось, що гідрохлоридна кислота в шлунку захищає організм людини від мікроорганізмів [448, 452], а зменшена кислотність шлункового соку не тільки погіршує процеси травлення, але призводить до посиленої колонізації шлунка умовно-патогенною флорою та інфекційних захворювань [45, 48, 49, 452]. Бактеріальна контамінація може також бути задіяна в зростанні продукції гастрину. Такий ефект може досягатися внаслідок прямого впливу бактеріальних білків на експресію гену гастрину або через вплив цитокінів, що продукуються інфільтрованими запальними клітинами [82, 315].

Отже, проблема лікування людей з хронічними гастритами із зниженою кислотністю є актуальною проблемою, та потребує розробки нових методів, до яких слід віднести і методи для профілактики появи в шлунку умовно-патогенної флори. На наш погляд, перспективним у даному напрямку є застосування пробіотиків. По-перше, в останні роки проведений цілий ряд клінічних досліджень по оцінці ефективності пробіотиків в ерадикації хелікобактер пілорі, які свідчать про доцільність використання пробіотиків у лікуванні інфекцій, викликаних хелікобактер пілорі [526–532].

Серед існуючих пробіотиків привертає до себе увагу вітчизняний пробіотик "СИМБІТЕР® ацидофільний" концентрований (ТОВ фірма "О.Д. Пролісок"). Даний мультипробіотик є представником нового покоління засобів бактеріальної терапії. Діючою основою мультипробіотика є жива концентрована біомаса симбіозу 14 унікальних пробіотичних штамів

біфідобактерій, лактобацил, лактококів, пропіоновокислих бактерій та фізіологічно корисні продукти їх метаболізму (полісахариди, вітаміни, амінокислоти, низькомолекулярні жирні кислоти, ферменти та ін.). Головна відмінність мультипробіотика від інших сучасних бактеріопрепаратів заключається в полікомпонентному складі, що забезпечує концентрування в одному препараті широкого спектра видів пробіотичної активності. Іншими мультипробіотиками, які ми використовували в наших дослідженнях були «Симбітер форте» та «Апібакт». Якісний склад мультипробіотиків «Симбітер форте» ідентичний препарату "Симбітер® ацидофільний" концентрований. Однак за кількістю КУО / см<sup>3</sup> мікроорганізмів «Симбітер форте» відрізняється від «Симбітер® ацидофільний» концентрованого в 2 рази меншим вмістом мікроорганізмів. Проте, введення гелю бентоніту до складу мультипробіотика «Симбітер форте» доповнює арсенал його властивостей новими фізіологічними активностями, а також збільшує строк зберігання живого пробіотичного препарату, а сам бентоніт також володіє пробіотичними властивостями. Гель бентоніту робить позитивний вплив на життєдіяльність сахаролитических облігатних анаеробів, зокрема біфідобактерій, пропіоновокислих бактерій, лактококів і лактобацил, які складають бактеріальну основу мультипробіотиків і фізіологічних мікробіоценозів людини. Тому надходження гелю бентоніту в біотопи в складі мультипробіотиків сприятиме посиленню пробіотичного ефекту препарату і відновлюється фізіологічний анаеробно-цукролітичної нормобіоти [533].

Мультипробіотик «Апібакт®» додатково містить 2,5% екстракт прополісу, який значно підвищує антиінфекційну активність препарату [534]. Жива форма пробіотика - ще одна особливість мультипробіотиків групи "Симбітер", завдяки якій мультипробіотики починають діяти одразу ж після їх приймання. Природна антибіотикорезистентність «Симбітера» дозволяє застосовувати його в період антибактеріальної терапії, що значно знижує

негативні наслідки дії антибіотиків та підвищує ефективність лікування. Висока антагоністична активність мультипробіотика щодо широкого спектра хвороботворних мікробів дозволяє успішно його застосовувати в лікуванні хворих з інфекційними хворобами різної етіології та локалізації. Важливе значення при цьому має можливість зменшення дози антибіотиків та інших медикаментозних препаратів і ризику розвитку асоційованих з ними ускладнень. Мультипробіотик позитивно діє на обмінні процеси та підвищує захисні сили організму. Мультипробіотик синтезує широкий спектр вітамінів, ферментів, що сприяють процесам травлення; полісахариди, органічні кислоти та інші фізіологічні компоненти, котрі значно підвищують пробіотичну ефективність препарату [357].

Метою нашої роботи було вивчення впливу мультипробіотиків групи "Симбітер<sup>®</sup>" на відновлення стану мікроекології шлунка у щурів за умов тривалого зниження шлункової секреції.

Проведене нами дослідження мікрофлори шлунка контрольних тварин вказувало на обмежений спектр бактерій, що входять до складу біоценозу цього органу (табл.3.3). З найбільшою частотою реєструвалась контамінація шлунка контрольних тварин грибами р. Кандіда, ентерококом, кишковою палочкою, лактобактеріями. Представники умовно-патогенної мікрофлори зі шлунка практично не висівались. Лише у 10% тварин виявлено цитробактер. Кількісні показники висіву зі шлунка ентерокока, ешеріхій та грибів р. Кандіда не досягали високого рівня та складали  $10^2$ - $10^3$  КУО/г. Концентрація лактобактерій, що виділені зі шлунка, також була незначною ( $10^2$  КУО/г).

Порівняння стану мікрофлори шлунка у щурів контрольної групи з групою, якій протягом 28 днів вводили омепразол з метою блокади секреції гідрохлоридної кислоти, показали, що у щурів після 28-денного введенням омепразолу спостерігались значне зменшення частоти висівання лактобактерій та тенденція до зростання колонізації умовно-патогенною мікрофлорою та грибами р. Кандіда. Статистично підтверджено зниження

кількісних показників висіву зі шлунка нормальної мікрофлори. У 40% тварин вони взагалі не виявлялись. Бактеріальний спектр шлунка тварин після 28-ми денної блокади синтезу соляної кислоти омепразолом розширився за рахунок висіву клебсієли, ентеробактера, протей. Концентрація цих умовно-патогенних бактерій досягла високого рівня ( $10^4$ - $10^5$  КУО/г).

Одержані дані свідчать про зниження колонізаційної резистентності слизової оболонки шлунка у тварин на фоні тривалого пригнічення секреції соляної кислоти в шлунку та про можливість транзиту мікрофлори з кишечника у шлунок висхідним шляхом.

Таким чином, тривале зниження кислотності шлункового соку призводить до мікробіологічних порушень і надмірного росту умовно-патогенної флори в шлунку, яка може стати причиною серйозної інфекції, посилити запальні процеси в слизовій оболонці шлунка. Токсичні продукти метаболізму надмірно розмноженої умовно-патогенної флори посилюють симптоми інтоксикації, знижують детоксикаційну функцію печінки, пригнічують регенераційні процеси в слизовій оболонці, а дефіцит цукролітичних анаеробів знижує енергозабезпечення клітин епітеліальної тканини, викликаючи її дистрофічні зміни.

У групи щурів, яким протягом 28-ми днів моделювали омепразоліндуковану гіпоацидність та одночасно вводили «Симбітер ацидофільний®» концентрований, показники обсіменіння шлунка умовно-патогенною мікрофлорою практично не відрізнялись від контрольної групи тварин. Зменшився видовий спектр виділених із шлунка ентеробактерій за рахунок відсутності клебсієли та протей. У всіх обстежених тварин не виявлено обсіменіння шлунка стафілококом золотистим. Як і у контрольних щурів, до складу мікробіоценозу шлунка тварин цієї групи переважно входили ентерокок, кишкова паличка, гриби р. Кандіда в незначних

концентраціях ( $10^2$ - $10^3$  КУО/г). Збільшився висів із шлунка лактобактерій до показників  $10^4$  КУО/г.

Таблиця 4.1

Кількісні показники біоценозу шлунка щурів після 28-денного введення омепразолу (14мг/кг, в/о) і сумісного введення омепразолу з мультипробіотиками групи «Симбітер®» (0,14 мл/кг, per os) (lg КУО/г,  $M \pm SD$ ):

Назва мікроорганізмів	Контрольна група n=10	Омепразол n=10	Омепразол + «Симбітер ацидофільний®» n=10	Омепразол + «Симбітер форте®» n=10	Омепразол + «Апібакт®» n=10
<i>Lactobacillus</i>	2,2±0,09	1,7±0,06 *	3,8 ±0,03 <sup>#</sup>	4,2±0,09 **/###	4,3±0,06**/###
<i>Escherichia coli</i>	3,2±0,03	4,8±0,09 *	3,1±0,09	2,0±0,03 */###	1,8±0,15**/###
<i>Escherichia coli</i> зі зміненими ферментативними властивостями	2,3±0,08	—	—	—	—
<i>Escherichia coli</i> лактозонегативна	—	4,2±0,04	—	—	—
<i>Klebsiella</i>	—	4,1±0,06	—	—	—
<i>Citrobacter</i>	3,9±0,18	4,3±0,15 *	2,1±0,08 <sup>#</sup>	—	—
<i>Proteus</i>	—	5,3±0,09	—	—	—
<i>Enterobacter</i>	3,1±0,06	4,3±0,08*	2,3 ±0,09 <sup>#</sup>	—	—
<i>Staphylococcus aureus</i>	—	4,3±0,06	—	—	—

Продовження таблиці 4.1

<i>Staphylococcus epidermidis</i> (з ге-молізом)	—	2,7±0,09	—	—	—
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2,9±0,09	4,2±0,08 *	2,1±0,03 <sup>#</sup>	—	—
<i>Enterococcus</i>	2,0±0,06	3,5±0,06 *	2,6±0,12 <sup>#</sup>	1,3±0,12*/ ###	1,4±0,06* <sup>#</sup> / ##
Гриби роду <i>Candida</i>	2,1±0,12	4,2±0,06 *	1,6±0,15 <sup>#</sup>	—	—

Примітка: \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю; # -  $p < 0,05$ , ##- $p < 0,01$  відносно групи з омепразолом.

У групи тварин, яким одночасно з омепразолом вводили інший мультипробіотик, «Симбітер форте», кількісні та якісні показники мікрофлори в шлунку були значно кращі, ніж у попередній групі (табл. 4.1). У цих шурів в шлунку зовсім не висівали *Citrobacter*, *Enterobacter* і *Staphylococcus epidermidis*. Отриманий результат можна пояснити, насамперед, антибактеріальними властивостями глинистих мінералів [535, 536], тому дані про більшу ефективність мультипробіотиків «Симбітер форте» порівнянно з мультипробіотиком «Симбітер ацидофільний» концентрований не викликає сумнівів. Саме використання гелю бентоніту робить позитивний вплив на життєдіяльність цукролітичних облигатних анаеробів, зокрема біфідобактерій, пропіоновокислих бактерій, лактококів і лактобацил, які становлять бактеріальну основу мультипробіотиків і фізіологічних мікробіоценозів людини. Тому наявність гелю бентоніту в біотопі складу мультипробіотиків сприятиме посиленню пробіотичного

ефекту препарату і відновленню фізіологічної анаеробно-сахаролітичної нормобіоти.

При використанні разом з омепразолом ще одного з мультипробіотиків «Апібакту» ми отримали наступні результати. За умов тривалої гіпоацидності шлунка «Апібакт» мав позитивний ефект на мікробіоциноз, адже у цій групі тварин показники висівання з шлунка *Lactobacillus* були найвищими серед інших мультипробіотиків (табл. 4.1). Тоді як представники умовно-патогенної мікрофлори у групи тварин, яким сумісно з омепразолом протягом 28 днів вводили «Апібакт» були нижче, ніж у інших мультипробіотиків групи «Симбітер». З отриманих та представлених на таблиці результатів можна побачити, що після одночасного використання з інгібітором протонної помпи мультипробіотика «Апібакт» в шлунку значно зменшувалась кількість *Enterococcus* та не відбувалося висівання таких представників умовно-патогенної та патогенної мікрофлори як *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* та грибів роду *Candida* (табл.4.1). Саме лактобацили складають основу нормальної мікрофлори. Основні властивості *Lactobacillus*: протеоліз, ліполіз, метаболізм лактози, утворення антигоністичних речовин до патогенних мікроорганізмів, імуномодулююча активність (фагоцитоз, участь у синтезі Ig, IL1, TNF та інш.), збереження балансу мікробних популяцій після приймання антибіотиків.

В процесі метаболізму лактобактерії продукують L(+) молочну кислоту. Молочна кислота сприяє найбільш повному засвоєнню заліза, фосфора, кальція, а кисле середовище стимулює ріст нормальної аутомікрофлори та запобігає росту патогенних бактерій. Лактобактерії утворюють антибіотикоподібні субстанції бактеріюцини, що здатні фіксуватися на специфічних рецепторах мікробної клітини та здійснювати пригнічуючу дію на патогенні та умовно-патогенні мікроорганізми, гриби.

Аналізуючи отримані дані та спираючись на літературні джерела [537–539] ми заключили, що вміст прополісу в складі мультипробіотичного препарату пояснює покращений результат мікробіоцинозу в шлунку, адже прополіс має широкий спектр фармакологічної активності, зокрема володіє бактерицидною, бактеріостатичною, фунгіцидною, протівірусною, протитоксичною, протизапальною та імунозміцнюючою дією [534]. Крім того мікроелементи, вітаміни та інші біологічно активні речовини прополісу стимулюють обмін речовин та прискорює процеси регенерації та відновлення організму [537–539].

#### **4.3.1 Секреторна функція шлунка за умов сумісного 28 - денного введення омепразолу та мультипробіотиків**

Як свідчать наведені вище результати, тривале пригнічення шлункової секреції гідрохлоридної кислоти призводить до мікробіологічних порушень і надмірного росту умовно-патогенної флори, навіть, до міграції в шлунок з кишечника фекальних бактерій. Такі зміни можуть стати причиною розвитку запалення і навіть інших серйозних захворювань, описаних при тривалому прийомі інгібіторів протонної помпи і H<sub>2</sub>-гістамінових рецепторів. При цьому у пацієнтів, які приймали омепразол бактеріальний титр був вищий ніж у тих, які отримували ранітидин, хоча зниження концентрації вітаміну B12, бета-каротин, і альбуміну в сироватці крові були подібними [72].

Ми вже дослідили як використання мультипробіотиків групи «Симбітер» разом з інгібітором протонної помпи омепразолом покращувало мікрофлору шлунка. Тому наступним етапом нашої роботи було дослідити чи відбудуться зміни в шлунковій секреції у щурів, якщо одночасно з 28 денним введенням омепразолу приймати мультипробіотики групи

«Симбітер» та виміряти концентрацію гастрину в сироватці крові в дослідних групах.

Перед тим, як досліджувати поєднане одночасне застосування мультипробіотиків та омепразолу на секреторну функцію ми вирішили з'ясувати чи має ізольоване введення мультипробіотиків якийсь вплив на шлункову секрецію.

Як видно з рис. 4.5 у щурів дослідної групи, яким протягом 28 днів

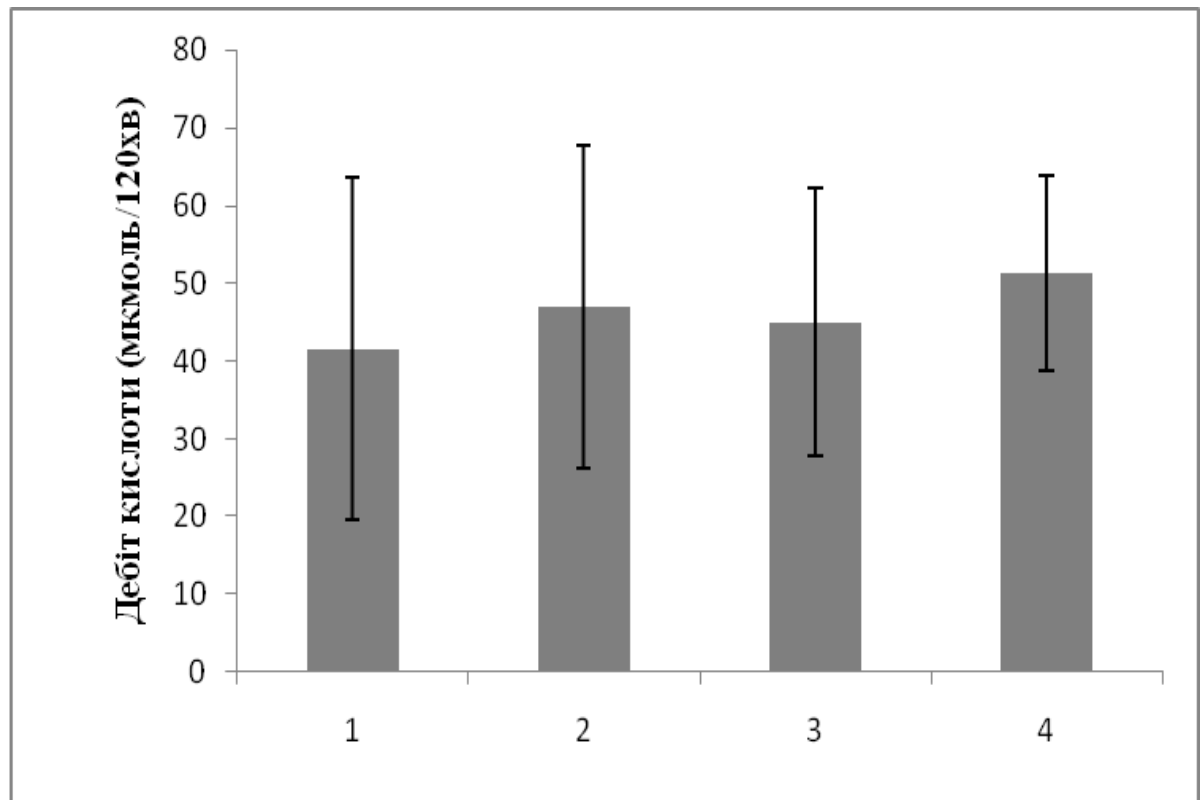


Рис. 4.5. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28 денного введення мультипробіотиків групи «Симбітер» (0,14 мл/кг, per os), ( $M \pm SD$ ):

1– контроль (n=33),

2 –«Симбітер ацидофільний®» концентрований (n=10),

3 –«Симбітер форте®» (n=10),

4 –«Апібакт®» (n=10)

вводили мультипробіотики «Симбітер ацидофільний®» концентрований, «Симбітер форте®» та «Апібакт®» дебіт базальної шлункової секреції становив

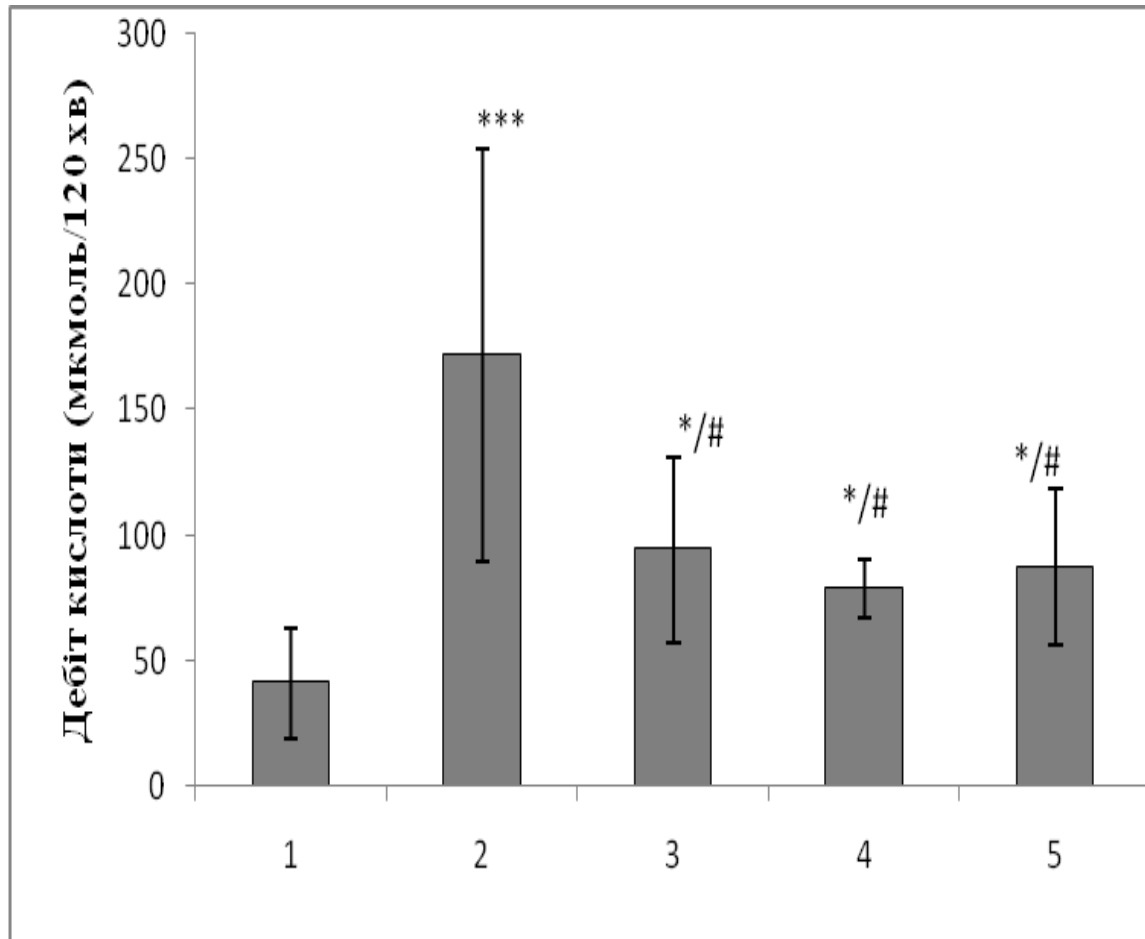


Рис.4.6. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28 денного ізольованого введення омепразолу (14 мг/кг,в/о) та комбінованого введення мультипробіотиків групи «Симбітер» (0,14 мл/кг,per os) та омепразолу ( $M \pm SD$ ):

- 1– контроль (n=33),
- 2 – омепразол (n=15)
- 3 – омепразол +«Симбітер ацидофільний®» концентрований (n=19),
- 4 – омепразол +«Симбітер форте®» (n=15),
- 5 – омепразол +«Апібакт®» (n=10)

Примітка:\* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю, #-  $p < 0,05$  відносно групи з омепразолом.

47,0 $\pm$  20,8 мкмоль/120хв, 45,0 $\pm$ 17,2 мкмоль/120хв та 51,3 $\pm$ 12,6 мкмоль/120хв відповідно, тоді як дебіт кислоти в контрольній групі складав 41,5 $\pm$  22,0 мкмоль/120хв. (рис.4.5).

Тобто, результати проведеного експерименту показали, що мультипробіотики групи «Симбітер» не справляли ніякого впливу на базальну шлункову секрецію у щурів.

При дослідженні секреторної функції шлунка у групи щурів, яким одночасно з блокатором Н<sup>+</sup>К<sup>+</sup> –АТФази 28 днів вводили мультипробіотики групи «Симбітер» ми отримали наступні результати.

Так дебіт гідрохлоридної кислоти в шлунку у щурів з комбінованим введенням «Симбітеру ацидофільного®» концентрованого та омепразолу був на 45,0 % (р < 0,05) нижчим ніж у щурів, яким вводили лише один омепразол. Подібна картина спостерігалася і при одночасному введенні з омепразолом «Симбітера форте®» та «Апібакту®», де показники базальної шлункової секреції були на 54,0% (р < 0,05) та 49,0% (р < 0,05) відповідно, менше порівняно з тваринами з омепразолом (рис.4.6).

Для перевірки того, чи пов'язане зниження шлункової секреції зі зниженням рівня гастрину у дослідних тварин ми визначили концентрацію гастрину в сироватці крові. Отже, в результаті досліджень ми встановили, що концентрація гастрину у щурів, яким одночасно з омепразолом протягом 28 днів вводили «Симбітер ацидофільний®» концентрований, «Симбітер форте®» та «Апібакт®» хоча і мала показники менше ніж у щурів омепразольної групи (135,4 $\pm$  19,0; 116,0 $\pm$ 21,3; 121,0 $\pm$ 32,5 пг/мл; відповідно) та все ж не досягала контрольних значень (рис.4.7).

Отже, мультипробіотики не тільки усували дисбактеріоз в шлунку, який розвивався на тлі тривалого введення омепразолу, але і знижували концентрацію гастрину в сироватці крові, що є доказом стимулюючого впливу наслідків дисбактеріозу на секрецію гастрину G-клітинами

антрального відділу шлунка. На користь нашого висновку свідчать роботи, в яких показано, що 28-ми денне введенням щурам омепразолу

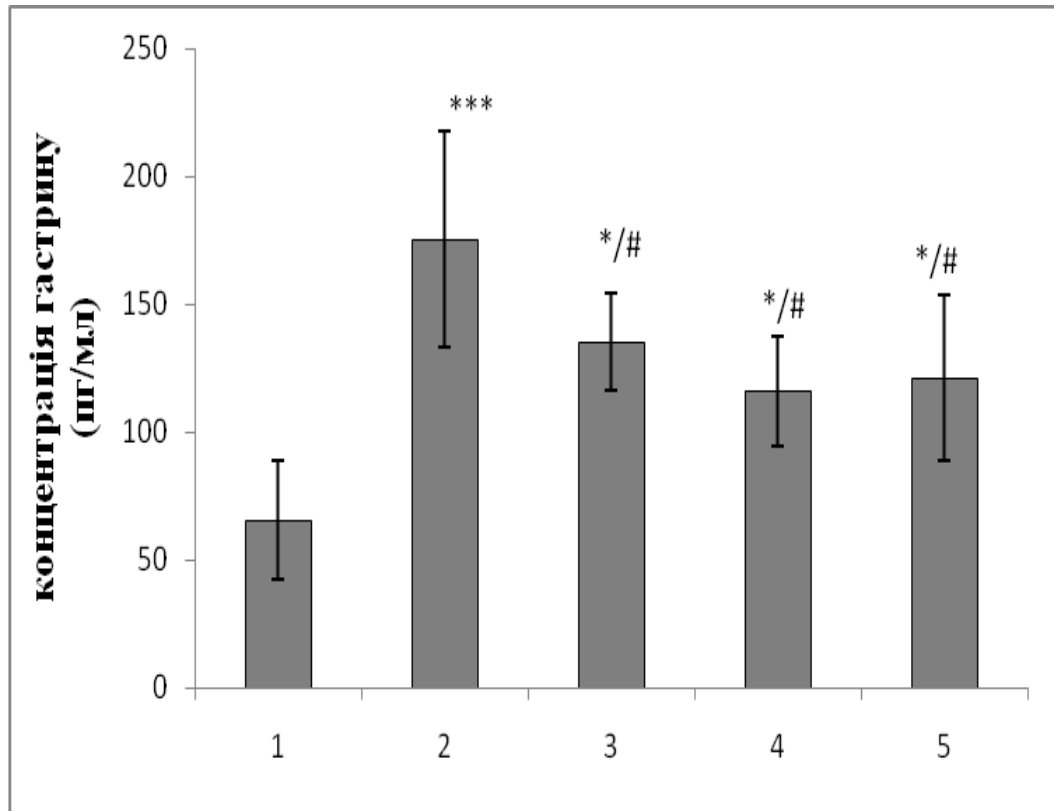


Рис. 4.7. Концентрація гастрину в сироватці крові щурів після 28 денного ізольованого введення омепразолу (14 мг/кг,в/о) та комбінованого введення мультипробіотиків групи «Симбітер» (0,14 мл/кг,per os) та омепразолу ( $M \pm SD$ ):

1– контроль (n=10),

2 – омепразол (n=10)

3 – омепразол +«Симбітер ацидофільний®» концентрований (n=10),

4 – омепразол +«Симбітер форте®» (n=10),

5 – омепразол +«Апібакт®» (n=10)

Примітка:\* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю, #-  $p < 0,05$  відносно групи з омепразолом.

призводить до зростання в сироватці крові концентрації прозапальних цитокінів ФНП- $\alpha$ , ІФН- $\gamma$  і ІЛ-1 $\beta$  [52, 54], що мають стимулюючий вплив на секрецію гастрину G-клітинами антрального відділу [4, 364, 540–542] та стимулює проліферацію епітеліальних клітин шлунка. Таким чином, причинами зростання рівня гастрину на тлі тривалого пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку є як дія високих рН на рецептори гастринових клітин в антральному відділі, так і стимулюючий вплив прозапальних цитокінів, що виділяються при розвитку дисбактеріозу, на G-клітини.

Таким чином, з отриманих даних ми заключили, що одним з механізмів зменшення інтенсивності шлункової секреції за умов одночасного введення мультипробіотиків та омепразолу може бути не тільки нормалізація мікробіоценозу, але і зниження концентрації гастрину в крові внаслідок дії мультипробіотиків.

Одержані результати дозволяють нам зробити рекомендацію пацієнтам, які страждають на хронічний гастрит із зниженою кислотністю, що саме їм слід періодично приймати мультипробіотики групи "Симбітер " з метою відновлення мікробіоценозу в шлунку, що запобігатиме надмірному росту умовно-патогенної флори та полегшувати стан пацієнтів з гіпоацидними гастритами.

#### **4.3.2 Стан слизово-епітеліального бар'єру шлунка щурів після одночасного введення омепразолу та мультипробіотиків**

Як ми вже зазначали раніше, 28-денна блокада  $H^+K^+$ -АТФази в парієтальних клітинах омепразолом є причиною розвитку дисбіозу в шлунку, що може призводити до змін в морфологічній основі шлункового слизу, а

саме до деструкції біополімерів екстрацелюлярного матриксу сполучної тканини. Дисбіоз та порушення структури слизу, в свою чергу, прискорюють розвиток неопластичних змін в шлунку.

Безумовно, з позицій вищевикладеного, значний інтерес представляють пробіотики, які здатні не тільки відновлювати природній мікробіоценоз, але і впливати на механізми імунного захисту [316, 543].

Тому метою наступної серії наших досліджень стало вивчення функціонування слизового бар'єру шлунку за умов поєднаної дії інгібітора протонної помпи та мультипробіотиків групи «Симбітер».

Спочатку ми дослідили, які зміни будуть відбуватися в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку за різних термінів одночасного введення омепразолу та одного з представників мультипробіотиків групи «Симбітер» «Симбітеру ацидофільного®» концентрованого.

За отриманими результатами нашого експерименту ми констатували, що пригнічення виділення гідрохлоридної кислоти шляхом введення омепразолу протягом 7-ми, 14-ти та 21 дня призводить до зростання вмісту вільного оксипроліну в шлунковому слизу на 7,9% ( $p < 0,001$ ), 125,3% ( $p < 0,001$ ), 146,3% ( $p < 0,001$ ) відповідно (табл.4.2).

Окрім змін в колагенових складових слизу таких як оксиприлін, відбуваються зміни і в неколагенових компонентах слизово-епітеліального бар'єру шлунку. Ми спостерігали в динаміці 7,14,21 день введення омепразолу зростання вмісту фукози на 23,6% ( $p < 0,001$ ), 49,7% ( $p < 0,001$ ), 52,3% ( $p < 0,001$ ) (табл.4.2). Відбувалося зростання вмісту N-ацетилнейрамінової кислоти в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку після 7 днів гіпохлоргідрії на 7,9% ( $p < 0,001$ ), після 14 днів на 65,2% ( $p < 0,001$ ), після 21 дня на 79,3% ( $p < 0,001$ ). Поступово з 7-21 день збільшувався вміст гексуронових кислот на 17,2% ( $p < 0,001$ ), 33,9% ( $p < 0,001$ ), 78,5% ( $p < 0,001$ ) відповідно (таб.4.2).

Таблиця 4.2

Стан слизово-епітеліального бар'єру шлунка щурів за умов одночасного введення з блокатором  $H^+-K^+$ -АТФази омепразолом мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрованого, ( $M \pm SD$ , мкмоль/г):

	контроль n=10	7 днів		14 днів		21 день	
		омепразол n=10	омепразол + Симбітер n=10	омепразол n=10	омепразол +Симбітер n=10	омепразол n=10	омепразол +Симбітер n=10
<b>Оксипролін</b>	0,95 $\pm$ 0,01	1,12 $\pm$ 0,03 ***	0,98 $\pm$ 0,03 ###	2,14 $\pm$ 0,17 ***	0,99 $\pm$ 0,02 ###	2,34 $\pm$ 0,02 ***	0,81 $\pm$ 0,02 ###
<b>Фукоза</b>	3,98 $\pm$ 0,35	4,92 $\pm$ 0,23 ***	4,02 $\pm$ 0,24 ###	5,96 $\pm$ 0,23 ***	3,92 $\pm$ 0,24 ###	6,06 $\pm$ 0,17 ***	3,89 $\pm$ 0,07 ###
<b>N- ацетилнейра- мінова кислота</b>	2,9 $\pm$ 0,18	3,12 $\pm$ 0,24	2,74 $\pm$ 0,15 ###	4,79 $\pm$ 0,09 ***	2,84 $\pm$ 0,09 ###	5,2 $\pm$ 0,16 ***	2,8 $\pm$ 0,1 ###
<b>Гексуронові кислоти</b>	7,17 $\pm$ 0,46	8,4 $\pm$ 0,23 ***	7,74 $\pm$ 0,15 */###	9,6 $\pm$ 0,18 ***	7,32 $\pm$ 0,21 ###	12,8 $\pm$ 0,1 ***	6,2 $\pm$ 0,2 ###

Примітки:\* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю

### -  $p < 0,001$  відносно групи щурів з омепразолом

Отримані результати свідчать про те, що зі збільшенням тривалості омепразолвикликаної гіпохлоргідрії, зростає швидкість деполімеризації неколагенових білків шлункового слизу, на що вказують збільшення вмісту фукози, N- ацетилнейрамінової кислоти та гексуранових кислот.

Введення мультипробіотика «Симбітер ацидофільного®» концентрованого» на фоні гіпоацидності, викликаної омепразолом, призводило до зменшення рівня досліджуваних показників до контрольних в усі терміни експерименту(табл.4.2).

З отриманих результатів ми припустили, що найбільший ефект впливу на слизовий бар'єр шлунка омепразол буде справляти через 28 днів введення, адже саме через 28 днів відбуваються найсуттєвіші зміни, про які ми говоримо в своїй роботі та представлені в 3 розділі. Тому в наступній серії експерименту дослідження впливу тривалої гіпоацидності шлункового соку, викликаної омепразолом ми проводили за умов 28 денного сумісного введення з групою мультипробіотиків («Симбітер ацидофільний®» концентрований, «Симбітер форте®» та «Апібактом®»)

При цьому слід зазначити, що показники вмісту вільного оксипроліну щурів з ізольованим введенням «Симбітер ацидофільний» концентрованого не мали різниці з контрольними щурами.

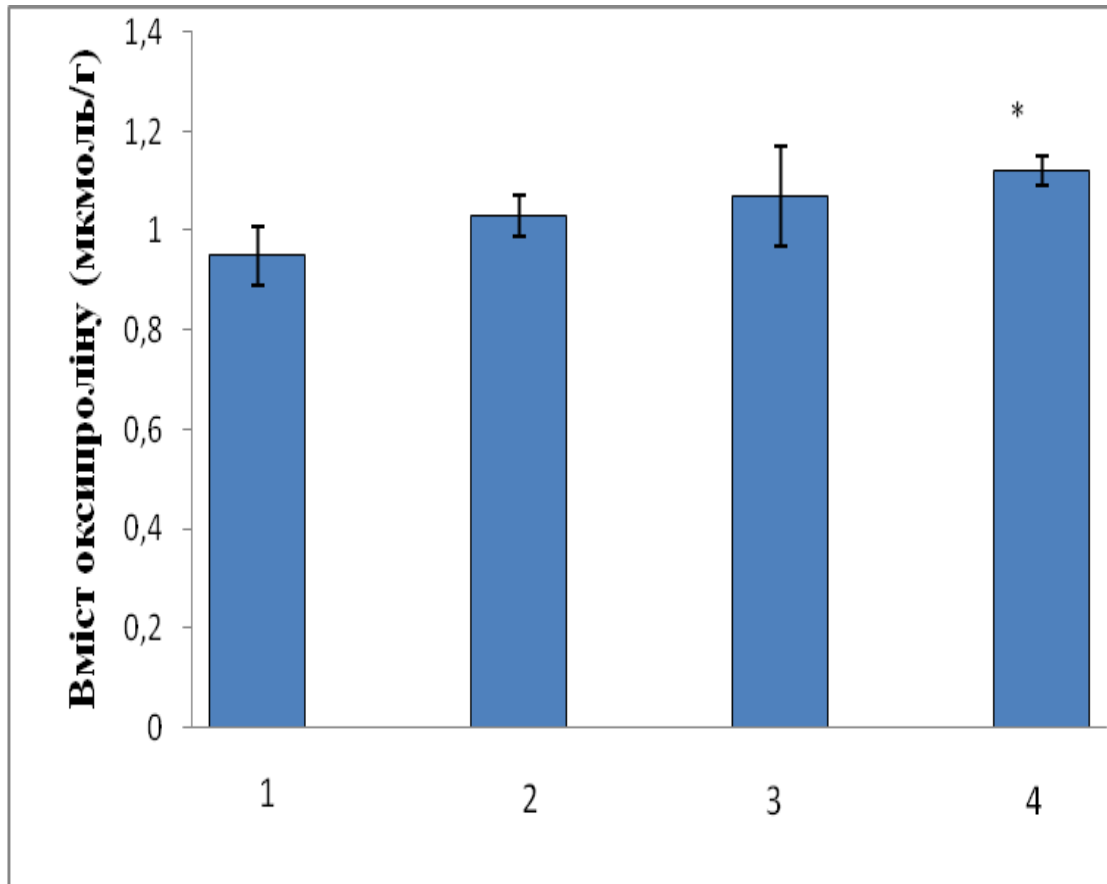


Рис. 4.8. Вміст оксипроліну в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов 28 денного введення мультипробіотиків групи «Симбітер»,  $M \pm SD$ :

1 – контроль (n=12),

2 – «Симбітер ацидофільний» (n=10),

3 – «Симбітер форте» (n=10),

4 – «Апібакт» (n=10),

Примітки: \*-  $p < 0,05$  відносно контролю.

Подібні результати були отримані при одночасному введенні омепразолу з «Симбітер форте», проте при ізольованому введенні «Апібакту» спостерігали на 17,8% ( $p < 0,01$ ) вищі значення вмісту оксипроліну порівняно з контролем (рис. 4.8).

Результати досліджень показали, що в умовах омепразолвикликаної гіпохлоргідрії відбувається посилення деградації колагенових білків,

внаслідок чого вміст вільного оксипроліну через 28 днів зростав на 163,2% ( $p < 0,001$ ).

За умов одночасного введення протягом 28 днів омепразолу та «Симбітеру ацидофільного» концентрованого відбувалося зниження вмісту вільного оксипроліну на 68,8% ( $p < 0,001$ ) (рис. 4.9), порівняно з тваринами,

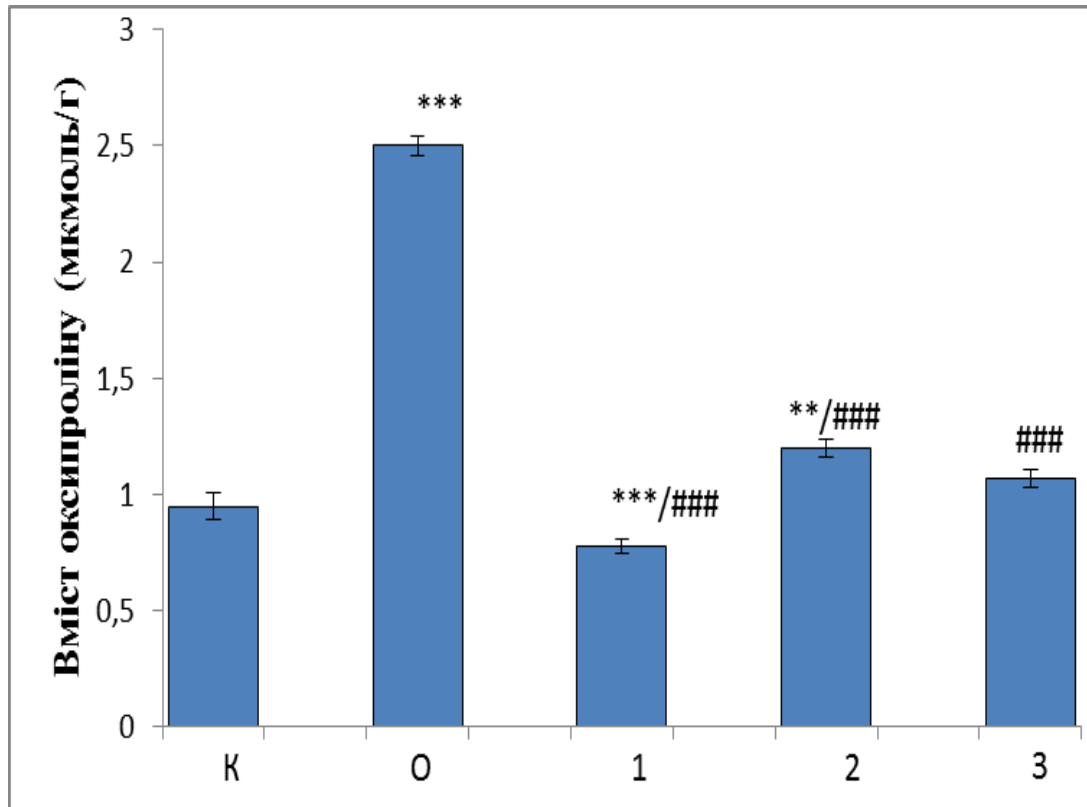


Рис. 4.9. Вміст оксипроліну в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов сумісного 28 денного введення омепразолу та мультипробіотиків групи «Симбітер»: К – контроль (n=12); О – омепразол (n=17);

1 – омепразол + «Симбітер ацидофільний» (n=8); 2 – омепразол + «Симбітер форте» (n=10); 3 – омепразол + «Апібакт» (n=10),  $M \pm SD$ ;

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю,

### -  $p < 0,001$  відносно групи з омепразолом.

яким вводили лише один омепразол та було, навіть, на 17,9% ( $p < 0,001$ ) нижче щурів контрольної групи (рис. 4.9). Аналогічний вплив при одночасному введенні з омепразолом справляв і «Симбітер форте».

Мультипробіотик зменшував вміст оксипроліну на 52,0% ( $p < 0,001$ ) (рис. 4.9) порівняно з омепразольною групою, хоча на 26,6% ( $p < 0,01$ ) був більше ніж в контролі (рис. 4.9). Поєднане введення «Апібакту» з омепразолом призводило до аналогічних змін, а саме, на 57,0 % ( $p < 0,001$ ) знижувало показники оксипроліну та повертало до контрольних значень. (рис. 4.9).

Визначення фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка показало, що тільки 28-денне ізольоване введення «Симбітеру ацидофільного» концентрованого справляло пригнічення на 26,0% ( $p < 0,01$ ) на вміст фукози, тоді як мультипробіотики «Симбітер форте» та «Апібакту» не впливали (рис.4.10)

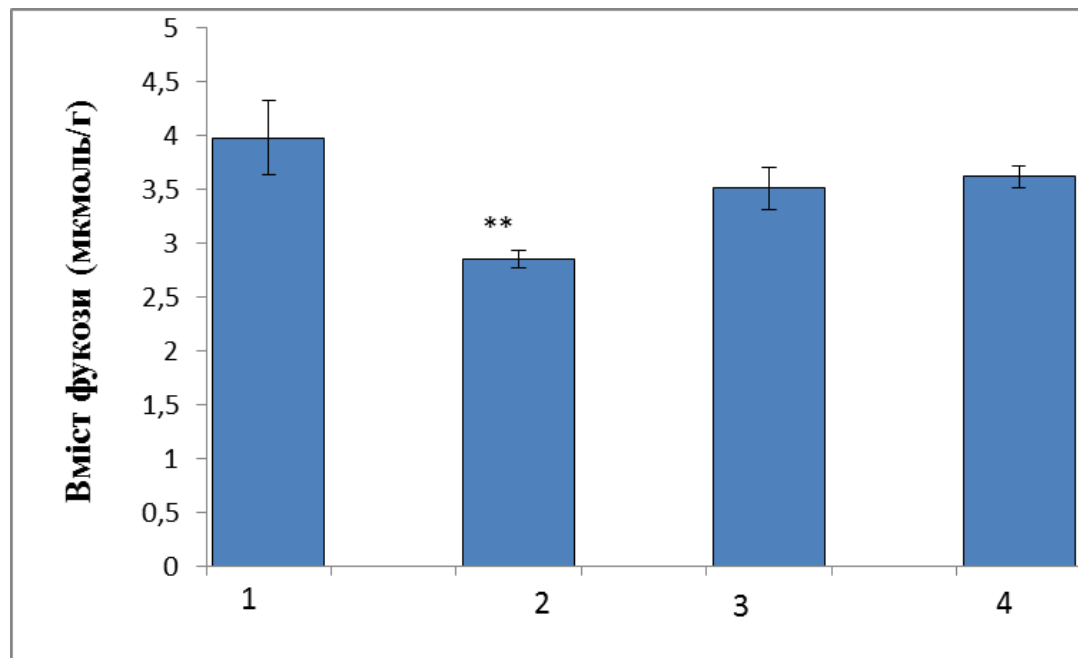


Рис. 4.10. Вміст фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов 28 денного введення мультипробіотиків групи «Симбітер»,  $M \pm SD$ :

1 – контроль (n=12),

2 – «Симбітер ацидофільний» (n=10),

3 – «Симбітер форте» (n=10),

4 – «Апібакт» (n=10),

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$  відносно контролю.

Результати наших досліджень показали, що 28 денна гіпохлоргідрія, викликана омепразолом призводить до зростання вмісту фукози на 107,0 % ( $p < 0,001$ ) (рис.4.11).

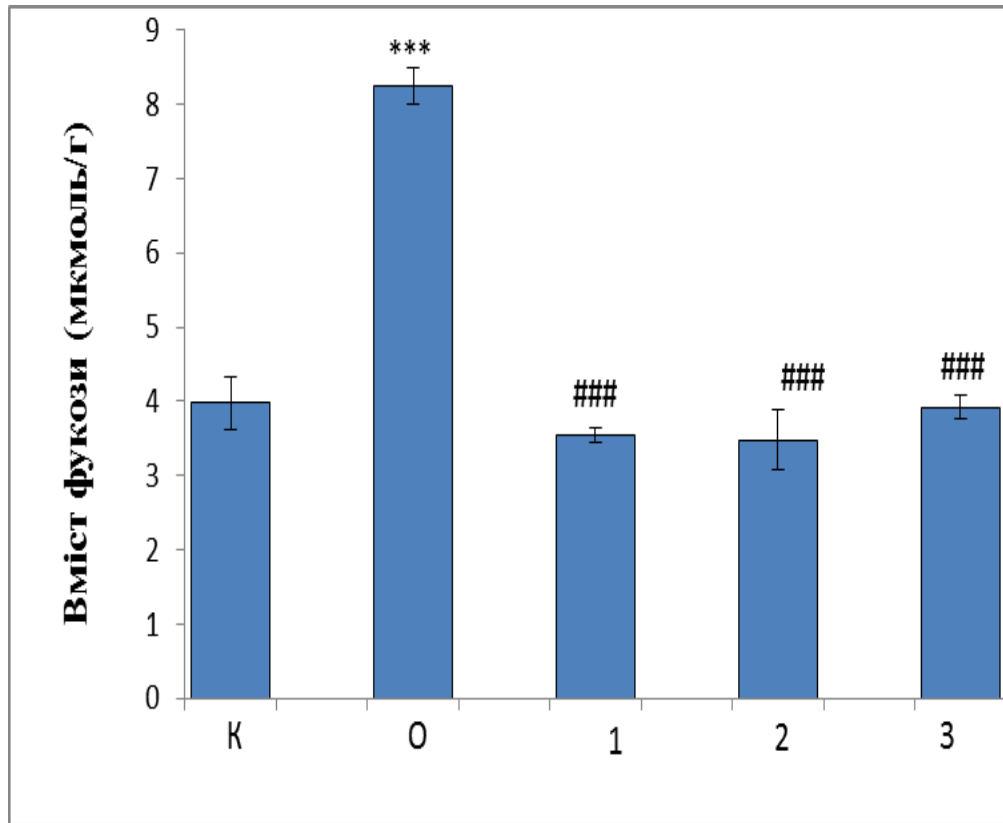


Рис. 4.11. Вміст фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов сумісного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків групи «Симбітер»: К – контроль (n=12); О – омепразол (n=17);

1 – омепразол + «Симбітер ацидофільний» (n=8); 2 – омепразол + «Симбітер форте» (n=10); 3 – омепразол + «Апібакт» (n=10),  $M \pm SD$ ;

Примітки: \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю, ### -  $p < 0,001$  відносно групи з омепразолом.

Тоді як поєднання введення омепразолу з кожним з мультипробіотиків («Симбітер ацидофільний» концентрований, «Симбітер форте», «Апібакт») протягом 28 днів не змінювало показники вмісту фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку, так як результати не відрізнялись від контрольної групи (рис.4.11.).

Подальшими нашими дослідженнями по вивчення компонентів слизово-епітеліального бар'єру шлунку щурів було показано, що лише 28-денне ізольоване введення мультипробіотика «Симбітер форте» статистично значущо впливало на вміст гексуранових кислот в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку (рис.4.12)

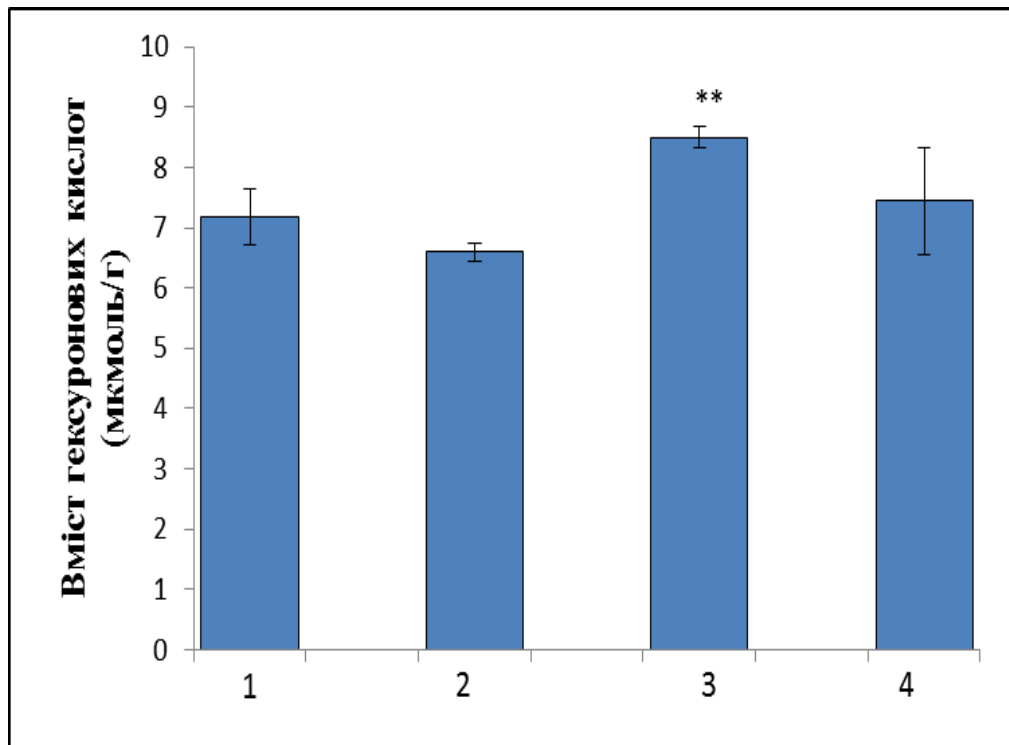


Рис. 4.12. Вміст гексуранових кислот в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов 28-денного введення мультипробіотиків групи «Симбітер»,  $M \pm SD$ :

1 – контроль (n=12),

2 – «Симбітер ацидофільний» (n=10),

3 – «Симбітер форте» (n=10),

4 – «Апібакт» (n=10),

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$  відносно контролю.

Як видно на рис. 4.13 в результаті 28-денного введення омепразолу на 74,0% ( $p < 0,001$ ) зростав вміст гексуранових кислот в слизово-

епітеліальному бар'єрі шлунку. Одночасне введення з омепразолом «Симбітеру ацидофільного» та «Апібакту» протягом 28 днів призводило до зниження досліджуваного показника до значень контрольних щурів (рис.4.13). Проте одночасне введення з інгібітором протонної помпи іншого мультипробіотика «Симбітеру форте», хоч і на 17,5% ( $p < 0,01$ ) знижувало вміст гексуранових кислот, але їх вміст був на 43,6% ( $p < 0,001$ ) вищим ніж у щурів контрольної групи (рис.4.13).

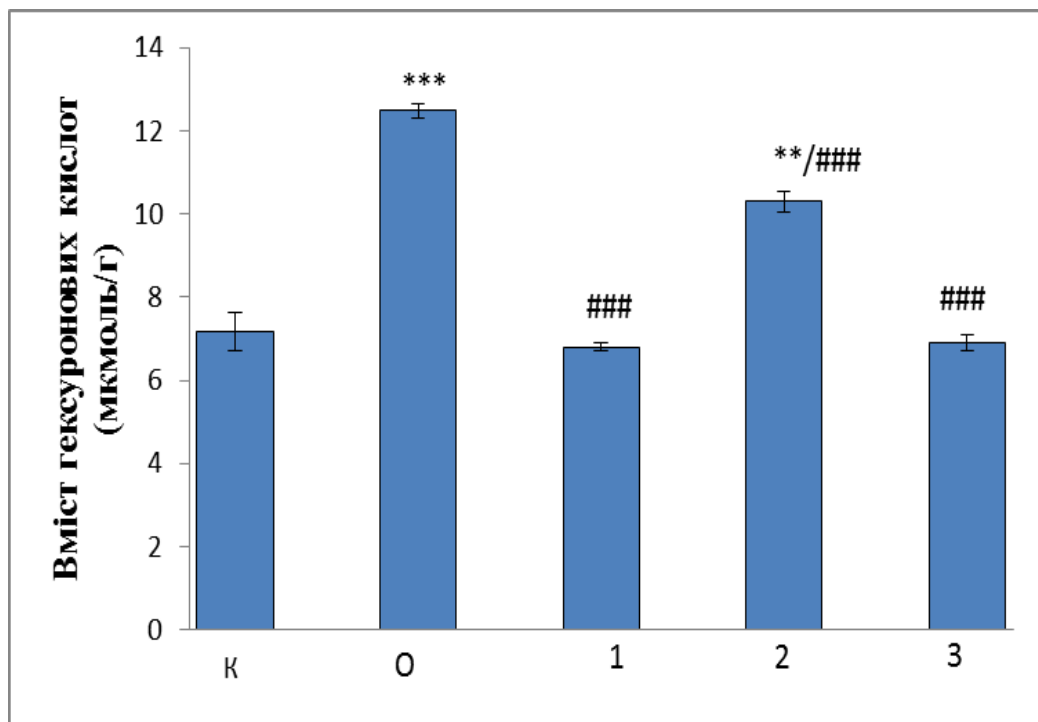


Рис. 4.13. Вміст гексуранових кислот в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов сумісного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків групи «Симбітер»: К – контроль (n=12); О – омепразол (n=17);

1 – омепразол + «Симбітер ацидофільний» (n=8); 2 – омепразол + «Симбітер форте» (n=10); 3– омепразол + «Апібакт» (n=10),  $M \pm SD$ ;

Примітки: \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю, ### -  $p < 0,001$  відносно групи з омепразолом.

З результатів представлених на рис. 4.14 можна побачити, що введення мультипробіотика «Симбітера ацидофільного» концентрованого окремо протягом 28 днів зменшувало вміст N- ацетилнейрамінової кислоти (сіалової кислоти) на 17,2% ( $p < 0,001$ ) з  $2,9 \pm 0,18$  мкмоль/г до  $2,4 \pm 0,1$  мкмоль/г, порівняно з тваринами контрольної групи, при цьому впливу ізольованого введення «Симбітеру форте» та «Апібакту» на вміст N- ацетилнейрамінової кислоти не відбувалося (рис.4.14).

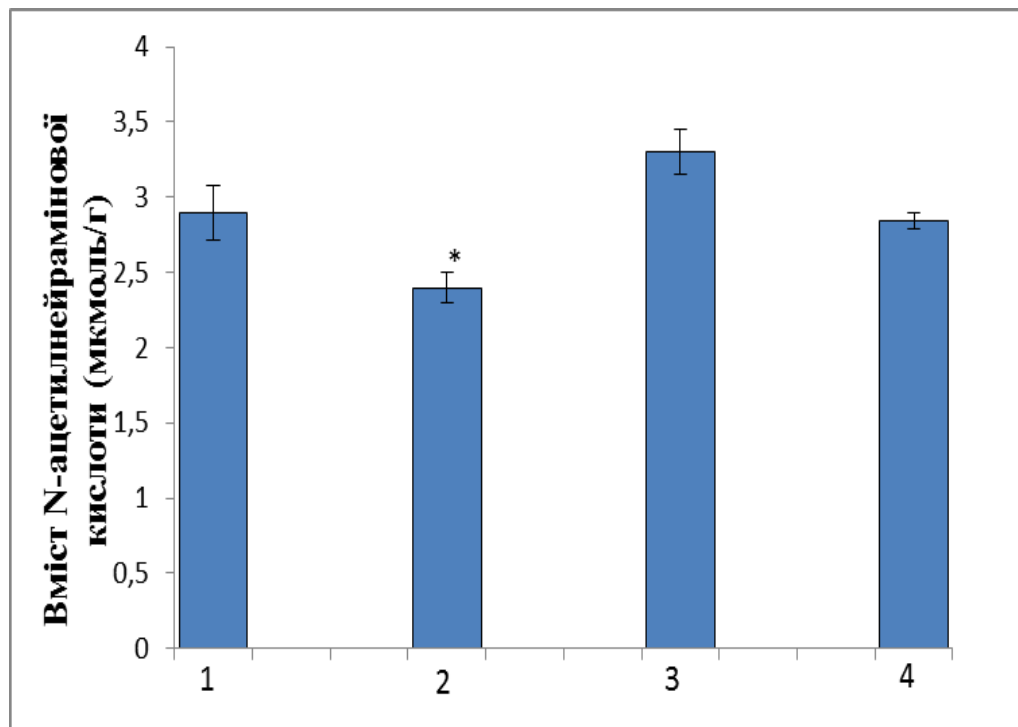


Рис. 4.14. Вміст N- ацетилнейрамінової кислоти в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов 28-денного введення мультипробіотиків групи «Симбітер»,  $M \pm SD$ :

- 1 – контроль (n=12),
- 2 – «Симбітер ацидофільний» (n=10),
- 3 – «Симбітер форте» (n=10),
- 4 – «Апібакт» (n=10),

Примітка: \*-  $p < 0,05$  відносно контролю.

Дослідження вмісту N- ацетилнейрамінової кислоти в слизовій оболонці шлунка після 28-денної гіпохлоргідрії показало, що 28-денна гіпохлоргідрія збільшувала вміст сіалової кислоти на 111,0% ( $p < 0,001$ ). Одночасне 28 денне введення з омепразолом «Симбітера ацидофільного» концентрованого, «Симбітеру форте» та «Апібакту», відповідно кожній серії експерименту, повертало показники до контрольних значень (рис.4.15).

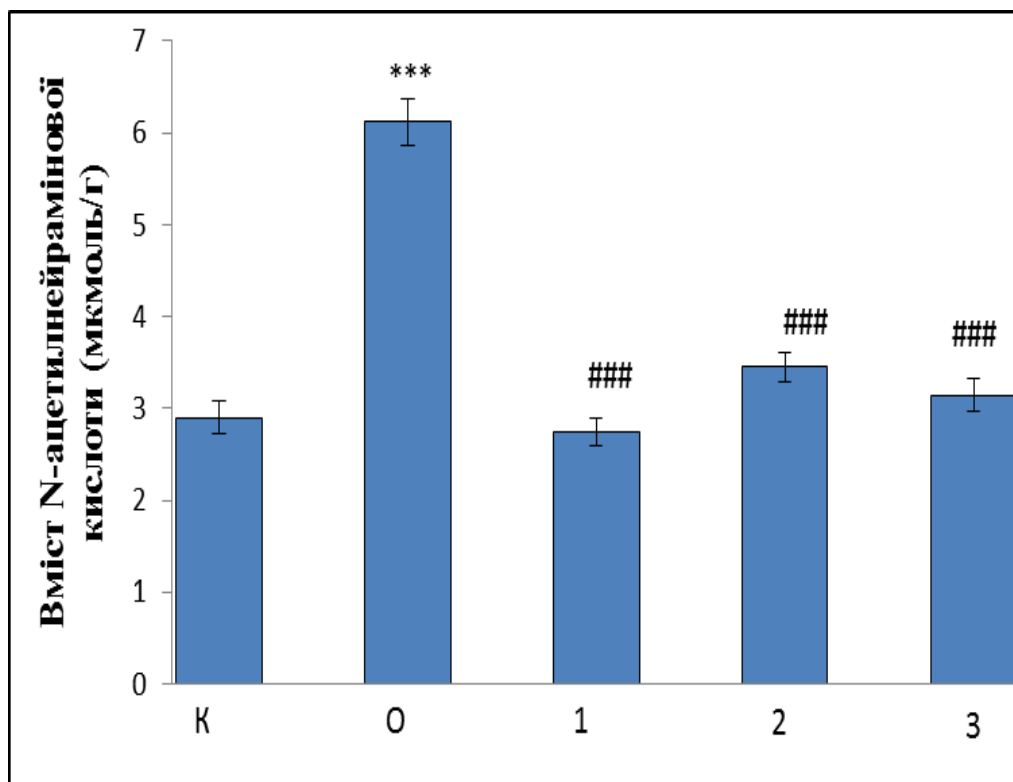


Рис. 4.15. Вміст N- ацетилнейрамінової кислоти в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунку щурів за умов сумісного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків групи «Симбітер»: К – контроль (n=12); О – омепразол (n=17);

1 – омепразол + «Симбітер ацидофільний» (n=8); 2 – омепразол + «Симбітер форте» (n=10); 3– омепразол + «Апібакт» (n=10),  $M \pm SD$ ;

Примітки: \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю, ### -  $p < 0,001$  відносно групи з омепразолом.

При аналізі даної серії досліджень ми намагалися порівняти одержані нами результати з роботами інших вчених, які працюють в подібному напрямленні. Схожі результати отримав Kristensen M. який показав, що у хворого після лікування  $H_2$ -блокаторами гістамінових рецепторів спостерігалась гіпертрофія слизової оболонки шлунка та зростання вмісту гексозаміна і фукози [544]. Іншими авторами при дослідженні біоптатів слизової оболонки дванадцятипалої кишки у хворих з гастродуоденітами було зафіксовано очевидні ознаки деструкції сполучної тканини у вигляді накопичення глікозаміногліканів [545, 546]. Гастроентерологи не виключають ролі кишкового дисбіоза у розвитку дисплазії сполучної тканини. На їх думку, мікроорганізми, які продукують ферменти, беруть участь в метаболізмі сполучної тканини та її деструкції, та відповідним чином впливають на розвиток диспластичних процесів [547, 548]. Порушення мікробіоценозу кишечника у дітей з дисплазією сполучної тканини виявляли в 8 разів частіше, ніж у обстежуваних, які не мають зареєстрованого диспластичного статусу. У хворих з низьким ступенем вираженості основних клінічних симптомів дисплазії переважну більшість в кишковому мікробіоценозе займали грамнегативні умовно-патогенні ентеробактерії (*Klebsiella*, лактозонегативні *Escherichia coli*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Morganella*, *Serratia*). У хворих з високою експресивністю основних клінічних симптомів дисплазії сполучної тканини встановлена висока частота гіперколонізації кишечника грибами роду *Candida*, грампозитивними ентерококами і лактозонегативні *E. coli*. [549].

Описуючи отримані нами результати не можна не згадати про участь мікрофлори у формуванні захисної приепітеліальної біоплівки. Матрикс біоплівки формується та підтримується в більшості за рахунок секреції муцинів спеціалізованими епітеліоцитами і екзогенних полісахаридів симбіотичними мікроорганізмами. Муцини - це високомолекулярні глікопротеїни, які мають високий вміст вуглеводів (60-85%) та забезпечують

оптимальні реологічні властивості слизового бар'єру. Шлункові муцини виробляються слизовими клітинами шлунка і слизової оболонки. На сьогодні вже ідентифіковано 21 ген, що відповідає за синтез різних муцинів. Гени муцинів людини позначаються як MUC, зокрема в шлунку здебільшого представлений MUC6. Однією із важливих особливостей муцинів є їх захисні властивості. Вони базуються на здатності муцинів захоплювати мікробні клітини і вірусні часточки з подальшим виведенням із організму [129, 550]. Адгезія до специфічних рецепторів муцину полегшує колонізацію слизової оболонки комменсальними бактеріями, надаючи їм перевагу в рості. В останні роки показано, що мікроорганізмам належить важлива роль в кругооберті слизу та її основного субстрату-муцина. Ця роль належить муцин-деградуючим бактеріям, більшість з яких належить до непатогенних симбіотичних видів. Так, наприклад, домінуючою муцин-розкладаючою групою мікробіоти немовлят є біфідобактерії [371].

Експериментально доведено, що комплексні мультипробіотики сприяють зменшенню процесів перикисного окиснення ліпідів та усуненню пошкоджуючого впливу їх токсичних продуктів на слизову оболонку шлунка [52].

Таким чином, проаналізувавши літературні джерела та отримані нами дані дозволило нам заключити, що дисбактеріоз призводить до зниження резистентності організму, в наслідок чого відбувається порушення компенсаторних механізмів захисту та пошкодження слизової оболонки шлунка, свідченням чого є суттєве зростанням рівня оксипроліну, фукози, N-ацетилнейрамінової кислоти та гексуронових кислот у шлунковому слизу щурів, що стало ще одним з підтверджень розвитку гіперпластичних змін в шлунку. При 28-денній гіпоацидності мультипробіотики збільшували резистентність слизової оболонки до дії високих рН і наслідків дисбактеріозу. Це проявлялося в їх впливі на вміст вільних оксипроліну, фукози і гексуронових кислот в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка.

### 4.3.3 Морфологічний стан слизової оболонки шлунка щурів за умов сумісного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків

Як раніше нами вже було описано в 3 розділі зміни, що відбуваються в секреторному апараті шлунка після 28 денної гіпохлоргідрії пов'язані з розвитком диспластичних та гіперпластичних процесів в слизовій оболонці шлунка. Спираючись на наведені вище результати подальші наші експерименти було спрямовано на дослідження морфологічної та морфометричної картини слизової оболонки шлунку щурів за умов корекції тривалої омепразолвикликаної гіпохлоргідрії введенням мультипробіотиків.

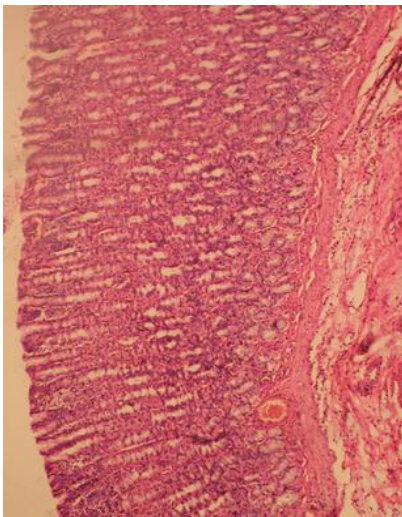


Рис.4.16а Контрольна група. Слизова оболонка фундального відділу шлунка нормальної гістологічної будови. Збарвлення гематоксиліном-еозином. Зб. 120.

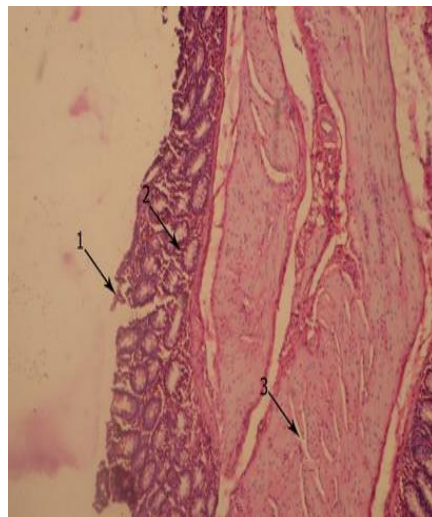


Рис.4.16б Слизова оболонка фундального відділу шлунка після 28-денного введення омепразолу. (1-дисквамація епітелію, 2-деструктивні зміни glanduloцитів, 3- розшарування м'язової оболонки). Збарвлення гематоксилін-еозином. Зб.120.

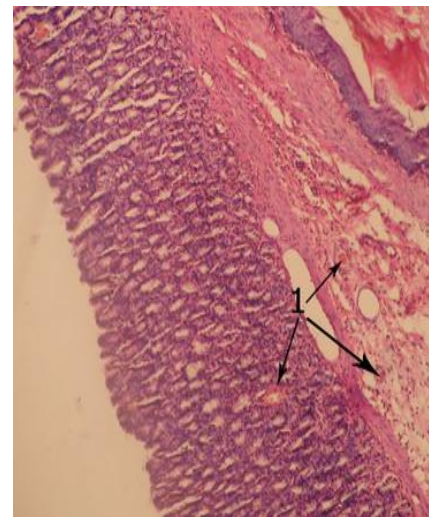


Рис.4.16в Слизова оболонка фундального відділу шлунка щурів після 28-денного введення омепразолу з Симбігером (1-судини заповнені форменими елементами крові). Збарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.

Використовуючи мультипробіотики, як засоби профілактики порушень до яких призводить тривале пригнічення шлункової секреції ми спостерігали наступну картину в даній серії експерименту. В результаті гістологічного аналізу слизової оболонки щурів контрольної групи встановлено, що слизова рівномірно покрита прозорим слизом, який заповнює ямки залоз. Ядра клітин слизової розміщені ексцентрично, цитоплазма прозора, оболонки клітин не пошкоджені. Підслизова, м'язева і серозна оболонки без змін (рис. 4.16а ).

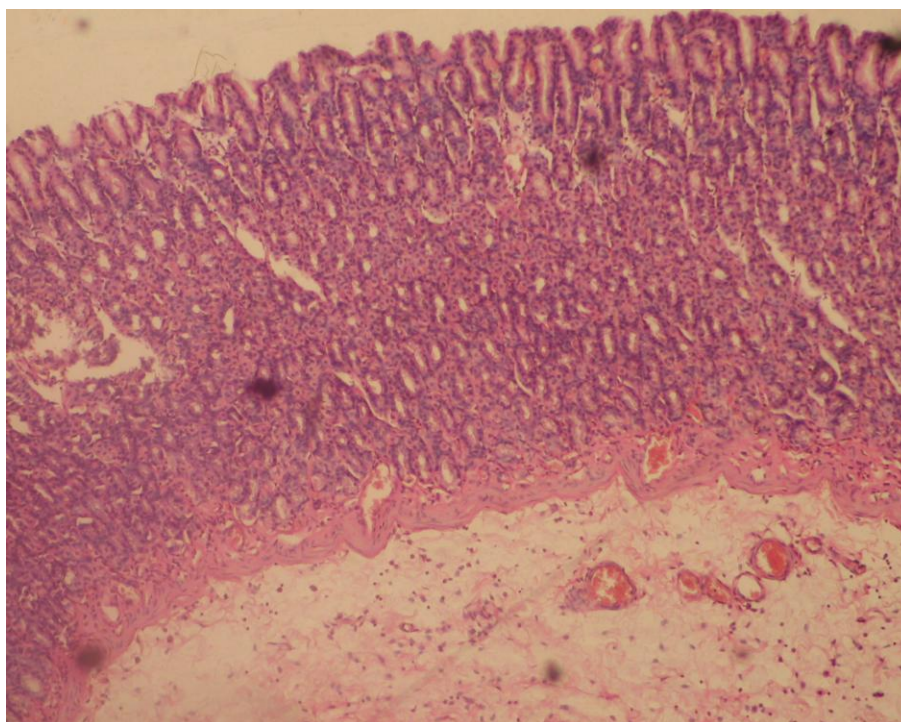


Рис.4.17. Мікрофотографія слизової оболонки антрального відділу шлунка після 28 денного введення омепразолу та мультипробіотика «Симбітер® ацидофільний» концентрованого. Збарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.

Тоді як у щурів після 28 денної гіпохлоргідрії відмічались вкорочення залоз і зменшення їх кількості, що є основною ознакою атрофії (рис.4.16.б) спостерігалася десквамація епітелію слизової оболонки, у окремих залозах

гланулоцити піддавались деструктивним змінам (рис.4.16.б), також у частини тварин спостерігалось явище гіпертрофії. У групи щурів, яким одночасно з омепразолом протягом 28 днів ввели мультипробіотик «Симбітер® ацидофільний» концентрований практично не відмічалось змін у порівнянні з контрольною групою. В фундальному відділі відмічались нормальної висоти залози, без явищ метаплазії та гіперплазії (рис.4.16.в), в антральному відділі слизова також була нормальної гістологічної будови (рис.4.17)

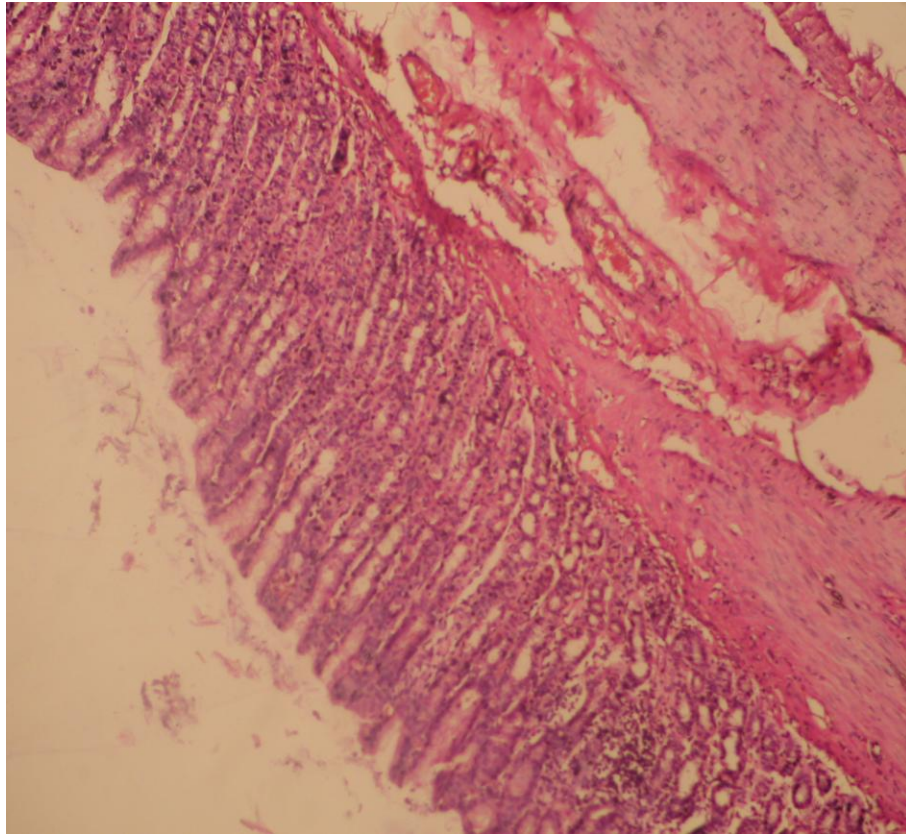


Рис. 4.18. Мікрофотографія слизової оболонки фундального відділу шлунка після 28-денного введення омепразолу та мультипробіотика «Апібакту». Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.

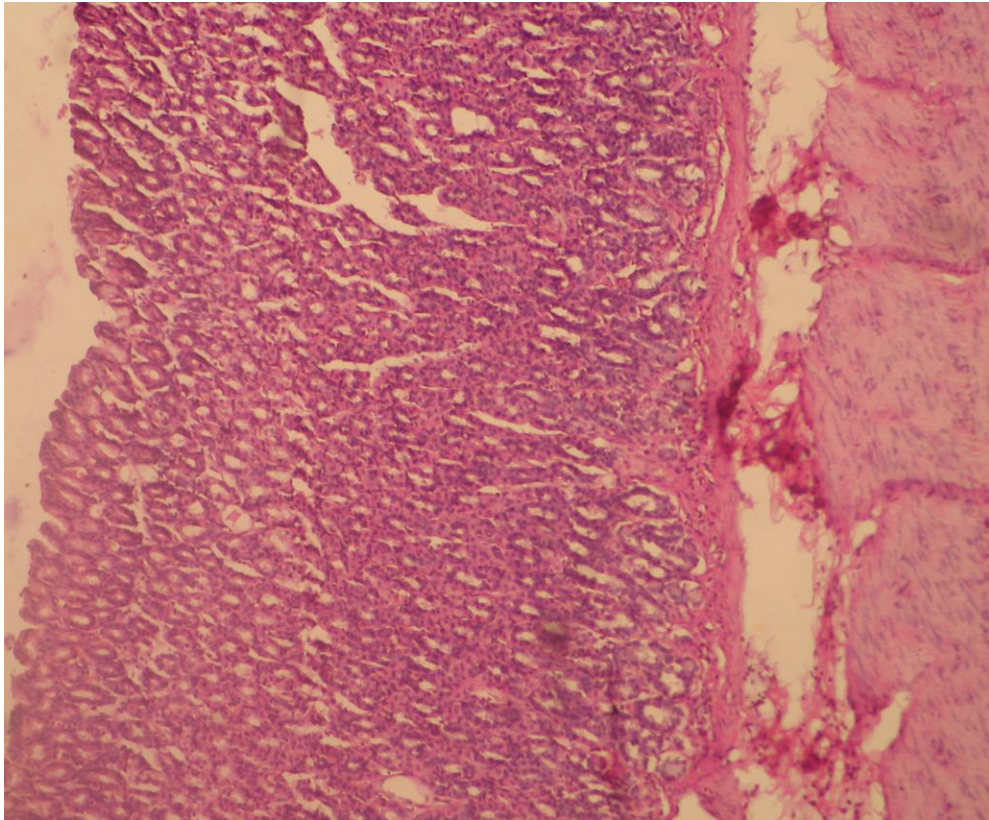


Рис. 4.19. Мікрофотографія слизової оболонки антрального відділу шлунка після 28- денного введення омепразолу та мультипробіотику «Апібакту». Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.

Схожу картину спостерігали в групі щурів, яким разом з омепразолом протягом 28 днів вводили мультипробіотик «Апібакт». Слизова оболонка більшості щурів цієї групи практично не відрзнялася від слизової оболонки контрольних щурів як в фундальному (рис.4.18.) так і в антральному (рис.4.19.) відділах шлунка.

Проте зустрічались випадки периваскулярної інфільтрації лейкоцитами у підслизовій основі. На рис. 4.20 можна побачити зміни деструктивного характеру у м'язевій оболонці. Судини підслизової основи заповнені плазмою крові (можливо масами фібрину). У ділянки розшарування внутрішнього шару м'язової оболонки із підслизової основи врастають

судини. У ділянках вrostання судин, ймовірно, відбувається процес регенерації м'язової оболонки (заміна сполучнотканинними елементами).

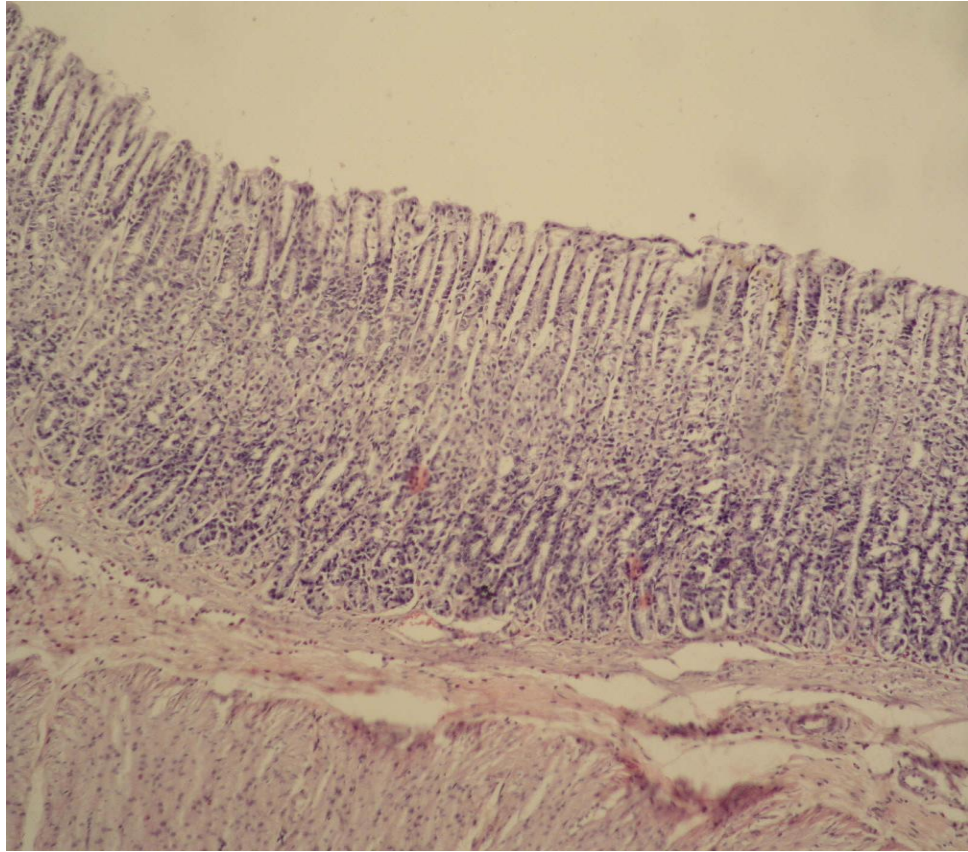


Рис. 4.20. Мікрофотографія слизової оболонки фундального відділу шлунка після 28-денного введення омепразолу та мультипробіотика «Апібакту». Забарвлення гематоксилін-еозином. Зб. 120.

При проведенні морфометричного аналізу виявлено, що висота слизової оболонки фундального відділу шлунка щурів контрольної групи складає  $461,10 \pm 8,51$  мкм, площа поперечного перерізу паріетальних клітин –  $197,29 \pm 12,19$  мкм<sup>2</sup>, площа поперечного перерізу ядер паріетальних клітин –  $33,95 \pm 1,89$  мкм<sup>2</sup>, ядерно-цитоплазматичне співвідношення становить  $0,17 \pm 0,01$  (табл. 4.3).

Внаслідок 28-денного введення омепразолу висота слизової оболонки фундального відділу шлунка у порівнянні з контролем збільшується на 4,86%

( $p < 0,001$ ), площа поперечного перерізу парієтальних клітин – на 8,57% ( $p < 0,001$ ). Спостерігається зменшення площі поперечного перерізу ядер парієтальних клітин на 11,72% ( $p < 0,001$ ), ядерно-цитоплазматичне співвідношення також зменшується на 19,65% ( $p < 0,001$ ) (табл.4.3).

Після тривалого (протягом 28 днів) одночасного введення омепразолу та «Симбітеру® ацидофільного» спостерігається тенденція до нормалізації досліджених показників. Висота слизової оболонки знизилася на 2,69% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою щурів, що отримували лише омепразол, однак у порівнянні з контрольною групою залишилася збільшеною на 2,23% ( $p < 0,05$ ). Площа поперечного перерізу парієтальних клітин знизилась на 6,72% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з показником щурів з гіпергастринемією, однак порівняно з контрольною групою залишилась збільшеною на 1,98% ( $p < 0,001$ ). Площа поперечного перерізу ядер парієтальних клітин збільшилась на 5,34% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з такою при введенні омепразолу, однак у порівнянні з контрольною групою залишилася зменшеною на 6,75% ( $p < 0,001$ ). Ядерно-цитоплазматичне співвідношення зросло на 11,46% ( $p < 0,001$ ), проте не досягло меж контрольної групи і залишилось зменшеним на 9,25% ( $p < 0,001$ ) (табл.4.3).

Після одночасного введення «Апібакта®» та омепразолу протягом 28 днів також спостерігається тенденція до нормалізації досліджуваних показників. Висота слизової оболонки зменшилась у порівнянні з групою тварин, які отримували лише омепразол, на 1,15% ( $p < 0,001$ ), однак залишилася збільшеною на 3,76% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з групою контролю ( $p < 0,001$ ). Площа поперечного перерізу парієтальних клітин зменшилася на 3,28% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з показниками тварин, які отримували лише омепразол, однак у порівнянні з контролем залишилася збільшеною на 5,67% ( $p < 0,001$ ). Площа поперечного перерізу ядер парієтальних клітин збільшилася у порівнянні з групою щурів з гіпергастринемією на 1,8%, але у порівнянні з контролем залишилася зменшеною на 10,13% ( $p < 0,001$ ). Ядерно-

цитоплазматичний індекс збільшився у порівнянні з групою, яка отримувала виключно омепразол, на 4,79% ( $p < 0,001$ ), однак залишився зменшеним щодо значення контрольної групи на 15,61% ( $p < 0,001$ ). У порівнянні з групою тварин, які одночасно з омепразолом отримували «Симбітер® ацидофільний», висота слизової оболонки у тварин, яким вводили «Апібакт®», залишилася збільшеною на 1,57%, площа поперечного перерізу парієтальних клітин також залишилася збільшеною на 3,56%, площа поперечного перерізу ядер парієтальних клітин залишилася зменшеною на 3,63%, як і ядерно-цитоплазматичне співвідношення, яке залишилося зменшеним на 7,01% ( $p < 0,001$ ) (табл. 4.3).

Отримані дані свідчать про виражене покращення стану слизової оболонки, зумовлене меншим ступенем розвитку гіперпластичних змін. Показано, що на тлі введення мультипробіотиків «Симбітер® ацидофільний» та «Апібакт®» спостерігається тенденція до покращення усіх досліджуваних показників.

Тенденцію до нормалізації досліджуваних показників у групі щурів, які одержували разом з омепразолом «Симбітер® ацидофільний» та «Апібакт®», можна пояснити дією коротколанцюгових жирних кислот (КЛЖК), в найбільшій кількості з яких виробляються масляна, пропіонова та оцтова. КЛЖК є головними кінцевими продуктами ферментації лактобактеріями та біфідумбактеріями нерозщеплюваних полісахаридів та харчових волокон у товстій кишці. Як відомо, масляна кислота є не лише найголовнішим джерелом енергії колоноцитів, частка якого у їх енергозабезпеченні становить до 70%, а й сильним диференціюючим і антипроліферативним агентом по відношенню до великої кількості ліній ракових клітин [551, 552]. В сучасній літературі велика увага присвячується масляній кислоті як важливому активатору апоптозу [553, 554]. Одним з можливих шляхів активації апоптозу є інгібування гістонової деацетилази, що зумовлює гіперацетилювання гістонів і, відповідно, зниження транскрипційної

активності. Це стимулює клітинну диференціацію, зупинку росту і апоптоз у трансформованих клітинах.

Таблиця 4.3.

Морфометричні показники слизової оболонки фундального відділу шлунка за умов сумісного 28-денного введення омепразолу (14мг/кг) та мультипробіотиків «Симбітер® ацидофільний» та «Апібакт®» (0,14 мл/кг),  $M \pm SD$

Досліджуваний показник	Контрольна група (0,2 мл фіз.р-н) n=7	Омепразол (14 мг/кг) n=10	Омепразол +Симбітер (0,14 мл/кг) n=10	Омепразол +Апібакт (0,14 мл/кг) n=10
Висота слизової оболонки	461,1±8,51 мкм	484,67±10,1*** мкм	471,62±7,1* /### мкм	479,12±11,1***### мкм
Площа поперечного перерізу парієтальних клітин	197,29±12,19 мкм <sup>2</sup>	215,78±6,47*** мкм <sup>2</sup>	201,27±6,16***### мкм <sup>2</sup>	208,71±3,9***### мкм <sup>2</sup>
Площа поперечного перерізу ядер парієтальних клітин	33,95±1,89 мкм <sup>2</sup>	29,97±3,36*** мкм <sup>2</sup>	31,66±2,15***### мкм <sup>2</sup>	30,51±1,8***### мкм <sup>2</sup>
Ядерно-цитоплазматичне співвідношення	0,173±0,014	0,139±0,018***	0,157±0,012###	0,146±0,009***###

\*\*\* - різниця статистично значуща в порівнянні з контролем (p < 0.001)

### - різниця статистично значуща в порівнянні з групою, яка отримувала лише омепразол (p < 0,001)

Апоптоз також може ініціюватися дещо іншим шляхом: бутират активує промотор гена Cdx2, який кодує кишковий транскрипційний фактор з родини ключових регуляторів розвитку та гомеостазу кишкового епітелія. Було показано, що продукти активованого Cdx2 інгібують клітинний ріст і стимулюють диференціацію. Одним з інших важливих механізмів ініціації

апоптозу є зменшення мембранної експресії та функціональної активності інтегринів, які являють собою важливу ланку сполучення між цитоскелетом та позаклітинним матриксом завдяки своїй участі у великій кількості сигнальних шляхів, які забезпечують клітинне диференціювання та ріст. Одним з можливих механізмів, задіяних у активації диференціації клітин, які вступили на шлях трансформації, є зменшення рівня експресії протоонкогена c-тус, що є важливим для контролю пухлинного росту. Іншим важливим процесом фізіологічної смерті клітин, яка забезпечується бутиратом, є аутофагія. Цей тип клітинної смерті характеризується масивною деградацією клітинного вмісту шляхом складної реорганізації комплексу мембрани/везикули та зміни лізосомальної активності. Крім того, КЛЖК володіють прямим антибактеріальним ефектом за рахунок зниження рН вмісту товстої кишки. Прополіс, який входить до складу «Апібакта®», в свою чергу характеризується протизапальними та антибактеріальними властивостями [555, 556].

Підсумовуючи цей підрозділ роботи можна зробити висновок, що введення щурам мультипробіотиків «Симбітер® ацидофільний» та «Апібакт®» одночасно з введенням омепразолом запобігає розвитку гіперпластичних змін у шлунку на фоні гіпергастринемії та сприяє стабілізації високого вмісту лактобактерій і біфідумбактерій. Отже, «Симбітер® ацидофільний» та «Апібакт®» можна рекомендувати з профілактичною метою у комплексному лікуванні хвороб шлунково-кишкового тракту, які супроводжуються гіперацидністю (хвороба Золлінгера-Еллісона, виразкова хвороба, атрофічний гастрит), панкреатитів, хвороби Баррета, гастроезофагеального рефлюкса та ін.

#### **4.3.4 Цитотопографія лектинових рецепторів у слизовій оболонці шлунка щурів за умов сумісного 28-денного введення омепразолу та мультипробіотиків**

Лектини є новою різновидністю біологічно активних білків, що здатні до специфічного розпізнавання рецепторів цитомембрани всіх типів живих організмів. В організмі людини ендогенні лектини відіграють важливу роль в процесах фертилізації, імунної відповіді, антибактеріального та противірусного захисту, кліренсу, апоптозу тощо. Екзогенні рослинні лектини набули широкого застосування як інструмент для дослідження цитомембран тваринної клітини, що різняться за своїм вуглеводним складом у випадках цитолізу, імуногематологічних та ендокринних захворювань, інфекційного процесу та розвитку новоутворень, тощо [391].

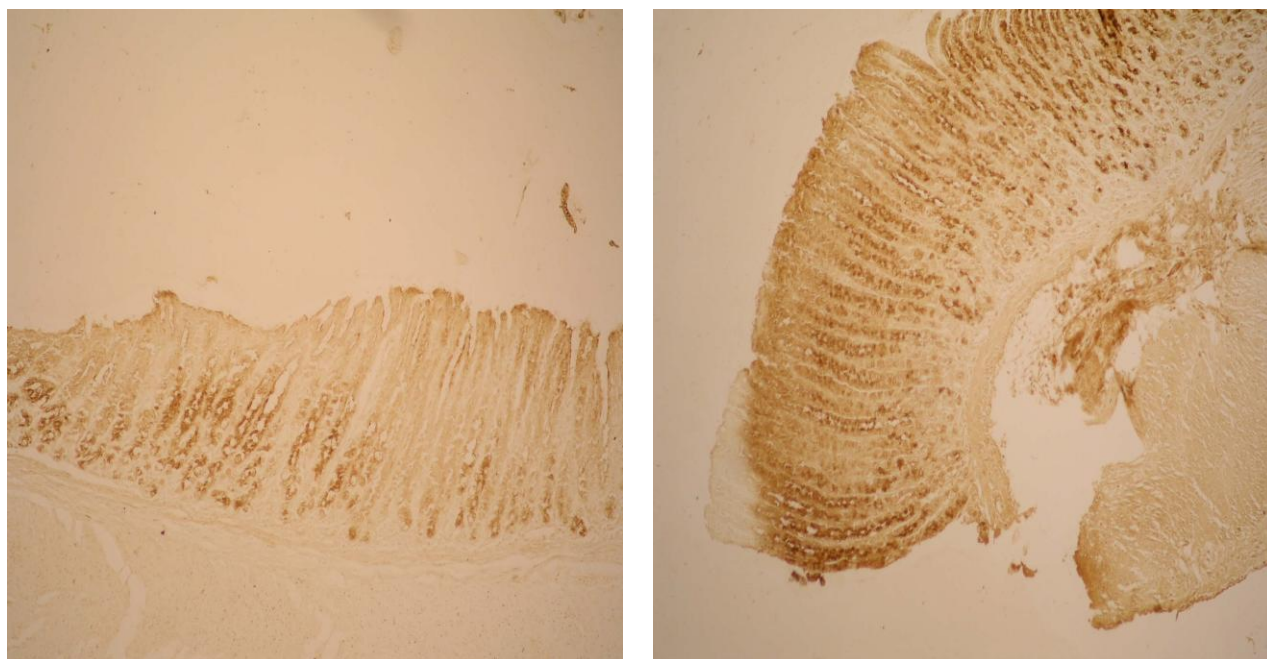
В 3 роділі нашої роботи вже було детально представлені результати по впливу тривалої омепразоліндукованої гіпохлоргідрії шлункового соку на особливості селективної цитотопографії лектиночутливих глікокон'югатів клітин слизової оболонки шлунка. Також показано, що 28-денне пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів блокатором  $H^+K^+$ -АТФази омепразолом призводить до структурно-функціональних змін в шлунку, які супроводжуються дисбактеріозом, причиною якого є тривале зниження секреції гідрохлоридної кислоти [425, 518]. Структурні зміни полягали в тому, що у частини щурів розвивались передракові зміни, а у частини розвивався рак [557, 558]. В результаті структурних перебудов в слизовій оболонці шлунка змінювалась і секреторна функція шлунка [420].

З метою корекції дисбактеріозу, що розвивався в шлунку при зниженій кислотності шлункового соку [448, 559], ми використали мультипробіотики «Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний» концентрований і «Апібакт<sup>®</sup>», які починають діяти одразу після введення, так як на відміну від існуючих ліофілізованих пробіотиків, він містить живу флору у високих концентраціях. При

одночасному введенні омепразолу та мультипробіотиків упродовж 28-днів структурно-функціональні зміни були виражені слабо [421, 500]. В підтвердження отриманих результатів морфологічних досліджень було проведено лектинове гістохімічне дослідження слизової оболонки шлунка щурів, яке показало наступні особливості цитопографії рецепторів використаних лектинів (табл.4.4.,4.5).

Застосування лектиногістохімічних методів досліджень слизової оболонки шлунка дозволить пролити світло на деякі механізми структурних змін слизової оболонки, що виникають на тлі тривалого зниження кислотності шлункового соку, та лікувально-профілактичної дії мультипробіотиків групи «Симбітер» за умов тривалого одночасного введення омепразолу та мультипробіотиків. Варто відмітити, що лектини характеризуються специфічністю зв'язування як зі структурними компонентами нормальної слизової оболонки, так і з глікокон'югатами поверхні плазмалеми трансформованих клітин, що дає можливість локалізувати та охарактеризувати зміни, які виникають при розвитку неопластичних змін [391, 465, 473]. Деякі глікокон'югати ( $\beta$ DGal,  $\alpha$ LFuc) вважаються маркерами малігнізації, тому нами був проведений порівняльний гістохімічний аналіз експресії лектинових рецепторів у слизовій оболонці за умов тривалої гіпергастринемії та введення мультипробіотиків.

Лектиногістохімічні дослідження в групі щурів, яким протягом 28 днів вводили омепразол з «Симбітер® ацидофільний» концентрованим продемонстрували особливість експресії рецепторів лектинів у тварин цієї групи (табл.4.4, рис.4.21). Так виявлена більш інтенсивна експресія NAcDGal специфічного лектину виноградного слимака (HPA) (рис.4.21) та  $\beta$ NAcDGlc/NAcNeu - специфічного лектину WGA на апікальній поверхні і цитоплазмі епітеліоцитів слизової оболонки та у екзокриноцитах залоз (рис.4.22).



А NAcDGle

Б NAcDGle

Рис.4.21. Мікрофотографія лектиногістохімічних змін слизової оболонки шлунка щура при забарвленні лектином виноградного слимака (НРА) :

А –омепразол

Б –сумісне введення омепразолу і «Симбітер® ацидофільний»

У тварин, яким разом з омепразолом вводили «Симбітер® ацидофільний» була знижена афінність лектину PNA до епітеліоцитів слизової оболонки головних і парієтальних glandулоцитів, тобто патерн з'ясування цього лектину наблизений до контрольної групи (рис.4.22, табл.4.4). Як відомо, що в незрілих клітинах лише частина термінальних залишків галактози зв'язані з сіаловою кислотою, тому лектин арахісу (PNA -  $\beta$ DGal) взаємодіє з поверхнею цих клітин. У процесі їх дозрівання відбувається сіалювання поверхневих глікопротеїнів і втрата здатності зв'язувати лектин арахісу. Тому цей лектин є цінним реагентом з високою селективністю до сіалоглікопротеїнів і його можна використовувати для виявлення незрілих клітин [391]. Отже, зниження афінності лектину арахісу

(PNA -  $\beta$ DGal) у мукоцитах свідчить про підвищення ступіню їх диференціації в наслідок дії мультипробіотика.

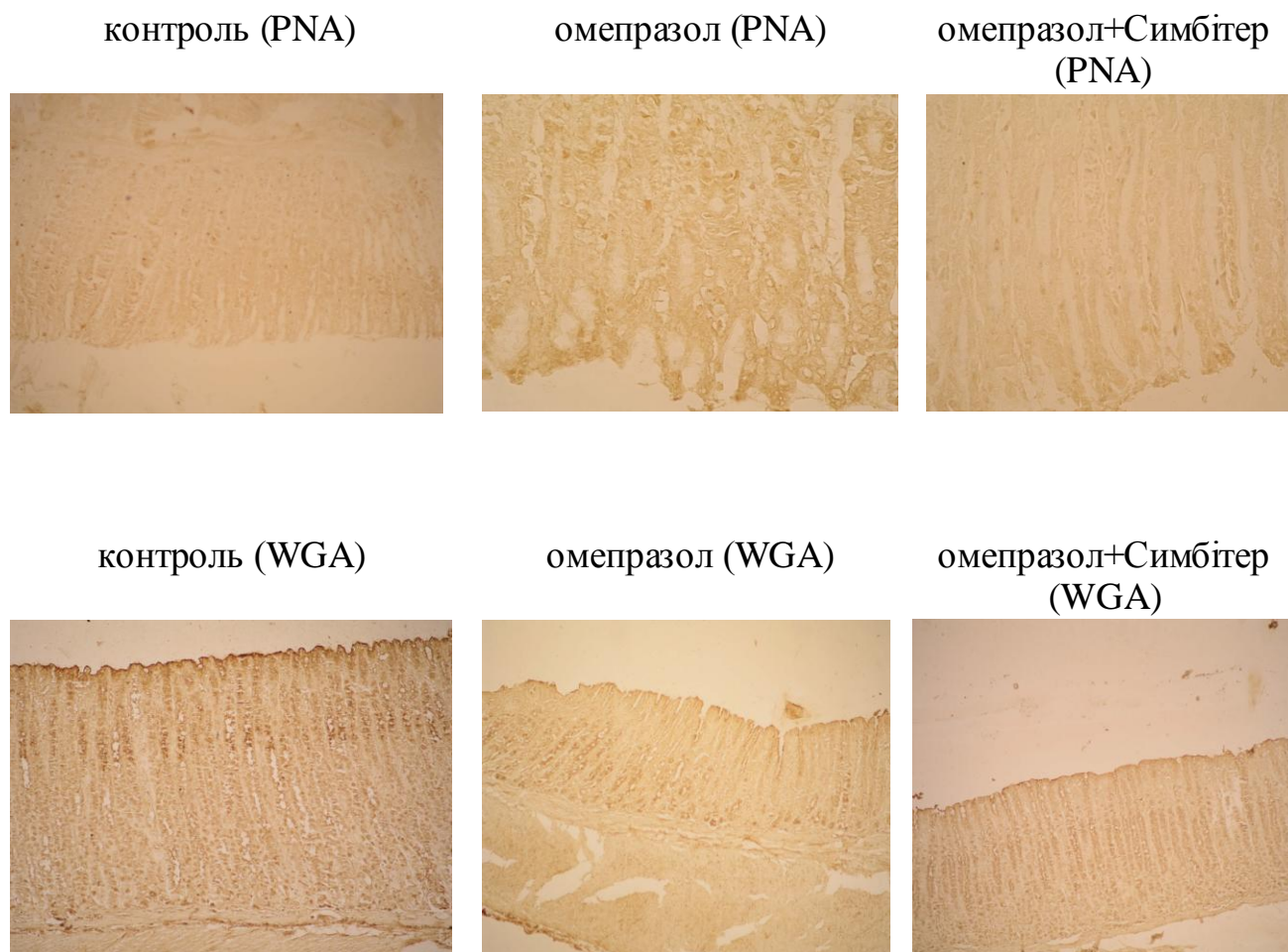
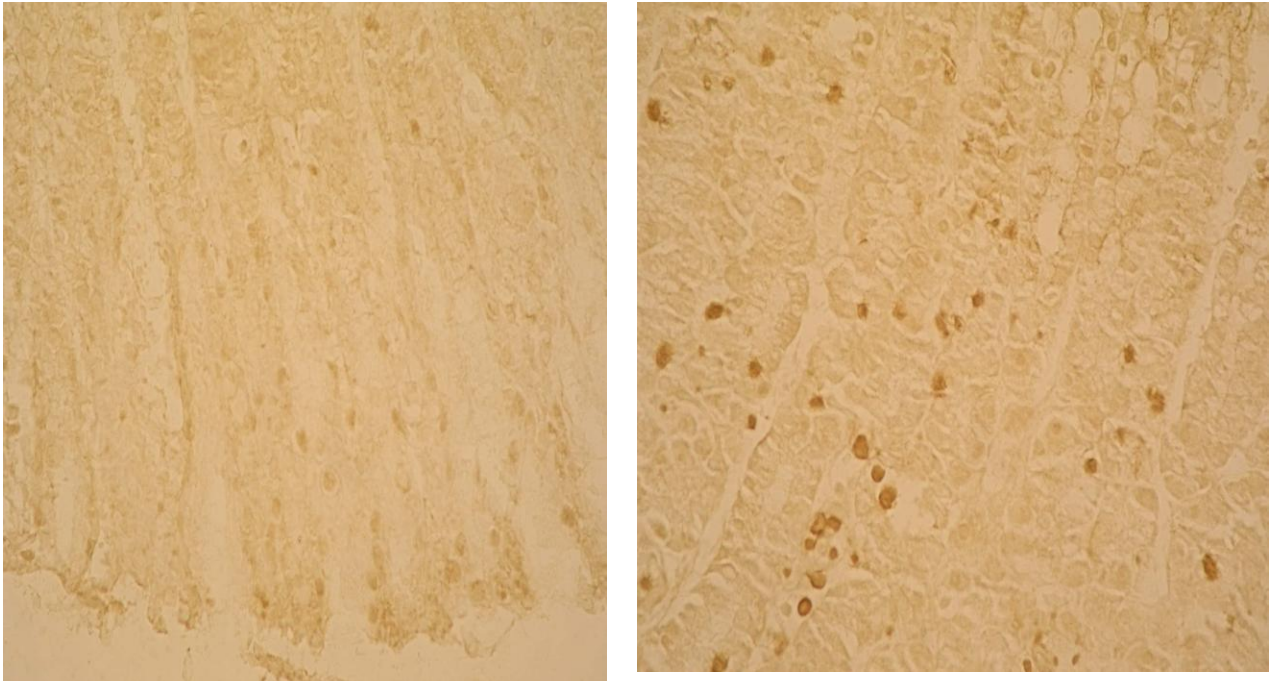


Рис. 4.22. Мікрофотографії слизової оболонки шлунка щурів при забарвленні:  
 PNA – лектинами насіння арахісу PNA, (специфічного до  $\beta$ DGal-  
 $H \rightarrow 3DGalNAcDGal$ ),  
 WGA – лектинами зародку пшениці WGA (специфічного до  $NAcDGle$ )

На поверхні епітеліоцитів слизової оболонки і у ядрах головних екзокриноцитів з'являються рецептори  $\alpha$ LFuc- специфічного лектину LABA.



А

Б

Рис. 5.15. Мікрофотографії слизової оболонки шлунка щурів при забарвленні специфічним лектином LBA:

А – омепразол

Б – сумісне введенням омепразолу і «Симбітер® ацидофільний»

Відбувається інтенсивна сіалізація поверхні епітеліоцитів і парієтальних екзокриноцитів і частково головних екзокриноцитів з локалізацією у ділянці дна залоз. Рецептори лектину рицини звичайної (RCA) задокументовані нами на апікальній мембрані поверхні епітеліоцитів, тобто у складі епітеліально-слизового бар'єру у цитоплазмі головних екзокриноцитів дна залоз, у парієтальних клітинах вивідних проток залоз та у складі шийкових мукоцитів окремих полів залоз. На фоні деструктивних змін залоз, ми констатували цитотопографію рецепторів лектинів у структурних компонентах наближену до тварин контрольної групи. Що може забезпечувати нормалізацію хімічного складу слизово-бікарбонатного бар'єру з появою у його складі  $\alpha$ LFuc. При багатьох захворюваннях спостерігається збільшення фукозилування фізіологічно важливих

глікополімерів. Так відмічена високостатистична достовірна кореляція між ступенем фукозилування  $\alpha$ -антитрипсину та трансферину при гепатоцелюлярній карциномі [464].

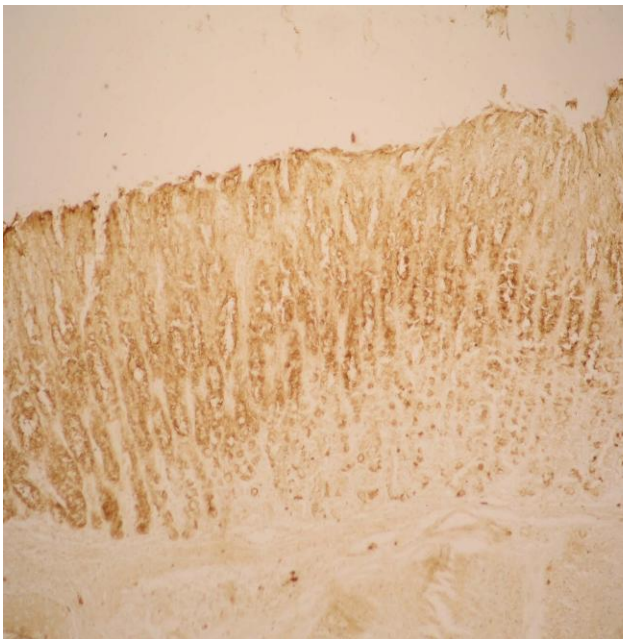
Таблиця 4.4.

Цитотопографію рецепторів лектинів у структурних компонентах шлунка щурів за умов сумісного введення з омепразолу та «Симбітер® ацидофільний» концентрованого

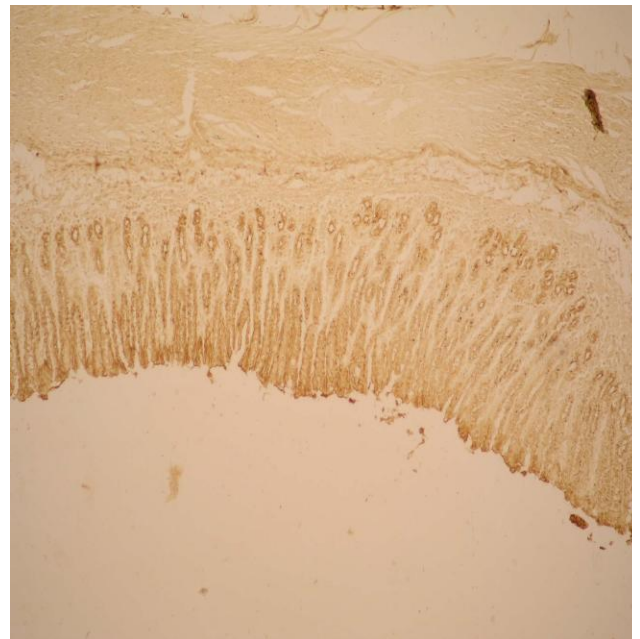
Експериментальні групи	Контроль					Омепразол					Омепразол+ Симбітер						
	ЕП	Залози				ЕП	Залози				ЕП	Залози					
		гк	пк	м	е		гк	пк	м	е		гк	пк	м	е		
Структурні компоненти СОШ Лектини та їх вуглеводна специфічність																	
HPA, (Nac $\alpha$ DGal)	++	-	+	-	-	++	++	++	+-	-	++	++	++	+	+	-	-
PNA, (BDGal)	ГЗ				-	-	++	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-
LABA, ( $\alpha$ LFuc)	ГЗ					ГЗ					++	++	-	-	-	-	
WGA, (NacDGle, NeuNAe)	+	-	++	-	-	++	++	++	++	-	++	++	++	++	+	+	-
SNA, (Neu5Ac/2 $\rightarrow$ Gal)	6	++	-	++	-	-	+	-	-	-	-	++	+	++	+	+	-
SBA, (NacDGal)	ГЗ					+	++	-	-	-	+	ГЗ					
RCA, ( $\beta$ DGal $\triangleright$ $\beta$ DGalNAc)	++	-	++	-	-	++	++	+	+	+	-	++	++	++	++	++	-

Примітка: ЕП - епітеліальна пластинка, гк- головні клітини, пак-парієтальні клітини, е- ендокриноцити, м- мукоцити, ГЗ-гомогенне зв'язування, СОШ- слизова оболонка шлунка.+++ інтенсивне зв'язування (експресія); ++ помірне зв'язування; + слабке зв'язування; - відсутність зв'язування; +- гетерогенність зв'язування.

Аналіз лектиногістохімічних досліджень сумісного 28-денного введення омепразолу та «Апібакту» показав, що рецептори лектинів у слизовій оболонці шлунка мають дещо подібну цитотопографію до таких як у групі тварин, яким вводили разом з омепразолом «Симбітер® ацидофільний», але відмінну від групи щурів, якій вводили лише омепразол (табл.4.4). Так лектин виноградного слимака НРА (рис.4.23), специфічний до NAcDGal проявив афінність до епітеліоцитів слизової оболонки. У залозах найбільш інтенсивна експресія рецепторів цього лектину була у цитоплазмі головних і парієтальних гландулоцитів та на їх поверхні. Дещо меншу експресію рецепторів цього лектину на своїй поверхні виявили мукоцити залоз.

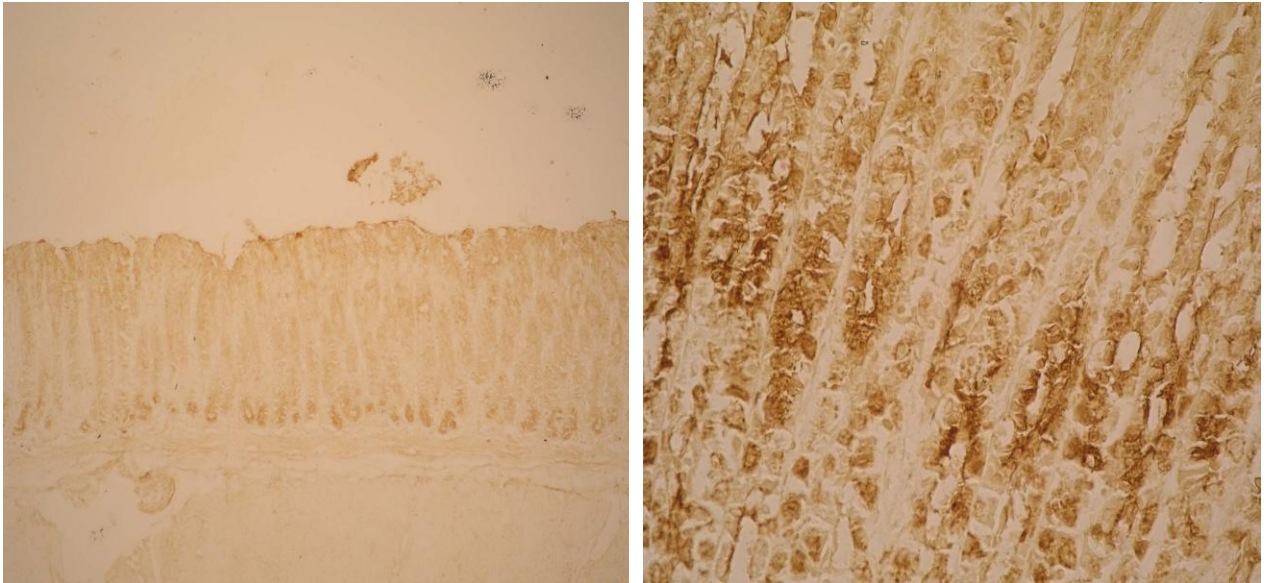


контроль



омепразол+«Апібакт»

Рис.4.23.(А) Мікрофотографія лектиногістохімічних змін слизової оболонки шлунка щура при забарвленні лектином виноградного слимака (НРА)



омепразол

омепразол+«Апібакт»

Рис.4.23. (Б) Мікрофотографія лектиногістохімічних змін слизової оболонки шлунка щура при забарвленні лектином виноградного слимака (НРА)

Висока експресія рецепторів  $\beta$ DGal специфічного лектину PNA залишалася у перинуклеарній зоні і ядрах парієтальних glanduloцитів. Подібну специфічність зв'язування до НРА мав NAcDGle - специфічний лектин WGA. Однак окрім епітеліоцитів слизової оболонки і glanduloцитів лектин WGA виявляв високу афінність до клітинних елементів підслизової основи (можливо ткининних базофілів) кількість яких помітно збільшувалась. WGA - позитивними були нервові волокна та внутрішні еластичні мембрани судин мікроциркуляторного русла.

У групи щурів, яким коректували гіпоацидний стан «Апібактом» (табл.4.5) сіалоспецифічний лектин бузини чорної SNA - виявив значну спорідненість до структурних компонентів епітеліально-слизового бар'єру, рецептори цього лектину діагностовані, як на апікальній поверхні епітеліоцитів слизової оболонки (мікрворсинки) так і у головних glanduloцитах, у ділянці дна залоз та на апікальній поверхні парієтальних

Таблиця 4.5.

Вплив «Апібакту®» на цитотопографію рецепторів лектинів у структурних компонентах шлунка щурів за умов сумісного введення з омепразолом.

Експериментальні групи	Контроль					Омепразол					Омепразол+ Апібакт				
	ЕП	Залози				ЕП	Залози				ЕП	Залози			
		гк	пк	м	е		гк	пк	м	е		гк	пк	м	е
Структурні компоненти СОШ Лектини та їх вуглеводна специфічність															
HPA, (NAcαDGal)	++	-	+	-	-	++	++	++	+-	-	++	++ +	++ +	+	-
PNA, (βDGal)	ГЗ			-	-	++ +	+	+	-	-	-		++ +		-
LABA, (αLFuc)	ГЗ				ГЗ				++	++ +	++ +	-	-		
WGA, (NAcDGle, NeuNAe)	+	-	+	-	-	++ +	++ +	++	++ +	-		++ +	++	+	-
SNA, (Neu5Ac/2→6Gal)	++	-	+	-	-	+	-	-	-	-	++ +	++	+	-	-
SBA, (NAcDGal)	ГЗ				+	++ +	-	-	-	++ +	++	-	-	-	
RCA, (βDGal > βDGalNAc)	++	-	+	-	-	++	+- ++	+	+	-	+	+	++	+	-

Примітка: ЕП - епітеліальна пластинка, гк- головні клітини, пк-парієтальні клітини, е-ендокриноцити, м- мукоцити, ГЗ-гомогенне зв'язування, СОШ-слизова оболонка шлунка.+++ інтенсивне зв'язування (експресія); ++ помірне зв'язування; + слабе зв'язування; - відсутність зв'язування; +- гетерогенність зв'язування.

гланулоцитів. Відмічена інтенсивна експресія рецепторів  $\alpha$ LFuc - специфічного лектину LABA у епітеліюцитах слизової оболонки і гланулоцитах залоз, тобто у структурах що причетні до формування слизово-епітеліального бар'єру.

Отже, мультипробіотики групи "Симбітер " запобігали руйнуванню слизово-бікарбонатного бар'єру в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку та забезпечували нормалізацію його хімічного складу.

#### **4.3.5 Чутливість парієтальних клітин до секретогогів після корекції гіпоацидного стану шлунка мультипробіотиком**

В останні роки все більше уваги привертається проблемі лікування захворювань шлункового тракту, що пов'язані зі зниженою секрецією шлункового соку, у зв'язку із відсутністю ефективних засобів її підвищення. Окрім атрофічного гастриту гіпоацидність шлункового соку може розвиватись на тлі лікування препаратами, що гальмують виділення гідрохлоридної кислоти (HCl), насамперед, інгібіторами протонної помпи [24, 560]. Показами до їх довготривалого застосування є синдром Золінгера-Елісона, гастроєзофагеально рефлюксна хвороба, панкреатит та інші [560–563]. Але, як відомо, тривале зниження кислотої шлункової секреції ініціює зростання концентрації гастрину в крові, який справляє трофічний вплив на слизову оболонку травного тракту та є мітогенним фактором для росту епітеліального шару клітин [48, 62]. Тому тривала гіпергастринемія може стати фактором ризику розвитку раку [22, 403, 488]. Разом з тим існує думка ряду авторів, що збільшення ризику некардіального раку шлунка у пацієнтів з гіпохлоргідрією пов'язане не з тривалою гіпергастринемією, а з надмірним бактеріальним ростом [445]. Показано, що надмірний ріст

умовно-патогенної флори призводить до утворення нітриту з нітратів їжі і слини з послідуною продукцією мутагенних і канцерогенних N-нітрозосполук [564] та іншого відомого канцерогену - ацетальдегіду [565]. Крім того показано взаємозв'язок між бактеріальним інфікуванням шлунку та секрецією гастрину [566]. Встановлено, що колонізація шлунку *Helicobacter pylori* запускає імунну відповідь Т-хелперів першого порядку (Th-1) [81] з вивільненням головного Th-1 цитокіну – інтерферону-гамма (ІФН- $\gamma$ ), який стимулює секрецію гастрину [222].

В проведених нами раніше дослідженнях було показано, що 28 денне введення омепразолу, призводить до гіпергастринемії, внаслідок якої відбуваються морфологічні зміни в слизовій шлунка та змінюється базальна шлункова секреція [425, 557]. Враховуючи те, що тривале зниження секреції гідрохлоридної кислоти шлунка, окрім явища гіпергастринемії призводить до мікробіоценозних порушень і надмірного росту умовно-патогенної флори [54, 445, 453], ми також провели серію досліджень, де наслідки гіпохлоргідрії (дисбактеріоз та гіпергастринемію) корегували мультипробіотиком та отримали позитивні зміни: нормалізацію кількісного і якісного складу мікрофлори та помірне зниження рівня гастрину в крові [453, 567–569].

Разом з тим, харчова або стимульована секреторна активність шлунка після тривалої гіпоацидності шлункового соку вивчена недостатньо. Адже кожен із стандартних стимуляторів (карбахолін, гастрин, гістамін) діє специфічно до кожної фази шлункової секреції [423, 424].

Тому метою даної роботи було дослідити чутливість секреторних клітин шлунка до стимуляторів шлункової секреції після відміни омепразолу та після сумісного тривалого введення омепразолу і мультипробіотика.

Аналіз отриманих результатів досліджень показав, що у щурів контрольної групи через добу після 28-денного введення фізрозчину дебіт базальної шлункової секреції становив  $30,4 \pm 10,2$  мкмоль/120 хв. В

подальшому базальний рівень шлункової секреції як у щурів контрольної групи, так і дослідної ми приймали за 100%. Після введення карбахоліну тваринам контрольної групи спостерігалось зростання секреції гідрохлоридної кислоти до  $74,9 \pm 18,1$  мкмоль/120 хв, що відповідало збільшенню на  $162 \pm 79,7\%$  ( $p < 0,001$ ).

Базальна шлункова секреція у щурів, яким протягом 28 днів вводили блокатор  $H^+ - K^+ - AT$ Фази омепразол мала широкий діапазон розкиду даних, тому щурів було поділено на дві групи з низьким та високим рівнем секреторної активності. Розподіл був проведений аналогічно попереднім нашим дослідженням, де отримані результати були проаналізовані за допомогою морфологічних та електронно-мікроскопічних методів та відповідно отриманим даним поділено на групи. Так, у групи щурів з високою секреторною активністю в слизовій шунка спостерігалась гіперплазія ECL клітин, а у тварин з низькими показниками секреції були виявлені клітини епітелію з ознаками кератинізації та порушенням ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, що може свідчити про ознаки метаплазії. [419, 425, 458, 557] .

Отримані в нашому експерименті результати базальної гідрохлоридної кислоти в шлунку щурів після 28-денного введення омепразолу у однієї групи показали зниження дебіту шлункової секреції на  $52 \pm 3\%$  до  $14,5 \pm 6,8$  мкмоль/120 хв. ( $p < 0,01$ ), тоді як у іншій групі спостерігалось посилення інтенсивності базальної шлункової секреції до  $61,2 \pm 9,6$  мкмоль/120 хв. ( $p < 0,01$ ), що у порівнянні з контролем складало  $102 \pm 7,4\%$ . Стимуляція секреції карбахоліном у щурів з низьким базальним рівнем призводила до зростання дебіту гідрохлоридної на  $101,6 \pm 75,2\%$ , а саме до  $27,9 \pm 7,1$  мкмоль/120 хв ( $p < 0,01$ ), а у групі з високим базальним рівнем до  $180,6 \pm 26,4$  мкмоль/120 хв (рис.4.24), або на  $199,4 \pm 55,9\%$  ( $p < 0,001$ ).

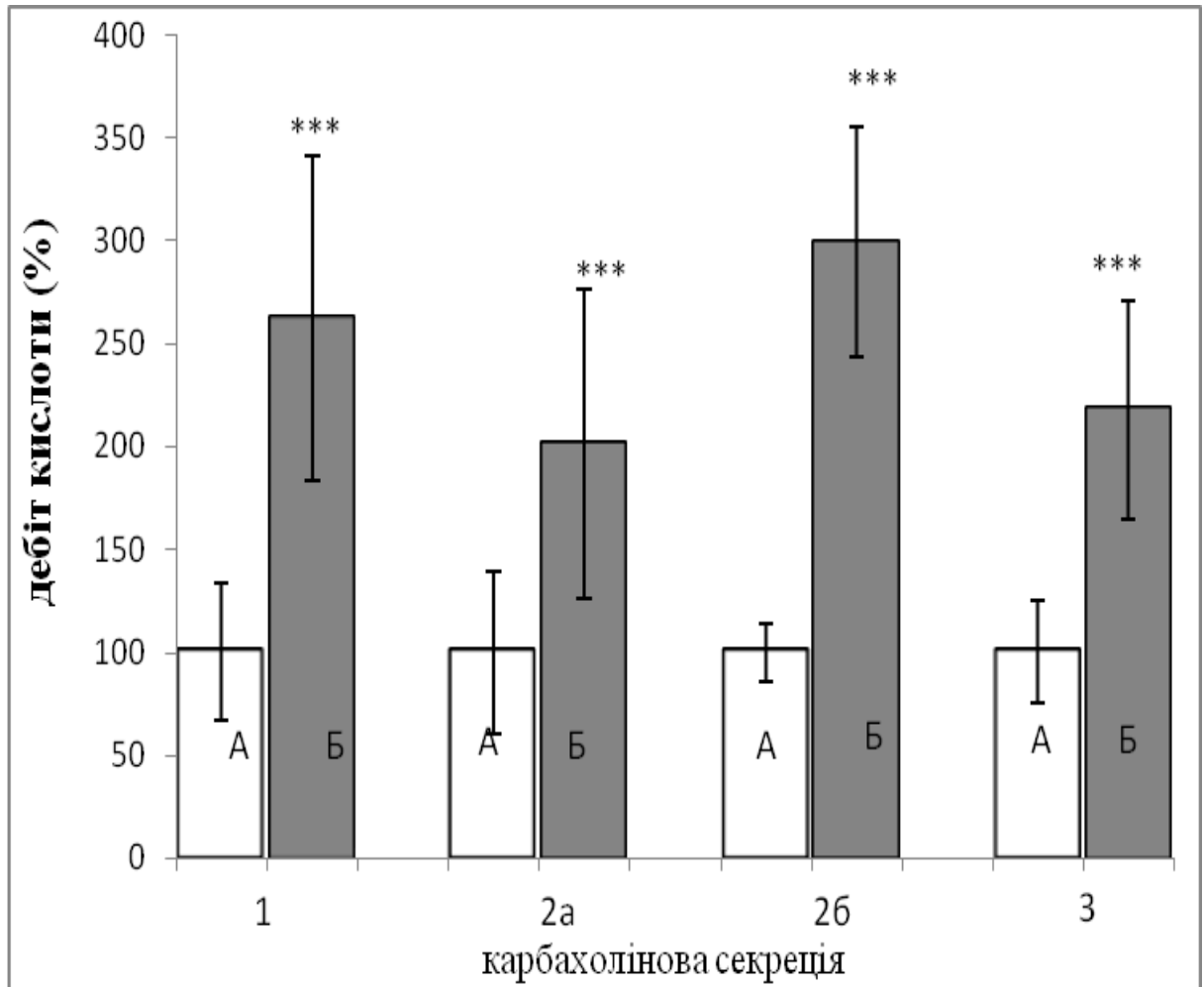


Рис.4.24. Базальна (А) та стимульована (Б) карбахоліном (10 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10),

2а – з низьким базальним рівнем секреції після омепразолу (n=8),

2б – з високим базальним рівнем секреції після омепразолу (n=10),

3-омепразол +Симбітер (n=8).

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$  відносно контролю.

Проте, порівнявши ефекти секреторної відповіді шлунка на карбахолін в обох дослідних групах з результатами отриманими у тварин контрольної групи ми заключили, що у відсотковому співвідношенні відповідь на стимуляцію карбахоліном між групами не мала статистично значущої різниці, тобто введення протягом 28 днів омепразолу не змінювало

чутливість секреторних клітин до стимулятора. Хоча при цьому слід зазначити, що рівень гастрину в сироватці крові після 28 денного введення блокатору  $H^+-K^+-ATP$ Фази у щурів як з високим, так і з низьким рівнем базальної секреції збільшувався в 2,9 раз ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем (рис.4.25), тобто спостерігалось явище гіпергастринемії.

Як було сказано вище, зростанню рівню гастрину в крові щурів з тривалою гіпоацидністю шлукowego соку сприяє колонізація шлунка патогенною флорою. В нашому експерименті для запобігання зміни мікробіоценозу шлунка щурам одночасно з введенням омепразолу протягом 28 днів вводили мультипробіотик «Симбітер<sup>®</sup> ацидофільний» концентрований. Отже, отримані результати шлункової секреції у цієї групи тварин показали, що як за рівнем базальної секреторної активності ( $49 \pm 12,1$  мкмоль/120 хв), так і ефектом відповіді на стимулятор карбахолін ( $108,3 \pm 36,6$  мкмоль/120 хв) не було статистично значущої різниці у порівнянні з контрольною групою тварин.

Слід при цьому зазначити, що мультипробіотик знижував концентрацію гастрину в сироватці крові, але не повертав її до норми (рис.4.25).

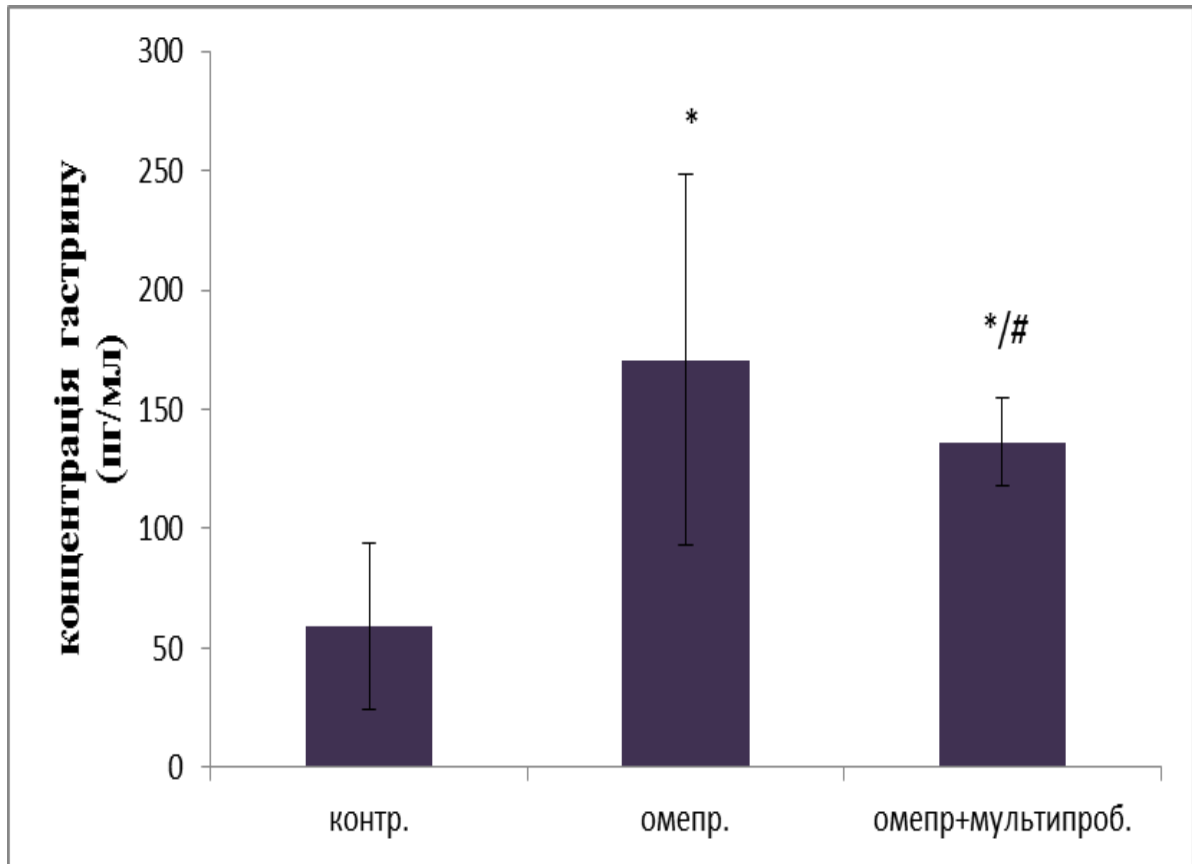


Рис.4.25. Концентрація гастрину в сироватці крові щурів після 28-ми денного пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти в шлунку омепразолом і після одночасного введення омепразолу та мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» ( $M \pm SD$ ):

\* -  $p < 0,05$ , \*\*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з контролем; # -  $p < 0,05$  у порівнянні з групою щурів, яким вводили один омепразол.

Дослідженнями McColl K. було показано, що найбільш чутливою до гіпоацидних станів є шлункова секреція стимульована пентагастрином [570]. Тому ми в своїх експериментах вирішили також дослідити секреторну відповідь на пентагастрин після 28-денної гіпохлоргідрії.

В результаті 28-денного введення омепразолу, аналогічно попередній серії, отримано дві групи щурів з високим та низьким рівнем базальної шлункової секреції ( $34,8 \pm 10,3$  мкмоль/120 хв та  $135,6 \pm 43$  мкмоль/120 хв

відповідно). Стимуляція шлункової секреції пентагастрином призводила до зростання дебіту гідрохлоридної кислоти на  $59,4 \pm 24,4\%$  ( $p < 0,01$ ) у щурів першої групи та на  $75,8 \pm 48,4\%$  ( $p < 0,01$ ) у щурів другої групи. Так як не було статистично значущої різниці в ефектах дії стимулятора в обох групах, тому ми результати об'єднали і отримали середній ефект  $67,7 \pm 38,2\%$  ( $p < 0,01$ ). Порівнюючи результати дослідних двох груп з результатами отриманими на тваринах контрольної групи, де інтенсивність соковиділення після введення стимулятора зростала на  $246,4 \pm 110\%$  ( $p < 0,001$ ), ми відмітили, що відповідь на пентагастрин була на  $178,7 \pm 25,4\%$  ( $p < 0,01$ ) нижчою. Подібну відповідь на пентагастрин після тривалого пригнічення секреції  $H_2$ -блокатором ранітідином спостерігали і інші дослідники [571]. Враховуючи, що доза пентагастрина залишалася незмінною у всіх експериментах, побачений нами ефект можна пояснити падінням чутливості парієтальних клітин до гастрину у щурів після тривалої гіпохлоргідрії (рис.4.26). Так, в дослідженнях Ramus та Williamson спостерігалась подібна картина зниженої відповіді на пентагастрин на фоні високого рівня гастрину в крові після селективної ваготомії, яка суттєво знижує секрецію  $HCl$  [427].

Отже, незалежно від природи гіпохлоргідрії ( $H_2$ -блокатори, блокатори  $H^+ - K^+ - AT$ Фази, ваготомія) секреція  $HCl$ , стимульована пентагастрином, знижується.

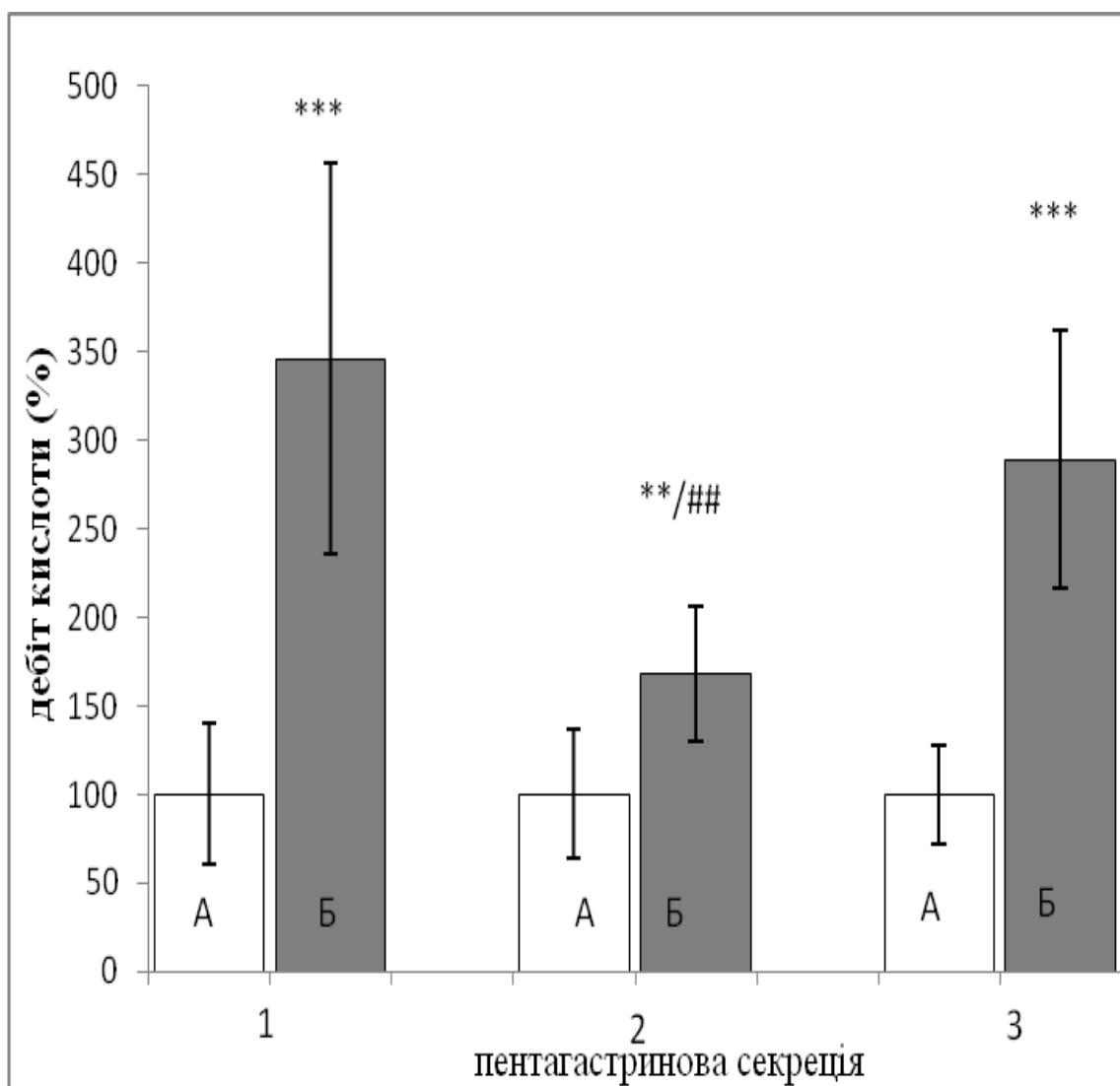


Рис.4.26. Базальна (А) та стимульована (Б) пентагастрином (26 мкг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10),

2 – омепразол (n=16),

3- омепразол +Симбітер (n=10).

Примітка: \*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\* -  $p < 0,01$  порівняно з контролем, ## -  $p < 0,01$  порівняно з дією стимулятора в контрольній групі.

В групі тварин, які одночасно з введенням омепразолу отримували мультипробіотик «Симбітер ацидофільний» концентрований можна побачити, що мультипробіотик повністю не усував явище гіпергастринемії

(рис.4.25), хоча показники дебіту базальної і стимульованої пентагастрином шлункової секреції статистично значуще не відрізнялися від контролю (рис.4.26), тобто він запобігав структурно-функціональним змінам до яких призводить гіпергастринемія, викликана 28-денною гіпохлоргідрією.

Наступним задіяним нами в експерименті стимулятором шлункової секреції був гістамін. Як відомо, гастрин стимулює секрецію HCl діючи як безпосередньо на G-рецептори на парієтальних клітинах, так і за участю гістаміна.

Викид гастрину в кров стимулює ECL-клітини, виділяється гістамін, який в свою чергу зв'язується з  $H_2$  рецепторами парієтальних клітин, в результаті чого відбувається секреція HCl. Тобто, ECL-клітини виступають посередниками між G-клітинами і парієтальними клітинами [95].

Тому гіпергастринемія, яка виникає внаслідок тривалого зниження кислої шлункової секреції омепразолом (рис.4.25), призводить до посиленого синтезу гістаміну ECL-клітинами, що, в свою чергу, може причиною виникнення патологічних змін ECL і парієтальних клітин [60, 415]. Як зміниться внаслідок цього секреція гідрохлоридної кислоти шлунком після екзогенно введеного гістаміну стало завданням наступної серії експериментів.

Отже, в групі щурів, яка слугувала контролем, дебіт базальної секреції гідрохлоридної кислоти складав  $25,4 \pm 11,1$  мкмоль/120 хв. Після введення гістаміну секреція кислоти зростала на  $203 \pm 101\%$  (до  $69,4 \pm 15,6$  мкмоль/120 хв, ( $p < 0,001$ )).

В результаті гіпохлоргідрії, викликаної 28 денним введенням омепразолу ми отримали дві групи тварин з підвищеною ( $75,1 \pm 12,9$  мкмоль/120 хв) та зниженою базальною шлунковою секрецією ( $18,2 \pm 7,4$  мкмоль/120 хв). Введення гістаміну посилювало інтенсивність соковиділення у групи з низькою шлунковою секрецією на  $137 \pm 105\%$  та на  $92 \pm 31,2\%$  у групі з підвищеною. Так як між ефектами відповіді на стимулятор між групами не

було статистично значущої різниці, то ми їх об'єднали в одну. Таким чином, в середньому у щурів обох дослідних груп гістамін стимулював соковиділення на  $110,7 \pm 63,4\%$  ( $p < 0,001$ ). Але порівнявши ефект впливу стимулятора гістаміна у щурів дослідної групи з контрольною групою тварин можна побачити, що секреторна відповідь на гістамін у щурів після тривалого введення омепразолу була на  $92,3 \pm 17\%$  слабшою (рис.4.27).

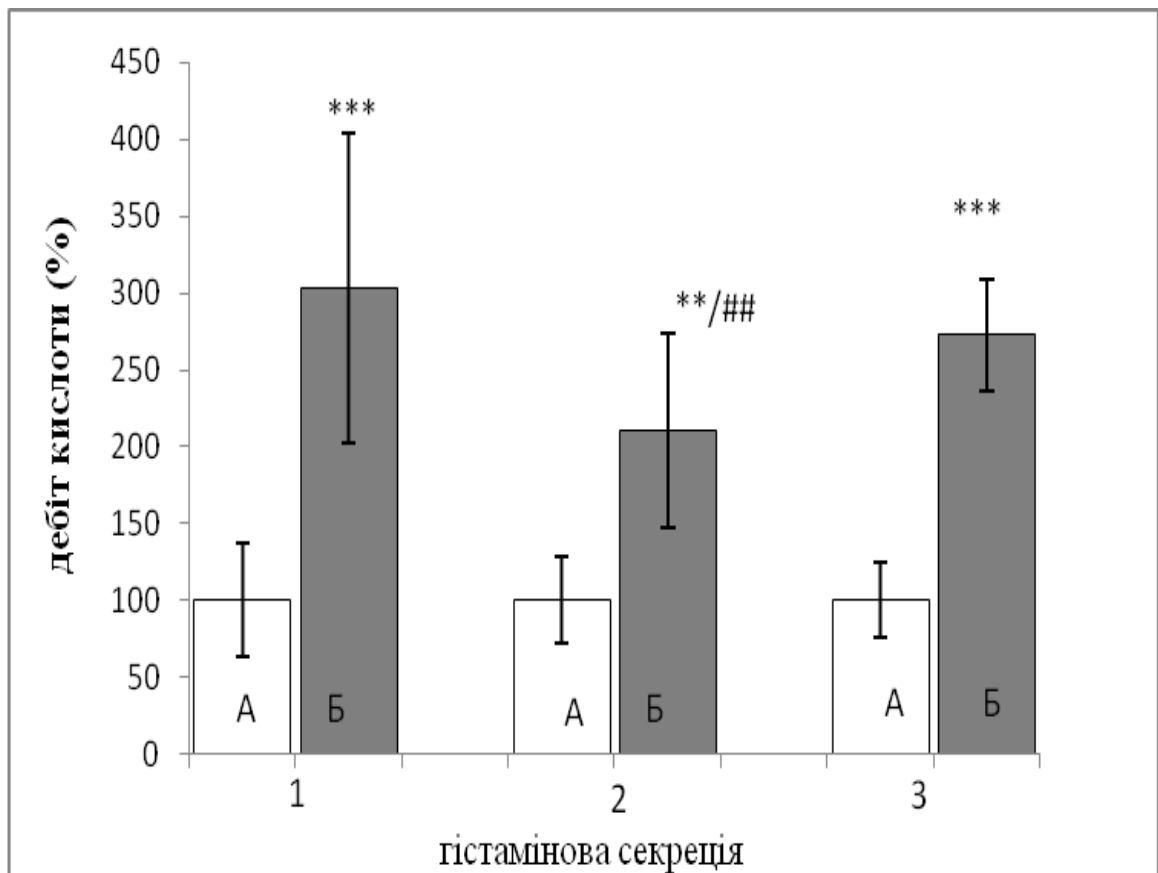


Рис.4.27. Базальна (А) та стимульована (Б) гістаміном (3 мг/кг) шлункова секреція гідрохлоридної кислоти ( $M \pm SD$ ):

1 – контроль (n=10),

2 – омепразол (n=17),

3- омепразол +Симбітер (n=10),

Примітки:\*\*\* -  $p < 0,001$ , \*\* -  $p < 0,01$  порівняно з контролем, ## -  $p < 0,01$  порівняно з дією стимулятора в контрольній групі

Аналізуючи отримані результати ми провели аналогію з результатами інших вчених, які також спостерігали зниження секреторної відповіді шлунка на стимулятори на тлі високого рівня гастрину після ваготомії [427, 572]. Так, James W. Freston та співавтори, показали, що рівні гастрину в крові після лікування омепразолом подібні до тих, які виникають після шлункової ваготомії [572]. В дослідженнях показано, що при гіпергастринемії, навіть введення максимальної дози гістаміна не спричиняло значного збільшення виділення кислоти. Таким чином, долати наслідки тривалої гіпоацидності, насамперед, потрібно попереджаючи зростання рівня гастрину, який може зростати при дисбіозі, для чого ми і використали в нашому експерименті «Симбітер® ацидофільний» концентрований. Отже, у групи щурів, які одночасно з омепразолом упродовж 28 днів отримували мультипробіотик показники базальної та стимульованої гістаміном шлункової секреції статистично значуще не відрізнялись від контролю (рис.4.27), хоча концентрація гастрину повністю не поверталася до норми (рис.4.25).

Отриману тенденцію до нормалізації досліджуваних показників шлункової секреції у щурів, які разом з омепразолом одержували «Симбітер® ацидофільний» концентрований, можна пояснити дією коротколанцюгових жирних кислот, які є головними кінцевими продуктами ферментації лактобактеріями та біфідумбактеріями нерозщеплюваних полісахаридів та харчових волокон у товстій кишці. Деякі з них (оцтова і пропіонова кислоти) викликають гальмування шлункової секреції шляхом пригнічення тонічної активності блукаючих нервів. Також позитивний вплив мультипробіотика на секреторну функцію шлунка, як показника стану парієтальних клітин, є результатом нормалізації якісного та кількісного складу мікрофлори шлунка, зниження рівня ІФН- $\gamma$  [316, 573], який робить певний внесок у розвиток гіпергастринемії, та через активацію PPAR $\gamma$ , яку

викликають певні штами мікроорганізмів [574], що входять до складу «Симбітеру® ацидофільного» концентрованого.

#### **4.4 Вплив агоністів ядерних $\gamma$ -рецепторів активаторів проліферації пероксисом (PPAR $\gamma$ ) на функціональні зміни в секреторній функції шлунка, викликані тривалою гіпоацидністю**

##### **4.4.1 Вплив піоглітазону на секреторну функцію шлунка за умов 28-денної блокади $H^+$ - $K^+$ -АТФази омепразолом**

Зважаючи на те, за умов тривалого пригнічення шлункової секреції, гастрин справляє трофічний вплив на слизову оболонку шлунка, ми припустили, що застосування речовин, які впливають на рецептори, що задіяні в процесах диференціації клітин дасть нам змогу запобігти негативним наслідкам до яких призводить тривала гіпохлоргідрія шлункового соку.

Отже, подальші наші дослідження були направлені на вивчення впливу на секрецію гідрохлоридної кислоти в шлунку, як показника структурно-функціональної цілісності парієтальних клітин, речовин, що викликають клітинну диференціацію та апоптоз.

До таких речовин належить піоглітазон, ліганд до ядерних рецепторів типу гамма активаторів проліферації пероксисом (PPAR $\gamma$ ), які належать до активованих лігандами внутрішньоклітинних транскрипційних факторів [414, 575–577]. Підродина PPAR складається з трьох членів, а саме PPAR $\alpha$  (NR1C1), PPAR $\beta$  (також відомий як  $\theta$ ) (NR1C2), і PPAR  $\gamma$  (NR1C3) з високим ступенем консервативної послідовності. Всі три PPARs в людини і миші, кодуються окремими генами, які знаходяться на різних хромосомах [578, 579]. У ядрі PPARs існують як гетеродимери з ретиноїд X рецептором– $\alpha$

зв'язується з ДНК молекулами корепрессора PPARs утворюють гетеродімер з ретиноїдом X рецептора (RXR) і зв'язуються зі специфічними ДНК-последовностями, розташованими над генами, які відповідають за проліферацію пероксисом, взаємодіють з коактиваторами, в тому числі SRC-1 сімейства, CBP/p300 або TRAP лігандо залежним шляхом. Такі різні комбінації факторів транскрипції з коактиваторами активують лише певний набір промоутерів таргентних генів.

Він здатен знижувати інсулінорезистентність, збільшуючи витрати інсулінзалежної глюкози та зменшує викид глюкози з печінки. Незважаючи на те, що він являє собою головний препарат для лікування діабету другого типу, наявні дослідження, які демонструють, що він може впливати на розміри пухлин товстої кишки. Нормальна слизова оболонка та пухлини товстої кишки експресують велику кількість PPAR $\gamma$ , і ліганди до цих рецепторів можуть індукувати зміни в експресії генів та припинити ріст великої кількості пухлин різних ліній за допомогою (бета-катеніну, ключового регулятора клітинної адгезії [580, 581] . Що ще більш важливо, піоглітазон підвищує чутливість ракових клітин до хіміотерапії. Експериментально було показано, що новий механізм дії піоглітазону пов'язаний з пригніченням EGFR (епідермального фактора росту) ракових клітин, впливати на проліферацію і міграцію ракових клітинних в шлунку шляхом пригнічення експресії TERT і ENAH, зменшувати хімічну стійкість, що забезпечує нову стратегію для лікування раку [582, 583].

Хоча PPAR $\gamma$  грають важливу роль в ліпідному обміні і гомеостазі глюкози, але останнім часом вони були визнані, як регулятори запальних реакцій [584]. В дослідженнях зазначається, що ліганди до цих рецепторів пригнічують активацію макрофагів і продукцію запальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , Іл-6 та Іл-1 $\beta$ ).

В літературі зазначено, що за рівнем експресії PPAR, наступними за адипоцитами йдуть епітеліальні клітини слизової оболонки товстої кишки

[585]. Було показано, що ліганди PPAR $\gamma$  є супресорами бета-катеніну, і ефекти, які спостерігаються при використанні піоглітазону, на думку переважної більшості авторів, викликані активацією апоптозу та клітинної диференціації [586]. Згідно даних Lu J. , 2005, піоглітазон здатен відновлювати епітелій товстого кишечника на ранніх стадіях канцерогенезу. Однак згідно даних інших авторів, піоглітазон здатен швидше уповільнити розвиток пухлини, а ніж попередити її утворення [581] .

Разом з тим відомо, що активація рецепторів PPAR $\gamma$  призводить до накопичення ліпідів в адипоцитах в формі тригліцеридів (ТГ), стимулюють диференціацію адипоцитів та пероксисомальну проліферацію у печінці [587]. Ядерний рецептор PPAR $\gamma$ , активується при зв'язуванні ліпідів і має важливе значення для обміну і зберігання ліпідів, адіпогенезу, чутливості до інсуліну. В нормі ліпіди мають протизапальні властивості, оскільки виявляються лігандами Liver X receptors (LXRs) та PPAR, активація цих рецепторів інгібує експресію запальних генів у макрофагах та адипоцитах [588]. Так, активація PPAR $\gamma$  індукує експресію багатьох генів ліпогенезу і супроводжується інгібуванням ліполізу [589]. Регулятором метаболічної функції мітохондрій і гліколітичного метаболізму виступає коактиватор ядерного рецептора - коактиватор-1 PPAR- $\gamma$  (також відомий як PGC-1 $\alpha$ ). PGC-1 $\alpha$  належить ключова роль в трансдукції і інтеграції фізіологічних сигналів, що регулюють обмін речовин. Він активує ряд генів, відповідальних за поглинання і окислення жирних кислот, а також за окисне фосфорілювання та впливає на митохондріальний біогенез. Дефіцит PGC-1 $\alpha$  у гепатоцитах веде до зниження активності комплексів респіраторної ланки у мітохондріях та викликає зміни ліпідного обміну, а також впливає на використання жирних кислот [590, 591] . Так, виявлено, що PPAR- $\gamma$  агоністи підвищують вміст адипонектину, зниження якого погіршує чутливість до інсуліну [592–594].

В результаті проведених нами досліджень встановлено, що 28-денне введення омепразолу призводило до зростання базальної секреції кислоти на 283,7% ( $p < 0,01$ ) (рис.4.28). Введення протягом 28 днів піоглітазону

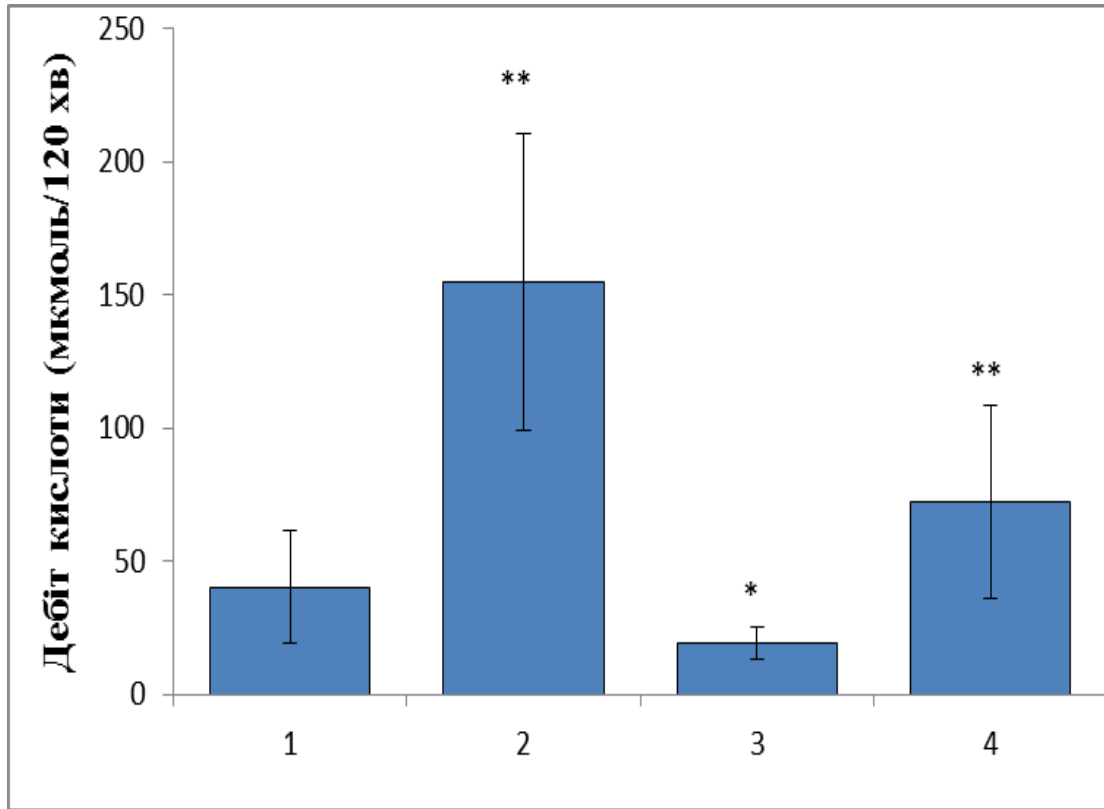


Рис 4.28. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28-денного ізольованого введення омепразолу (14мг/кг) та комбінованого введення омепразолу та піоглітазону (30 мг/кг), ( $M \pm SD$ ):

1-контроль,  $n=26$ ;

2-омепразол,  $n=6$ ;

3-піоглітазон,  $n=8$ ;

4-піоглітазон+омепразол,  $n=10$ ;

Примітка: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  відносно контролю

пригнічувало кислу шлункову секрецію у щурів з  $40,4 \pm 21$  мкмоль/120хв до  $19,5 \pm 5,9$  мкмоль/120хв, тобто на 53,4% ( $p < 0,05$ ). Одночасне введення піоглітазону з омепразолом протягом 28 днів викликало збільшення дебіту

кислоти до  $72,3 \pm 36,2$  мкмоль/120 хв, або на 79,0% (рис.4.28), але цей ефект був менший у 3,6 раз порівняно з ефектом зумовленим введенням лише одного омепразолу. Так як секреція кислоти в шлунку залежить від маси парієтальних клітин, ми дійшли висновку, що за умов одночасного введення піоглітазону та омепразолу явище гіперплазії було менш вираженим або відсутнім. При цьому слід зазначити, що концентрація гастрину в сироватці крові щурів у яких було поєднане введення омепразолу з піоглітазоном залишалась на високому рівні (рис.4.29).

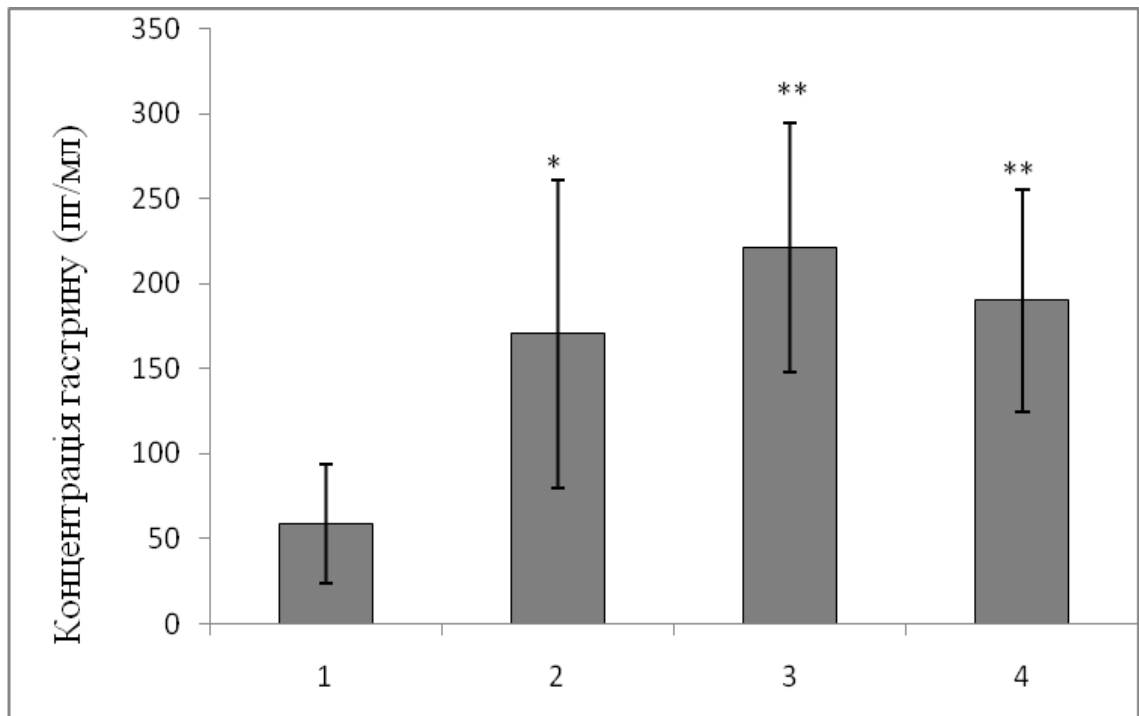


Рис.4. 29. Концентрація гастрину в сироватці крові, ( $M \pm SD$ ):

1- контроль, n=10,

2- омепразол, n=10,

3- омепразол + піоглітазон, n=10,

4- омепразол + меланін, n=10 ;

Примітки: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  у порівнянні з контролем

Нами вперше було продемонстровано, що ліганд PPAR $\gamma$  піоглітазон здатен запобігти гіпертрофії слизової оболонки шлунку у щурів, оскільки базальна секреція кислоти у щурів після одночасного уведення омепразолу та піоглітазону була менше порівняно із щурами, яким здійснювали ін'єкції тільки омепразолу. Ми припустили, що це пов'язано із властивостями піоглітазону до посилення диференціювання клітин. Такий висновок співпадає з роботами інших дослідників. Зокрема, показано, що PPAR $\gamma$ , в умовах, як *in vitro* так і *in vivo* індукує термінальну диференціацію людських первинних клітин ліпосаркоми, що характеризується накопиченням внутрішньоклітинного ліпідного компоненту та індукцією характерних для адипоцитів генів [595, 596].

У хворих на рак молочної залози, ліганд активації даного рецептора є причиною масованого накопичення ліпідів і змін у експресії генів епітелію грудних залоз, пов'язаних із переходом до більш диференційованих, і відповідно, менш злоякісних форм пухлин [597]. У клітинних лініях раку підшлункової залози, PPAR $\gamma$  агоністи регулюють появу декількох маркерів диференціації, таких як пухлино-ембріонального антигену, E-кадгеріну і лужної фосфатази [597].

Наші дані дозволяють зробити висновок, що компенсаторний вплив піоглітазону на рівень шлункової секреції кислоти може вказувати на уповільнення процесу гіпертрофії слизової оболонки, викликаній гіпергастринемією.

#### **4.4.2 Вплив меланіну на виразкоутворення та секреторну функцію шлунка за умов 28-денної блокади H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази омепразолом**

Іншими агоністами PPAR $\gamma$  є природні полімери фенольних сполук (поліфеноли), до яких належать меланіни [598, 599]. Експериментальними

та епідеміологічними і дослідженнями переконливо показана протизапальна активність природних поліфенольних сполук, одними із представників яких є пігменти меланіни. В наших дослідженнях ми використали меланін, продукт життєдіяльності чорних дріжджів *Nadsoniella nigra variant hesuelica*, висіяних з вертикальних скель острова Галіндез (Українська Антарктична станція академік Вернадський).

Роботою проведеною в нашій лабораторії експериментально було доведено, що блокатор PPAR $\gamma$  GW9662 усуває захисну дію меланіну на утворення виразок та масивних крововиливів в слизовій оболонці шлунка у щурів, підданих дії стресу, що є підтвердженням того, що цитопротективні властивості меланіну зумовлені стимуляцією PPAR $\gamma$  [559]. В досліді показано, що ізольоване введення щурам блокатора PPAR $\gamma$  GW9662 на фоні дії стресу статистично достовірно не змінювало площу виразок та крововиливів. Проте при одночасному застосуванні меланіну з блокатором PPAR $\gamma$  GW9662 спостерігали значне зменшення утворення крововиливів та виразок в шлунку [559]. Нами також було показано, що протективна дія меланіну в шлунковому виразкоутворенні повністю, або частково зумовлена через механізм активації віділення NO [600]. Так, в проведеному експерименті, у щурів контрольної групи в слизовій оболонці шлунка не було виявлено уражень. У слизовій оболонці шлунка групи щурів, що підлягали дії 24-х годинного стресу, зареєстрована значна ураженість, що проявилась в появі виразок ( $0,83 \pm 0,23$  на один шлунок), ерозій ( $2,43 \pm 0,51$  на один шлунок) та масивних крововиливів ( $6,12 \pm 0,76$  на один шлунок) (рис.4.30.).

Меланін на 100% захищав слизову оболонку шлунка від виразок, викликаних стресом. Кількість ерозій він зменшував на 72,4%, а кількість масивних крововиливів – на 90,2%.

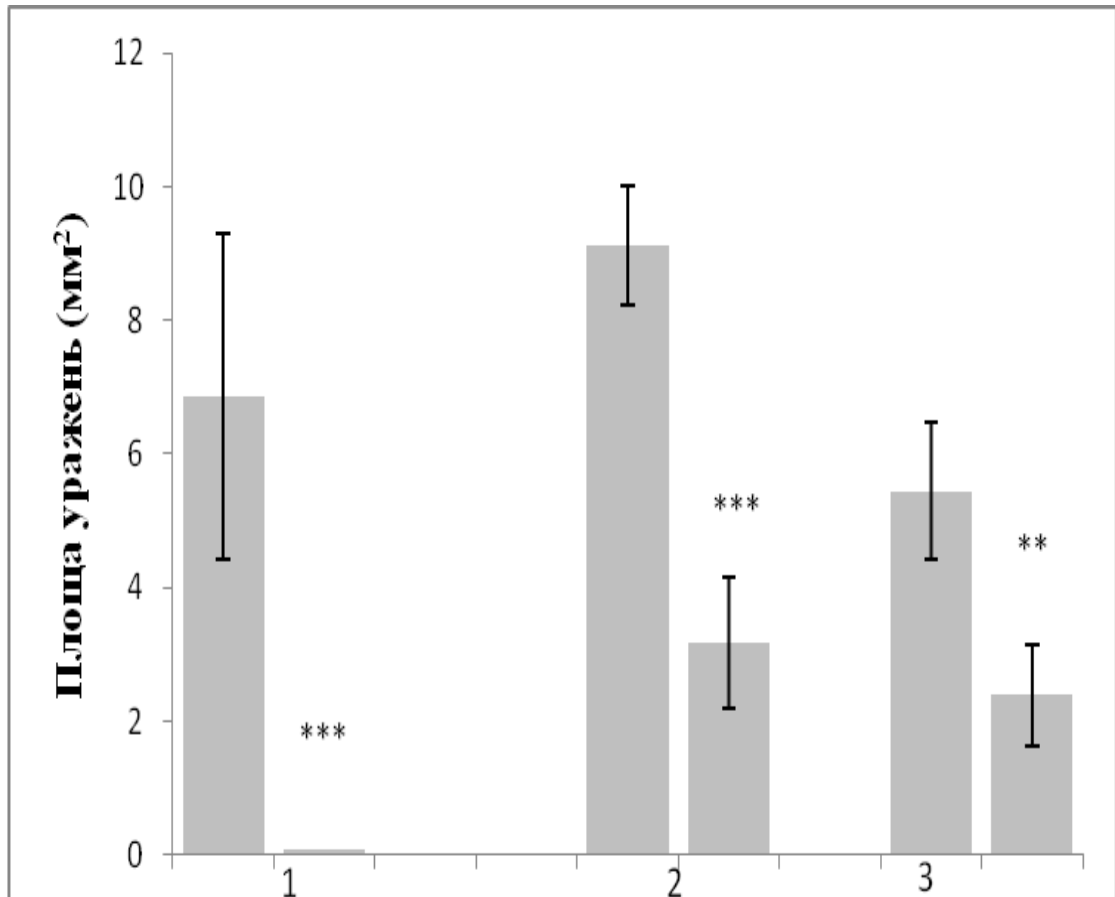


Рис. 4.30. Вплив меланіну(5 мг/кг, per os) на площу уражень в слизовій оболонці шлунка щурів ( $M \pm SD$ ):

1- виразки,

2- ерозії,

3- крововиливи,

Примітка: \*\*\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ .

Саме завдяки зростанню рівню оксиду азоту (NO) в крові та активації PPAR $\gamma$  меланіном значно зменшує кількість уражень в слизовій оболонці шлунка щурів, викликаних іммобілізаційним стресом (рис.4.31).

Нами доведено, що один з механізмів антистресового впливу меланіну на слизову оболонку шлунка у щурів обумовлений його стимулюючою дією на виділення оксиду азоту в кров. Вміст NO в плазмі крові оцінювався через визначення концентрації кінцевих метаболітів NO – NO $_2^-$  за допомогою реактиву Грісса, отримані реакційні суміші підлягали спектрофотометричному аналізу. Порівняння концентрації метаболіту

оксида азоту  $\text{NO}_2^-$  в крові у щурів після нанесення стресу та у щурів, яким перед нанесенням стресу вводили меланін, показало, що меланін збільшував концентрацію  $\text{NO}_2^-$  в крові на 111,9% ( $p < 0,01$ ) (рис.4.31).

Добре відомо, що фізіологічне вивільнення NO з епітеліальних і нейрональних клітин регулює кровоплин, моторику та секрецію [601, 602] різних відділів шлунково-кишкового тракту та відіграє багатогранну роль у збереженні цілісності слизової оболонки шлунка при дії різноманітних факторів ураження [603–606].

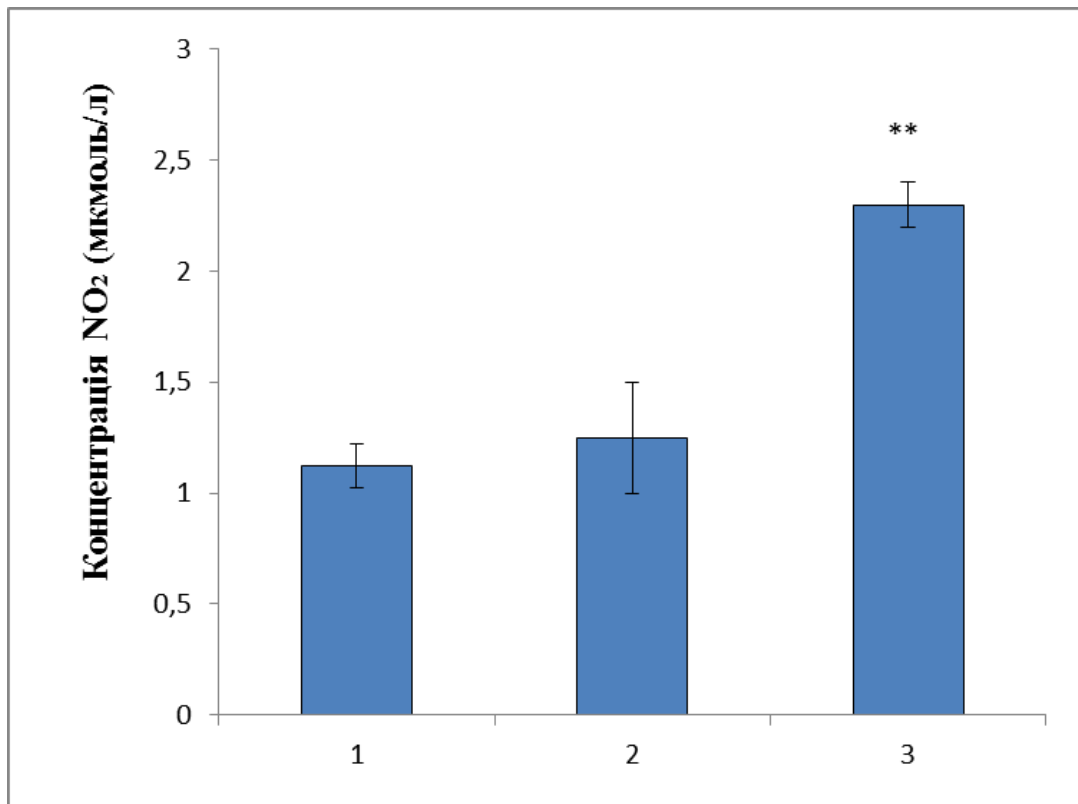


Рис. 4.31. Вплив меланіну (5 мг/кг, per os) на виділення оксиду азоту в кров на фоні дії стресу, ( $M \pm SD$ )

1. Контроль (n=8)
2. Стрес (n=8)
3. Стрес+меланін (n=8)

Примітка: \*\* $p < 0,01$  відносно стресу; n – кількість тварин.

Аналіз інших літературних джерел підтверджують, що агоністи PPAR $\gamma$  мають протективну роль в шлунковому виразкоутворенні, викликаному різноманітними чинниками [440, 576], як хімічної так і стресової природи. Саме завдяки активації PPAR $\gamma$  при використанні меланіна відбувається зростання рівня NO крові за рахунок посилення активності ендотеліальної синтази eNOS, а рівень експресії індукцйбельної форми синтази оксиду азоту iNOS навпаки знижується [607, 608].

Описані вище результати стали підґрунтям для наступних наших досліджень, адже виразкова хвороба шлунка та дванадцятипалої кишки є однією з найбільш поширених хвороб травної системи, яка навіть при дотримуванні сучасних принципів консервативного лікування має рецидиви від 5 до 30-70% випадків. Накопичений досвід клінічного використання блокаторів протонної помпи традиційних груп (омепразола, лансопразола і ін.) показав, що використання їх в терапевтичних дозах при лікуванні кислотозалежних захворювань часто виявляється недостатньо ефективним, в зв'язку з чим їх приходиться призначати в більш високих дозах та на більш тривали терміни [609, 610], а це супроводжується побічними ефектами (гіперпродукція гастрину, гіперплазія ентерохромафінних клітин і атрофія слизової) [62, 611]. Як вже зазначалося нами та іншими дослідниками, використання протягом тривалого часу антисекреторних препаратів, а саме, інгібіторів протонної помпи призводить до гіпергастринемії, а потім і гіперплазії ентерохромафінних клітин шлунка, яка може бути причиною виникнення карциноїду шлунка, що було підтверджено експериментально [62, 405, 458, 459]. Крім того, роботами дослідників останніх років було доведено, що омепразол впливає на вироблення ендотеліальної eNO синтази та виділення оксиду азоту [612–614]. Вчені з особливою засторогою підкреслюють небезпечність тривалого застосування інгібіторів протонної помпи хворими з кардіоваскулярною патологією, адже ці препарати призводять до пригнічення ферментативної активності синтази оксиду азоту

(eNOS) зменшення якої впливає на стійкість судин, запалення і тромбоз [614]. Саме зменшенням утворення оксиду азоту пояснюється підвищений ризик розвитку інфаркту міокарда серед населення, які тривало використовують інгібітори протонної помпи [612–614]. Наведене обумовлює пошук препаратів, які б допомогли уникнути негативних наслідків, які виникають при тривалому використанні кислотопригнічуючих препаратів. Таким чином, властивості притаманні меланіну, які ми побачили з результатів описаних вище, механізми його захисного впливу на слизову оболонку шлунка у щурів проти нейро-дистрофічних уражень, викликаних стресом, які опосередковуються через eNOS-залежні регуляторні ланки внутрішньоклітинної регуляції активації синтезу NO дало нам підставу використати меланін в подальшому дослідженні. Враховуючи те, що введення інгібіторів протонної помпи пригнічує експресію eNOS, а меланін навпаки призводить до зростання генерації NO, показником якої є збільшення концентрації  $\text{NO}_2^-$  в сироватці крові, ми спробували дослідити зміни в шлунковій секретії, які відбудуться після сумісного 28-денного введення омепразолу та меланіну.

В результаті проведених досліджень в групі щурів, яка слугувала контролем в даній серії, дебіт базальної секретії гідрохлоридної кислоти складав  $40,4 \pm 21,0$  мкмоль/120 хв. Після 28-денного введення омепразолу секретія гідрохлоридної кислоти зростала до  $155,0 \pm 55,8$  мкмоль/120 хв, або на 283,7% ( $p < 0,001$ ) (рис. 4.32).

При ізольованому 28-денному введенні меланіну дебіт базальної шлункової секретії був дещо менший від контролю (рис. 4.32). Хоча і спостерігалась тенденція до зниження, проте, не було статистично значущої різниці з контрольною групою щурів. Подібний вплив меланіну на базальну шлункову секретію був отриманий і іншими авторами [615]. Тоді як в роботі Фалалєєвої Т.М. та співав. спостерігали пригнічуючий вплив меланіну на секреторну функцію шлунка, та пояснювали отриманий ефект

присутністю в сполучі інших функціональних молекулярних груп, зокрема проліну [616].

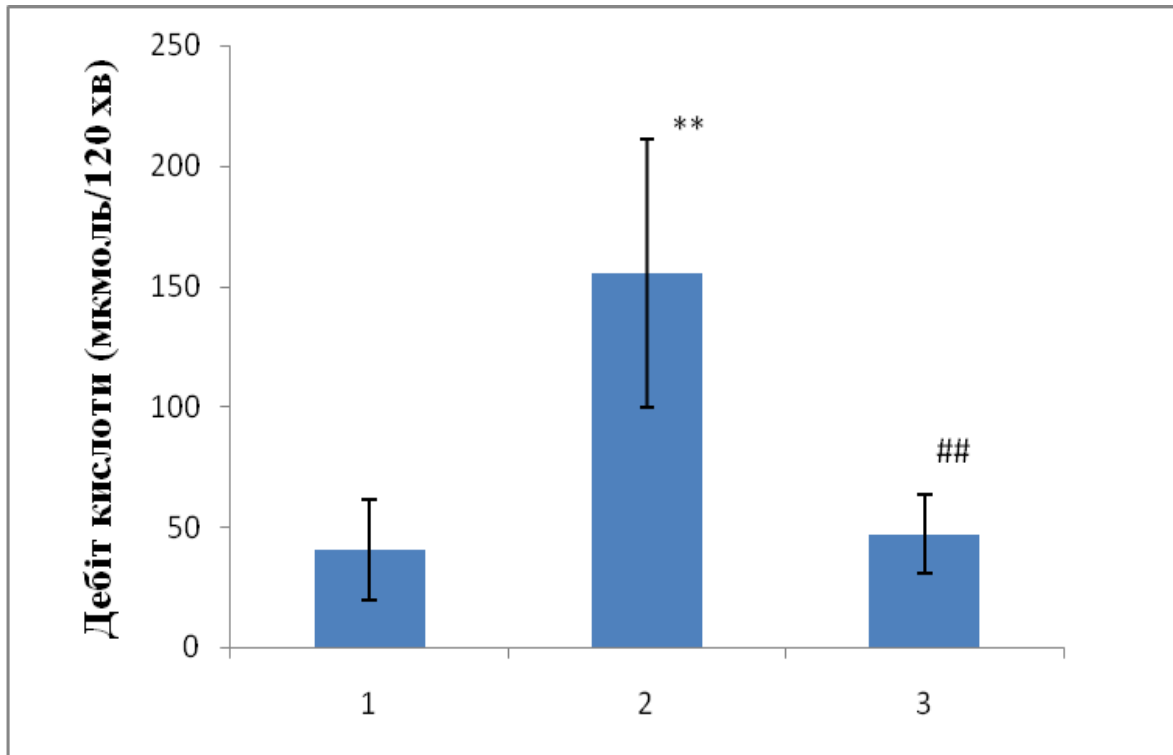


Рис.4.32. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28-денного ізольованого введення омепразолу (14мг/кг) та комбінованого введення омепразолу та меланіну (0,1 мг/кг,) ( $M \pm SD$ ):

1-контроль (n=26);

2-омепразол (n=6);

3-меланін+омепразол (n=10);

Примітка:\*\* -  $p < 0,01$  відносно контролю, ## -  $p < 0,01$  відносно омепразолу

Після одночасного 28-денного введення омепразолу та меланіну дебіт базальної секреції гідрохлоридної кислоти складав  $47,0 \pm 16,4$  мкмоль/120 хв, що статистично значущо не відрізнялося від даного показника в контролі (рис.4.32). Отже, в результаті досліджень було з'ясовано, що меланін знімав стимулюючий вплив омепразолу на базальну секрецію кислоти шлунком.

Отриманий нами результат можна підтвердити дослідженнями Полякової та співав., які показали цитопротекторний вплив меланіну на клітини слизової оболонки фундального відділу шлунка щурів за умов тривалої гіпергастринемії. Зокрема було відмічено наближення до контрольних значень морфометричних показників в слизовій оболонці, а саме розмірів слизової оболонки, ядер ендокринних клітин, площі парієтальних клітин та їх ядер. Морфологічні дослідження показали відсутність диспластичних змін в слизовій – відмічені правильна будова шлункових залоз, полярність екзокриноцитів, світлі ядра, відсутність недиференційованих клітин тощо [617].

Одержані нами результати дозволяють заключити про те, що меланін здатний справляти корегуючу дію на шлункову секрецію за умов 28-денного введення омепразолу.

#### **Висновки до розділу 4**

1. Сумісне введення блокатору холецистокінін/гастринових рецепторів проглуміду з омепразолом протягом 28 днів запобігало змінам шлункової секреції у щурів, що може свідчити про відсутність помітних змін у масі парієтальних клітин.
2. Одночасне введення блокатору рН-чутливих кальцієвих рецепторів верапамілу з омепразолом пригнічує стимулюючий вплив на виділення гастрину G-клітинами шлунка спричинене зростанням рН внаслідок дії омепразолу та не впливає на шлункову секрецію.
3. Одночасне тривале введення мультиштамних пробіотиків з омепразолом запобігає розвитку мікробіологічних порушень і надмірному росту умовно-патогенної флори в шлунку та помірно знижує рівень гастрину в сироватці крові щурів.

4. Встановлено, що одночасне застосування мультипробіотиків при тривалому пригніченні шлункової секреції омепразолом запобігає:

- розвитку проліферативного та дисрегенеративних процесів в слизовій шлунка, про що свідчить нормалізація шлункового соковиділення,
- змінам чутливості парієтальних клітин до стимуляторів шлункової секреції,
- змінам вмісту глікопротеїнів та протеогліканів в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка, який зазнає істотних змін в умовах гіпергастринемії,
- руйнуванню слизово-бікарбонатного бар'єру в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку та забезпечує нормалізацію його хімічного складу.

5. Встановлено, що 28-денне введення омепразолу за умов одночасної стимуляції рецепторів PPAR $\gamma$  піоглітазоном і меланіном справляє корегуючу дію на шлункову секрецію у щурів. Агоністи PPAR $\gamma$  попереджають надмірну гіпертрофію та гіперплазію парієтальних клітин, розвиток злякисного їх переродження.

## РОЗДІЛ 5

### АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Однією з основних функцій шлунково-кишкового тракту є секреторна, що забезпечує вироблення і виділення залозистими клітинами травних соків, що містять ферменти і фактори, що сприяють їх активації. Для нормального протікання процесів шлункового травлення необхідно ритмічне виділення гідрохлоридної кислоти в просвіт шлунка. Постійна секреція гідрохлоридної кислоти забезпечує умови для протеолітичної дії пепсину, що виробляється головними клітинами слизової оболонки шлунка, денатурує білки, забезпечує бактерицидний ефект.

Таким чином, шлунок представляє собою складну систему, яка містить як фактори агресії, так і фактори захисту. Порушення їх взаємодії і веде до різних патологічних станів, які можна назвати хворобами шлунка. Нині найкращим методом, з'ясувати взаємодію між цими факторами є багатоканальна внутрішньошлункова рН-метрія [618].

Причиною багатьох хвороб органів травного тракту є дисбаланс процесів кислотопродукції та кислотонейтралізації. Тривала гіперсекреція кислоти або недостатність кислотонейтралізації, і, як наслідок, підвищена кислотність в шлунку і / або дванадцятипалій кишці, викликає так звані кислотозалежних захворювань. В даний час до них відносять: виразку шлунка і дванадцятипалої кишки, гастроєзофагеальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ), ерозивно-виразкові ураження шлунка та дванадцятипалої кишки на тлі прийому аспірину або нестероїдних протизапальних препаратів, синдром Золлінгера-Еллісона, гастрити і гастродуоденіти з підвищеною кислотністю і інші.

При лікуванні станів з підвищеною кислотністю застосовують антацидні або антисекреторні препарати. При цьому антациди не повинні

розглядатися як препарати «основної терапії», тільки як симптоматичні або препарати «на вимогу». Найефективнішими ліками, що дозволяють найбільш тривалий час нейтралізувати продукцію кислоти в шлунку є інгібітори протонної помпи. При деяких захворюваннях таких як гастроєзофагеально рефлюксна хвороба, синдром Золлінгера-Еллісона інгібітори протонної помпи призначаються на тривалий час, в результаті цього в шлунку спостерігається тривала гіпохлоргідрія. Хоча знижена кислотність може спостерігатися і при анацидному або гіпоацидному гастриті, гастродуоденіті, а також при раку шлунка. Гастрит (гастродуоденіт) називається анацидним або гастритом (гастродуоденітом) зі зниженою кислотністю, якщо кислотність в тілі шлунка становить приблизно 5 або більше од. рН. Причиною зниженої кислотності часто буває атрофія парієтальних клітин в слизовій оболонці або порушення їх функцій.

Навіть при відсутності будь-яких гастроентерологічних симптомів знижена кислотність представляє собою серйозну проблему. Кислота в шлунку забезпечує бактерицидний ефект. При недостатності кислоти захист помітно слабшає і в кишечник разом з їжею можуть безперешкодно потрапляти мікроорганізми, що порушують його мікрофлору [72, 619]. У людей, які страждають анацидним гастритом, часто бувають розлади шлунку, коли в його слизовій виникає запалення [620, 621]. На цьому тлі частіше розвиваються різні патології, зумовлені дією інфекцій, в тому числі, *Helicobacter pylori* [622–624].

При зниженій кислотності, пепсин та інші протеолітичні ферменти залишаються в неактивній формі. В результаті в шлунку не відбувається перетравлення білків, а замість цього починаються бродильні процеси, які проявляються у вздутті живота, болями, викликаними надмірною кількістю газів в кишечнику. Білки засвоюються не повністю, залишаючи після себе в шлунку проміжні продукти розпаду, які мають на організм токсичну дію.

Накопичення їх разом з іншими продуктами метаболізму знижує функцію імунної системи і сприяє виникненню онкологічних захворювань.

Знижена кислотність негативно впливає на моторику шлунку і кишечника [625–627], що може проявлятися у вигляді запорів, що не усуваються нормалізацією режиму харчування.

Враховуючи всі вище перераховані наслідки гіпоацидності шлункового соку лікарі повинні пам'ятати про важливість клінічної безпеки, пов'язаної з дозою і тривалістю сильнодіючих інгібіторів секреції кислоти. Окрім того, не слід забувати, що небезпечним фактором гіпоацидності є зростання рівня гастрину в крові, яке відбувається за рахунок негативного зворотнього зв'язку. Трофічний ефект гастрину на слизову оболонку, що триває значний час може спровокувати розвиток пухлини [20, 628–630].

Зростання рівня гастрину в крові може спричинити як прийом антисекреторних препаратів при лікуванні синдрому Золлінгера-Еллісона, гастроєзофагеально рефлюксній хворобі, так і лікування перніціозної анемії, оперативні втручання з приводу ваготомії, наявність хелікобактерної інфекції [68, 631].

Таким чином, проаналізувавши відомі факти літератури, і з'ясувавши актуальність даної проблеми постає потреба більш детального вивчення механізмів функціонування секреторного апарату шлунка в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку та розробок можливих засобів для уникнення негативних наслідків тривалої гіпохлоргідрії.

Першочерговим завданням наших експериментів було дослідити як змінюється базальна секреція шлункового соку у щурів після різних термінів введення блокатора  $H^+/K^+-ATP$ Фази омепразолу, паралельно визначати рівень гастрину в крові.

Нами було показано, що 7-ми денне введення омепразолу призводило до зростання дебіту кислоти базальної секреції в шлунку на 173,5% ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем та одночасного підвищення рівня гастрину на

206,7% ( $p < 0,05$ ). Збільшення тривалості введення омепразолу до 14 днів дебiт кислiї шлункової секретiї зростав на 194% ( $p < 0,01$ ). При цьому гастрин в сироватцi кровi мав тенденцiю до підвищення, але цi змiни не були статистично значущими. Через 21 день пiсля щоденного введення омепразолу дебiт кислоти збiльшувався на 126,0% ( $p < 0,01$ ), концентрацiя гастрину в сироватцi кровi зростала на 131,0% ( $p < 0,01$ ). За результатами отриманими пiсля 28 днiв пригнiчення шлункової секретiї щурiв подiлили на двi групи, де у однiїї групи спостерiгалось підвищення рiвня базального кислотовидiлення на 371,0% ( $p < 0,001$ ), у другiїї групи, навпаки, базальний рiвень кислоти знижувався на 41,8% ( $p < 0,01$ ), хоча рiвень гастрину в кровi був високим в обох групах. Отже, нами було зроблено припущення, що збiльшення базальної шлункової секретiї через добу пiсля останнього введення омепразолу у пiддослiдних груп, очевидно, пов'язано з ефектом „вiдмiни”, який часто лiкарi спостерiгають у хворих. На нашу думку, цей ефект є результатом тривалої трофiчної дiї гастрину, який зумовлює рiст i пролиферацiю нормальних клiтин слизової оболонки шлунка i, як наслiдок, зростання кiлькостi парiєтальних клiтин. Деякi автори зазначають, що субстратом для гiперсекреторного синдрому є поєднання гiперплазiї парiєтальних клiти з iх прискоренною диференцiацiєю [457]. Також на основi одержаних даних ми можемо припустити, що падiння кислiї шлункової секретiї пiсля 28-денного введення блокатора  $H^+/K^+-ATP$ ази пов'язане з явищем тривалої гiпергастринемiї, що призводить до морфологiчних змiн в слизовiй шлунка, а саме до порушення балансу мiж диференцiацiєю i пролиферацiєю та зменшення кiлькостi диференцiйованих епiтелiальних клiтин.

Вiдомо, що одноразове введення омепразолу пригнiчувало шлункову секретiю стимульовану пентагастрином, гiстамiном та карбахолiном [632–634]. Що стосується впливу тривалого пригнiчення синтезу гiдрохлоридної кислоти омепразолом на харчову або стимульовану шлункову секретiю, то

ці дані вивчені недостатньо [400, 410]. Відомо, що кожен із стандартних стимуляторів (карбахолін, гастрин, гістамін) діє специфічно до кожної фази шлункової секреції [423, 424].

В нашій роботі ми показали, що разом зі збільшенням терміну введення блокатору протонної помпи омепразолу зростала концентрація гастрину в сироватці крові щурів. Поряд з цим, після поступового збільшення тривалості введення блокатора  $H^+K^+$ -АТФази змінювалася чутливість парієтальних клітин до екзогенного введення синтетичного аналогу гастрину пентагастрину [576].

Одержані результати показують, що після 7 днів введення омепразолу відповідь на введення пентагастрину у дослідної групи щурів майже не відрізнялось від контрольної. Однак, вже після 14 днів блокування  $H^+K^+$ -АТФази омепразолом відповідь на стимулятор була в 1,5 разів нижчою ( $p < 0,01$ ) ніж контролі.

Продовження збільшення терміну введення блокатора  $H^+K^+$ -АТФази до 21 та 28 днів дозволило нам побачити, як падає чутливість парієтальних клітин до екзогенного введення гастрину. Як видно з представлених результатів, у щурів контрольної групи, незалежно від того, яким був базальний секреторний рівень, пентагастрин стимулював шлункову секрецію в середньому в 2,75 раз. Тоді як у щурів після введення омепразолу 7, 14, 21 днів відбувалося зростання базальної шлункової секреції та зменшувалася співвідношення між базальним та стимульованим дебітом шлункової секреції, що можна добре побачити після 14- і 21-денного введення інгібітора протонної помпи. Дослідженнями вчених, було відмічено, що шлункова секреція стимульована пентагастрином є найбільш чутливою до гіпохлоргідрії [570, 635].

Так як використана доза пентагастрина залишалася незмінною у всіх експериментах, отриманий нами ефект можна пояснити падінням чутливості парієтальних клітин до гастрину у щурів після тривалої гіпохлоргідрії. Слід

також зазначити, що використання пентагастріну, як стимулятора шлункової секреції застосовується для діагностування синдрому Золлінгера-Еллісона, при цьому співвідношення базальної до стимульованої секреції більше ніж 0,6 вважається специфічним для гастрином [418]. Ми також спробували оцінити отримані результати пентагастрінової шлункової секреції. У нашому експерименті, незалежно від того, яка була група тварин з високою чи низькою базальною секрецією, це співвідношення було наближене до 0,6. Цей факт засвідчує про те, що в обох дослідних групах, внаслідок надмірного трофічного впливу гастріну, відбуваються морфо-функціональні порушення клітин слизової оболонки шлунка.

В експериментах ми не обмежилися одним стимулятором шлункової секреції, тому в якості наступного секретогога нами був обраний агоніст нікотинових і мускаринових ацетилхолінових рецепторів карбахолін. В результаті проведених досліджень встановлено, що через добу після останнього введення фізрозчину у щурів контрольної групи дебіт гідрохлоридної кислоти шлункової секреції стимульованої карбахоліном збільшувався на  $162 \pm 25,2\%$  ( $p < 0,001$ ). Проте, дослідну групу щурів, які протягом 28 днів отримували омепразол, щурів було поділено на дві групи з низьким та високим рівнем секреторної активності, що, як вже зазначалось, залежало від морфологічних змін. При цьому незалежно від різнобічних змін базальної шлункової секреції після 28-денного введення омепразолу у щурів обох дослідних груп концентрація гастріну в плазмі крові збільшувалась на  $189,3\%$  ( $p < 0,05$ ), тобто спостерігалось явище гіпергастринемії [425].

Після порівняння стимулюючого ефекту карбахоліну в обох дослідних групах щурів з контрольною групою можна побачити, що гіпергастринемія не змінювала чутливості секреторних клітин до стимулятора.

Наступна серія експерименту нам показала, як впливає екзогенне введення гістаміну на стимуляцію шлункової секреції у щурів після 28-денного введення омепразолу.

В наслідок тривалої гіпохлоргідрії шлункового соку, викликаній тривалим введенням блокаторів протонної помпи, можуть розвиватися патологічні зміни ЕСЛ-клітин. На пізній стадії: від надмірної кількості клітин (гіперплазії) до їх неправильного розвитку (дисплазії) і переродження (неоплазії) [24, 60, 101, 415] .

Аналогічно попередній серії досліджень після 28-денного введення омепразолу ми отримали дві групи тварин з підвищеною та зниженою шлунковою секрецією. Введення гістаміну призводило до зростання соковиділення у групи з низькою шлунковою секрецією на  $137,0 \pm 33,5\%$  та на  $92,0 \pm 9,9\%$  з високою. В середньому у щурів обох дослідних груп гістамін стимулював соковиділення на  $110,7 \pm 15,4\%$  ( $p < 0,001$ ). Але порівнявши ефект впливу стимулятора гістаміна у щурів дослідних груп з контрольною групою тварин, де після введення гістаміну секреція зростала на  $203,0 \pm 32,0\%$  ( $p < 0,001$ ), можна побачити, що секреторна відповідь на гістамін у щурів після тривалого введення омепразолу була на  $92,3\%$  слабшою.

З отриманих нами результатів можна зробити висновок, що гіпергастринемія викликана 28-денним введенням омепразолу призводить до падіння чутливості парієтальних клітин до пентагастріну та гістаміну, але не впливає на секреторну відповідь, стимульовану карбахоліном.

Наслідком тривалого пригнічення шлункової секреції омепразолом стало порушення мікробіоценозу шлунку. Результати проведених нами досліджень показали, що гіпоацидність призводить до зростання умовно-патогенної мікрофлори. В шлунку були висіяні гриби роду Кандіда, клібсієла, ентеробактер, протей, при цьому їх концентрація досягала високих значень. Майже у всіх тварин умовно-патогенна мікрофлора знаходилась у трьох-п'ятикомпонентних асоціаціях. Концентрація різних видів мікроорганізмів дорівнювала  $10^6$ - $10^8$  КУО/г, стафілококів -  $10^5$  КУО/г, грибів роду Кандіда -  $10^5$  КУО/г.

Тривала гіпоацидність сприяла появі в шлунку досить небезпечного збудника *Staphylococcus aureus*. Притилежну дію гіпоацидність справляла на індигенного представника мікрофлори шлунка, так як концентрація *Lactobacillus* зменшувалась.

Виявлені нами зміни мікрофлори підтверджуються чисельними даними літератури, де аналогічні результати спостерігали дослідники при тривалій гіпохлоргідрії різного генезу [444–449].

Вже неодноразово зазначалося, що тривала гіпергастринемія призводить до розвитку гіперплазії слизової оболонки шлунка, яка в подальшому викликає атрофічний гастрит. Однією з причин виникнення атрофічного гастриту може бути гіпергастринемія, яка виникає за рахунок інфікування бактерією *Helicobacter pylori* та саме внаслідок її життєдіяльності відбувається зростання вивільнення гастрину антральним відділом шлунку [80].

Як відомо, будь яке бактеріальне інфікування супроводжується процесом запалення на яке реагує імунна система. Запалення в слизовій оболонці шлунка викликане *Helicobacter pylori* асоційоване зі зміною секреції кислоти та активністю процесів клітинного оновлення [636–638]. Запалення, що виникає через *Helicobacter pylori* стимулює виділення гастрину. Тому у людей з вираженим атрофічним гастритом в ділянці антрума ризик розвитку раку значно вищий. Взаємозв'язок між *Helicobacter pylori* і розвитком пухлинного процесу добре описано в монографії Яковенко, Захараш, Курик [639]. Результати ендоскопічних досліджень проведених на людях показали наступне. У хворих без хронічного атрофічного гастриту інфекція *Helicobacter* виявляється у 30% випадків, в той час як за його наявності – у 57% ( $p=0,0001$ ). При наявності неповної метаплазії *Helicobacter* виявляється у 63% випадків, за її відсутності – у 47%. При наявності дисплазії дана патологія асоціюється з *Helicobacter* до 60% [639]. Не слід забувати, що саме з даною бактерією асоціюється зростання

гастрину в крові [266, 326], продукція якого зростає при збільшенні рН шлунка. В наслідок життєдіяльності *Helicobacter pylori* відбувається постійне утворення аміаку та безперервне залуження шлунка, що порушує гальмівний механізми секреції гастрину, стимулює вивільнення гідрохлоридної кислоти та викликає гіпергастринемію.

Всесвітньою організацією охорони здоров'я, агентством з вивчення раку *Helicobacter pylori* було розглянуто як небезпечну бактерію, пов'язану з аденокарциномою шлунка і лімфоною. Загалом, близько 16% випадків раку в усьому світі, за оцінками вчених, ідентифіковані як мікробасоційовані форми раку шлунково-кишкового тракту [640].

Підсумовуючи вищенаведене можна заключити, що мікроорганізмами є основними дійовими агентами в біологічних середовищах, підтвердженням чого стали і наші власні дослідження.

У підтвердження неодноразово наведених літературних даних [17, 51, 59, 62] і наших припущень була проведена наступна серія експериментів.

Необхідно зазначити, що всякий функціональний розлад в шлунку має своє морфологічне вираження. При підвищеній секреторній функції шлунка нерідко виявляються гіперпластичні процеси в слизовій оболонці, гіпертрофія парієтальних клітин, посилення діяльності мукоїдних клітин, підвищення вмісту рибонуклеопротейдів в головних клітинах і активності окисно-відновних ферментів у цитоплазмі парієтальних клітин. В той же час змінюються і ультраструктурні характеристики парієтальних клітин, що проявляється у збільшенні секреторних гранул, кількості і розмірах мітохондрій, розширенні внутрішньоклітинних канальців, поглибленні профілю ендоплазматичного ретикулума. Гіпохлоргідрія характеризується змінами протилежного характеру.

Отже, наступні експерименти були направлені на з'ясування того, які морфологічні зміни спостерігалися у щурів з різними секреторними станами, після 28 днів введення омепразолу.

На препаратах після 28-денного введення омепразолу у слизовій оболонці шлунка спостерігалася десквамація епітелію слизової оболонки, у окремих залозах гландулоцити піддавались деструктивним змінам. Порушення відбувалися і у підслизовій основі і власній пластинці слизової оболонки, де спостерігалась інфільтрація лейкоцитами. Зазнавав змін внутрішній шар м'язової оболонки- місцями розшарування. В групі тварин, що приймали 28 днів омепразол відмічались вкорочення залоз і зменшення їх кількості, що є основною ознакою атрофії. Також в антральному відділі відмічались ділянки поверхневого виразкування слизової. В частині випадків спостерігались ділянки значного вкорочення залоз і зменшення висоти слизової оболонки. В одному з випадків в слизовій оболонці спостерігалась виражена лімфоїдно-клітинна інфільтрація із заміщенням залоз. Також на препаратах можна було побачити явища кишкової метаплазії залоз, коли келихоподібні клітини вистилають ворсини і крипти, в фундальному відділі і в антральному відділі.

Ще одним із підтверджень впливу тривалої гіпергастринемії став аналіз морфометричних показників у слизовій оболонці шлунка після 28-денної гіпохлоргідрії. У частини тварин 28-денне введення омепразолу призводило до збільшення висоти слизової оболонки фундального відділу на 4,86% ( $p < 0.001$ ), площа поперечного перерізу парієтальних клітин зростала на 8,57% ( $p < 0.001$ ). Ми побачили зменшення площі поперечного перерізу ядер парієтальних клітин на 11,72% ( $p < 0,001$ ), ядерно-цитоплазматичне співвідношення також зменшується на 19,65% ( $p < 0.001$ ). Всі отримані дані вказують на те, що в клітинах слизової оболонки шлунка відбуваються дисрегенеративні зміни, які призводять до атрофії.

Разом з цим була частина тварин у яких після тривалого введення омепразолу висота слизової оболонки фундального відділу шлунка у порівнянні з контролем збільшується на 17,0% ( $p < 0.001$ ), площа поперечного перерізу парієтальних клітин зменшується на 19,5% ( $p < 0,001$ ).

Спостерігається збільшення площі поперечного перерізу ядер парієтальних клітин на 26,0% ( $p < 0,001$ ), ядерно-цитоплазматичне співвідношення збільшується на 52,0% ( $p < 0,001$ ), що характерно для процесів дисплазії та метаплазії в слизовій шлунка. Таким чином, пригнічення кислотоутворюючої функції, про що говорилося вище, відображається в структурних змінах слизової оболонки шлунка, що підтверджують інші автори [43, 44, 51, 62, 404, 405, 425, 455, 456].

Отже, омепразол викликає морфо-функціональні зміни як на рівні всієї слизової оболонки шлунка (збільшення висоти слизової оболонки, розвиток запалення, набряк), так і на рівні її окремих структурних елементів (поліморфність клітин і ядер, зміни розмірів ендокриноцитів, зменшення або збільшення розмірів їх ядер, зміна ядерно-цитоплазматичного співвідношення).

Проте, потрібно вказати, щодо тривалого впливу омепразолу на організм людини в літературі існують дві точки зору, які суперечать одна одній. За дослідженнями одних авторів, при тривалому (особливо протягом декількох років) безперервному прийомі інгібіторів протонної помпи у хворих спостерігається гіпергастринемія, прогресують явища атрофічного гастриту, а у низки пацієнтів відмічають зворотнє підвищення щільності ендокринних клітин слизової оболонки шлунку, які виробляють гістамін [43, 44, 62, 404, 455, 456]. За даними інших авторів [385, 641, 642], лише у незначної кількості хворих при терапії омепразолом відзначалося збільшення кількості ентерохромафіноподібних клітин, а виникнення вузликової гіперплазії чи карциноїдів відзначено не було. Дослідники зазначають, що ці зміни бувають звичайно вираженими при тривалому застосуванні високих доз інгібіторів протонної помпи. На думку деяких авторів, гіпотеза про підвищення ризику розвитку злоякісних пухлин на тлі тривалого застосування омепразолу не має наукових доказів [632, 642–644].

Отримані нами результати підтримують першу точку зору та ще раз підкреслюють, що гіпергастринемія яка виникає на тлі тривалого пригнічення шлункової секреції є дуже небезпечним фактором задіяним в канцерогенезі.

Зокрема, в рекомендаціях ВООЗ захворювання, що можуть зумовити значне збільшення ризику виникнення раку, належать до передракових станів. Морфологічні порушення в таких тканинах, де може розвинути раку називають передраковими змінами [457].

В роботі Князева М.В. було описано два шляхи канцерогенезу. Характерною особливістю одного з шляхів є первинне пошкодження механізмів проліферації і диференціації. Цей процес тривалий, його початком є хронічний активний гастрит, що через кишкову метаплазію і дисплазію в кінцевому результаті призводить до раку шлунка кишкового типу [18]. Інший шлях канцерогенезу відбувається за рахунок порушення експресії або мутації генів, що відповідають за синтез білків базальної мембрани. Цей процес розгортається дуже швидко і призводить до формування раку з непластичного шийного епітелію [18]. Слід відмітити, що нещодавно в дослідженнях вітчизняних вчених Дворченко та співавторів проводилось визначення рівня експресії цих генів в печінці та підшлунковій залозі, залучених у розвиток реакції-відповіді клітин на тривалий гіпоацидний стан шлунка [53]. За умов норми ці гени не експресуються, проте поява, наприклад, експресії гена *Reg1a* в деяких органах у патологічних умовах [645] може вказувати на неоплазію [97, 646–648].

Відомо, що сам гастрин – опосередковує експресію *Reg1a* гена в ECL-клітинах, які залучені до росту слизових клітин шлунка та до пухлиноутворення [630].

Сотніков та співав. зазначають, що дослідження кислотопродукуючої функції характеризує адаптаційні можливості організму і дозволяє виявити групу ризику до розвитку онкологічних захворювань. Адже, при хронічному

гастриті практично однаково часто зустрічається гіпер- і нормацідність (32% і 34% відповідно), гіпоацідність складає 15%, а анацидність 18%. Проведене порівняльне вивчення характеру кислотопродукції і морфологічних змін слизової оболонки в тілі шлунка не виявило значимої кореляції між ними. Це підкреслює необхідність не тільки морфологічного дослідження, а й визначення кислотоутворювальної функції для діагностики хронічного гастриту [461].

Багато років поспіль виразку шлунка вважали передраковим станом і одними з головних в лікуванні були і залишаються кислотопригнічуючі препарати. Вважається, що з одного боку, гіпергастринемія на тлі блокади секреторної активності паріетальних клітин має стимулюючий вплив на проліферацію клітин і прискорює епітелізацію виразкових дефектів. З іншого - саме цей механізм визначає високу ймовірність розвитку відстрочених негативних ефектів прийому інгібіторів протонної помпи. Зв'язування гастрину або холецистокініну з рецепторами супроводжується активацією сигнального каскаду з передачею мітогенного сигналу в ядро, що призводить до посилення проліферації клітин за участю нерцепторних тирозинкіназ p125fak, Src, p130cas і паксиліна [649].

Ще одним із підтверджень негативного впливу довготривалого пригнічення секреції гідрохлоридної кислоти стали результати лектинового гістохімічного аналізу слизової оболонки шлунка. Відомо, що лектини грають роль деяких біосенсорів, здатних розпізнавати і деструктувати біоплівки патогенів. Специфічність зв'язування лектинів як зі структурними компонентами нормальної слизової оболонки, так і з глікокон'югатами поверхні плазмалеми трансформованих клітин дає можливість локалізувати та охарактеризувати зміни, що виникають при розвитку неопластичних процесів [391, 467].

Лектини рослин належать до великого сімейства вуглеводно-зв'язуючих білків. Вони містять щонайменше один некаталітичний домен для

селективного розпізнавання і оборотньої аглютинації клітин [650]. Відповідно за молекулярними структурами і еволюційними станами, рослинні лектини можуть бути додатково розділені на 12 різних сімейств [651].

На сьогодні широко застосовуються екзогенні рослинні лектини як інструмент для вивчення цитомембран тваринної клітини, що відрізняються своїм вуглеводним складом у випадках цитолізу, ендокринних та імуногематологічних захворювань, інфекційного процесу і розвитку новоутворень, тощо [467]. Завдяки розвитку сучасної молекулярної біології вченими вдалося встановити нові мембранні біомаркери, які представлені манозо- і галактозмісними глікопротеїнами, що розпізнаються клітинами імунної системи, наприклад макрофагами, полегшують цитопатологічну дію різних чинників. Показано, що задіяні у цьому процесі специфічні ензими-нейрамінідази, які здатні відщеплювати від певних глікопротеїнів клітинних мембран залишки сіалових кислот, сприяти експонуванню манозо- і галактозвмістких залишків на поверхні клітин [652, 653].

Представлений в нашій роботі аналіз цитотопографії лектинового маркування PNA, RCA, LABA, WG A, HPA, SBA, SNA вказує, що 28-денне пригнічення шлункової секреції омепразолом призводить до можливого "перепрограмування" синтезу вуглеводних компонентів поверхні клітин та внутрішньоклітинних компартментів, до зміни характеру секрету цих клітин, консистенції слизово-бікарбонатного бар'єру та адгезивних міжклітинних взаємозв'язків.

Літературні дані показують, що глікополімери насіння арахісу  $\beta$ DGal у нормальних і зрілих клітинах відсутні або їх вміст незначний. Глікополімери, що зв'язують лектин арахісу PNA більш виявляються у ембріональних або злоякіснотрансформованих клітинах здатних до метастазування [391]. Поява рецепторів лектину PNA у складі епітеліально-слизового бар'єру та ядрах гландулоцитів вказує на зниження рівня їх диференціації [391].

Слід зазначити, що нині лектини цікаві не тільки як інструмент для вивчення цитомембран тваринної клітини, а також рослинні лектини добре відомі як речовини, що мають високу біологічну активність, таку як протигрибкову, противірусну, а також протипухлинну активність [654]. В роботах останніх років все більше уваги приділяється лектинам як можливим протираковим агентам для майбутньої терапії раку, що можуть впливати на апоптоз клітини [651].

Вчені вважають, що важливий діагностичний та прогностичний потенціал мають сіалоспецифічні глікокон'югати, які характеризуються наявністю в своєму складі сіалових кислот, що широко розповсюджені в природі та представляють собою похідні нейрамінової кислоти (5-аміно-3,5-дидеоокси-D-галактоногулозонова кислота) [655]. На сьогодні з приблизно 40 різноманітних сіалових кислот до найбільш поширених представників цієї родини належить N-ацетилнейрамінова кислота (Neu5Ac) і N-гліколілнейрамінова кислота (Neu5Gc).

Ми також в своїх дослідженнях визначили вміст N- ацетилнейрамінової кислоти та інші колагенові та неколагенові компоненти в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка щурів в різні періоди після введення омепразолу. Одержані дані переконливо показують, що із подовженням пригнічення кислотовиділення омепразолом з 7 до 28 днів відбувається зростання на 111,0% ( $p < 0,001$ ) вмісту N- ацетилнейрамінової кислоти, поступово збільшувався рівень гексуранових кислот на 74% ( $p < 0,001$ ). Зміни які відбуваються в головних компонентах слизово-епітеліального бар'єру є свідченням того, що під впливом омепразолу з часом відбувається дезорганізація сполучнотканинних структур внаслідок деполімеризації неколагенових білків-глікопротеїнів і протеогліканів. Знижуються захисні властивості слизу, послаблюється резистентність до протеолітичних ферментів, про що вказує втрата кінцевих мономерів вуглеводного компоненту глікопротеїнів у складі шлункового муцину, тобто відбувається

їх полімеризація. В той же час рецептори гастринстимулюючих клітин стають доступними до впливу високих концентрацій рН, та як наслідок зростає секреція гастрину.

Під впливом збільшення тривалості введення омепразолу спостерігається підсилення деполімеризації фукопротеїнів сполучної тканини. Так, вміст фукози в слизово-епітеліальному бар'єрі через 28 днів зростав на 107,0% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з контролем. Поряд з цим на 28 день зростав вміст оксипроліну в слизу на 163,2% ( $p < 0,001$ ).

Таким чином, зростання вмісту вільного оксипроліну, фукози та гексуранових кислот в слизовій шлунка щурів, є показником руйнування захисних білків у слизово-епітеліальному бар'єрі, що відбувається внаслідок гіпергастринемії, що виникає в результаті пригнічення секреції кислоти в шлунку. В літературі зазначається, що деполімеризація глікопротеїнів і протеогліканів пов'язана з активацією процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) [484]. Так як саме ПОЛ, в ланцюгу вільнорадикального окиснення, є одним з показників деструкції ліпопротеїдів мембран епітеліальних клітин. Підтвердженням того, що тривала гіпохлоргідрія призводить до зростання продуктів ПОЛ є роботи вітчизняних дослідників, в яких вказується, що тривале введення омепразолу викликає зростання вмісту ТБК-активних продуктів, дієнових кон'югатів, шиффових основ в тканинах травного тракту [52, 54].

Отримані дослідниками результати є свідченням того, що як наслідок 28-денного пригнічення секреції кислоти в шлунку відбувається виснаження ланки антиоксидантного захисту, при цьому клітини вже не можуть протистояти оксидативному стресу на тлі запалення, що виникає через гіпергастринемію і дисбіоз.

Описуючи зміни, які відбуваються в слизово-епітеліальному бар'єрі не можна не навести літературні дані про сучасне розуміння шлункового бар'єру, що пов'язане зі здатністю поверхні залозистих епітеліальних клітин

синтезувати муцин. В епітеліальних тканинах виділяються 13 типів муцинів, утворюючи два класи сполук: трансмембранних і секреторних муцинів. MUC1, є одним з трансмембранних муцинів клітин шлунково-кишкового тракту. MUC1 розподіляється на поверхні клітини, і діє в якості сигнальної молекули. MUC3 і MUC4 є мембранозв'язані муцини, які відіграють важливу роль у захисті клітин епітелію і беруть участь в епітеліальному оновленні та диференціації. Згідно з наявною інформацією [656, 657], експресія мембранних глікопротеїнів зростає майже в десять разів в трансформованих клітинах, і вуглеводні ланцюги стають коротшими. Механізми, які відповідають за орієнтацію білкових молекул в біслой цитомембрани, стабілізація просторової структури білків, трансмембранного і внутрішньоклітинного транспорту речовин (в тому числі передачу гідролітичних ферментів з комплексу Гольджі в лізосоми), а також молекулярні механізми міжклітинної розпізнавання пов'язані з конкретною структурою вуглеводних детермінант глікопротеїнів. Відомо, що ці механізми відіграють важливу роль в дозріванні і диференціації клітин, гістогенезі і морфогенезі органу, проліферації клітин, які можуть розглядатися в якості проявів злоякісного росту [658, 659].

Проведені та проаналізовані наші дослідження дозволили нам заключити, що тривала гіпоацидність шлункового соку призводить до порушень в організмі, які можуть призвести до ряду патологій, а відсутність ефективних засобів профілактики, стало підґрунтям для наступних завдань наших досліджень, а саме запропонованих нами методів корекції гіпергастринемії.

Як було визначено нами та чисельними роботами інших авторів, небезпечним фактором при тривалому зниженні шлункової секреції є зростання секреції гастрину G-клітинами шлунка [43, 59, 62, 402, 425, 485, 489]. Тому, логічно б було припустити, що блокада його продукції вирішила б існуючу проблему гіпергастринемії.

Відомо, що неселективний блокатором холецистокінін-гастринових  $CCK_1$  та  $CCK_2$  типів є проглумід [491, 660].

На прикінці 70-х років минулого століття вчені дослідили поєднану дію блокатору  $H_2$  гістамінових рецепторів циметидину і проглуміду на функціональний стан шлунка. Вони спостерігали значне збільшення рівня гастрину в сироватці та маси парієтальних клітин в групі тварин, яким вводили блокатор циметидин. Проте у групі, де застосовували проглумід ніяких змін не спостерігалось [495]. При одночасному введенні циметидину та проглуміду дослідники спостерігали пригнічення трофічної дії гастрину, при цьому зменшувалась маса парієтальних клітин. На основі отриманих даних автори заключили, що проглумід блокував трофічну дію гастрину.

В науковій літературі існують дані стосовно пригнічуючого впливу проглуміду на ріст пухлин шлунка і товстого кишечника. В роботі Beauchamp та співавторів [496] досліджували дію проглуміду на ріст пухлин товстого кишечника. Вчені прийшли до висновку, що за допомогою антагоністів гастринових рецепторів можливо знижувати рівень проліферації пухлинних клітин. Незабаром, результати цих досліджень знайшли своє підтвердження у роботі інших лабораторій. Зокрема, у 1989 році німецькі вчені, вивчаючи процеси росту карциноїдів, прийшли до висновку, що деякі з них є гастрин-залежними [497]. У цьому ж році вчені в клінічних умовах вивчали вплив міліде (проглуміду) при лікуванні пептичної виразки та виразки дванадцятипалої кишки. Мілід не змінював рівень гастрину в сироватці крові, але пригнічував його продукування. Використання проглуміду в терапевтичних цілях зменшувало виділення N-ацетилнейрамінової кислоти в складі шлункового соку, що частково обумовлює цитопротекторну дію препарату [498]. Harrison [499] у своїх дослідженнях показав, що гастрин викликає ріст пухлинних клітин, як шлунка, так і товстого кишечника *in vitro* та *in vivo*.

Нами було зроблено припущення, що трофічний ефект гастрину, як і його секретостимулююча дія, опосередковується холецистокінін-гастриновим рецептором. Проте в літературі відсутні дані про функціональні зміни в секреторній функції шлунка на фоні тривалої гіпергастринемії за умов блокади холецистокінін-гастринових рецепторів.

В проведених нами дослідження було встановлено, що одночасне введення протягом 28 днів омепразолу та проглуміду знижувало рівень базальної шлункової секреції у щурів порівняно з групою з ізольованим введенням омепразолу. Це може свідчити про те, що проглумід запобігав розвитку диспластичних змін в клітинах слизової оболонки шлунка, так як секретуюча функція була майже не змінена. Хоча при цьому ми спостерігали, що рівень гастрину в крові був підвищений.

Результат відсутності гістологічних змін в слизовій оболонці шлунка щурів за умов одночасного 28-денного введення омепразолу та проглуміду було підтверджено роботою Вороніної О. [661]. Проглумід також запобігав розвитку гіперплазії в слизовій оболонці товстого кишечника, яка виникала при ізольованій 28-денній дії омепразолу [472].

Отже отримані нами результати майже вирішували проблему тривалої гіпоацидності і за умов необхідності тривалого використання омепразолу або у людей із гіпергастринемією різного генезу можна б було рекомендувати призначати блокатор холецистокінін-гастринових рецепторів проглумід з метою запобігання трофічної дії гастрину на клітини слизової оболонки шлунка. Але при цьому не слід забувати про деякі аспекти фізіологічної дії гастрину та холецистокініну. Гастрин є потужним стимулятором секреції жовчі [501]. Ця стимуляція в основному пов'язана з активацією скорочень гладеньких м'язів жовчного міхура. Та головна роль в стимуляції моторики жовчного міхура належить холецистокініну [405, 502, 503], який секретується слизовою оболонкою дванадцятипалої кишки при попаданні в неї хімуса, що містить жири. Скорочення жовчного міхура починаються

приблизно через 2 хвилини після попадання хімусу на слизову дванадцятипалої кишки. Холецистокінін не лише активує скоротливу здатність гладеньких м'язів жовчного міхура, але і одночасно викликає скорочення гладеньких м'язів сфінктера Одді. Дисфункція сфінктера Одді може впливати на роботу панкреатичної залози та спричиняти порушення її діяльності [506, 507]. Зниження тонуусу сфінктеру Одді сприяє рефлюксу бактерій із дванадцятипалої кишки в жовчні шляхи, що може відігравати основну роль у виникненні конкрементів, а при дуоденопанкреатичному рефлюксі викликати пошкодження підшлункової залози [506, 507]. Крім того, гормон гастрин стимулює каналікулярну і протокову секреції жовчі [504, 505].

Наведені дані дозволили заключити, що, по-перше, тривала блокада холецистокінін-гастринових рецепторів, безумовно, призводитиме до порушення секреції жовчі та її виділення з жовчного міхура, що, в свою чергу, сприятиме як розвитку застійних явищ в жовчному міхурі, що є передумовою для холециститу та інших патологічних станів гепато-біліарної системи, так і порушенню процесу травлення, насамперед, гідролізу жирів. По-друге, для запобігання трофічній дії гастрину можна рекомендувати приймати проглумід лише короткими курсами.

При необхідності тривалого використання омепразолу доцільним є одночасний прийом блокатора холецистокінін-гастринових рецепторів проглуміду з метою профілактики гіперплазії парієтальних клітин.

Продовжуючи наші дослідження ми звернули увагу на те, що посилення виділення гастрину при лікуванні інгібіторами  $H^+K^+$ -АТФази призводить до підвищення рН в шлунку [510–512] та, відповідної реакції рН-чутливих кальцієвих рецепторів на G-клітинах, що проявляється у зростанні надходження екстрацелюлярного кальцію в G-клітину. Наявність кальцій-чутливого рецептору (CaR), як безпосередньо на парієтальній клітині, так і на

гастринпродукуючих G-клітинах робить кальцій важливою ланкою у процесі кислотоутворювання в шлунку [206].

Отже, блокада рН чутливих кальцієвих рецепторів не дасть можливості G-клітині реагувати на збільшення рН в шлунку на тлі дії омепразолу та зростати концентрації гастрину. Використання верапамілу, як блокатору CaR разом з 28-денним введенням омепразолу дозволило нам побачити, що секреторна активність шлунка у даної групи щурів була значно меншою у порівнянні з групою щурів з омепразолом [662]. Наші дані узгоджуються з літературними, де дослідники вивчали вплив блокаторів кальцієвих рецепторів як на базальну, так і на стимульовану секреторну активність шлунка [519, 520]. Отриманими результатами автори підкреслювали важливість участі позаклітинного кальцію в процесі секреції гідрохлоридної кислоти шлунком.

Таке зниження шлункової секреції можна пояснити зменшенням на 41,0% концентрації гастрину в сироватці крові щурів даної групи порівняно з групою щурів з ізольованим введенням омепразолу.

Тобто одночасне введення блокатору рН чутливих кальцієвих рецепторів, що розташовані на паріетальних та ECL клітинах, запобігає їх гіперплазії, пригнічує шлункову секрецію, та не дає побачити «ефекту відміни», який спостерігається через добу після тривалого використання кислотознижуючих препаратів [521–523].

Отриманий ефект дії верапамілу дає нам підґрунтя розраховувати на можливість його використання разом з інгібіторами  $H^+K^+$ -АТФази при довготривалому лікуванні кислотозалежних захворювань. Проте, не слід забувати, що блокатори кальцієвих рецепторів використовуються в клінічній практиці, насамперед, як кардіопрепарати з гіпотензивною та антиаритмічною дією. Тому, враховуючи всі властивості верапамілу, ми можемо рекомендувати його використання людям у яких захворювання травного тракту, що потребують довготривалого лікування інгібіторами  $H^+$ -

K<sup>+</sup>-АТФази, поєднані з артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця.

Гідрохлоридна кислота в шлунку захищає організм людини від мікроорганізмів [448, 452], а зменшена кислотність шлункового соку не тільки погіршує процеси травлення, але призводить до посиленої колонізації шлунка умовно-патогенною флорою та інфекційних захворювань, про що ми вже зазначали в своїй роботі та підтверджуємо літературними даними [45, 48, 49, 452].

Наші дослідження показали, що одночасне використання мультиштамних пробіотиків групи «Симбітер» з омепразолом дозволило попередити розвиток дисбактеріозу [87]. У групи щурів, яким протягом 28-ми днів моделювали омепразол-індуковану гіпоацидність та одночасно вводили мультипробіотики «Симбітер ацидофільний®» концентрований, «Симбітер форте», «Апібакт» показники обсіменіння шлунка умовно-патогенною мікрофлорою практично не відрізнялись від контрольної групи тварин, поряд з цим поверталась до норми як базальна, так і стимульована шлункова секреція. Адже, одним з механізмів зменшення інтенсивності шлункової секреції за умов одночасного введення мультипробіотиків та омепразолу може бути не тільки нормалізація мікробіоценозу, але і зниження концентрації гастрину в крові внаслідок дії мультипробіотиків. Мультипробіотики усували дисбактеріоз в шлунку, який розвивався на тлі тривалого введення омепразолу, що є доказом стимулюючого впливу наслідків дисбактеріозу на секрецію гастрину G-клітинами антрального відділу шлунка. На користь нашого висновку свідчать роботи, в яких показано, що 28-денне введенням щурам омепразолу призводить до зростання в сироватці крові концентрації прозапальних цитокінів ФНП-α, ІФН-γ і ІЛ-1β [4, 364, 541], що мають стимулюючий вплив на секрецію гастрину G-клітинами антрального відділу.

Введення омепразолу одночасно з мультипробіотиками групи «Симбітер» протягом 28-ми днів в значній мірі попереджає підвищений катаболізм колагенових і неколагенових білків слизово-епітеліального бар'єру шлунка і таким чином підвищує резистентність слизової оболонки шлунка до дії агресивних чинників. Вплив пробіотичних штамів на слизовий бар'єр шлунка може здійснюватися через посилення експресії генів, відповідальних за синтез муцину, та зміцнення щільних контактів через активацію Toll-подібних рецепторів. Таке заключення підтверджують дані літератури про механізми взаємодії пробіотичних бактерій і ентероцитів організму хазяїна [663].

Нами було встановлено, що введення щурам мультипробіотиків одночасно з 28-денним введенням омепразолом запобігало розвитку гіперпластичних змін у шлунку на фоні гіпергастринемії. Лектиногістохімічний аналіз показав, що усунення дисбіозу мультипробіотиками запобігало руйнуванню слизово-бікарбонатного бар'єру в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку та забезпечувало нормалізацію його хімічного складу.

Як вже неодноразово зазначалось, тривала гіпергастринемія і дисбактеріоз посилюють розвиток хронічного запального процесу у різних біотопах травного тракту, якому належить визначальна роль у розвитку пухлин.

На сьогодні вже добре відомо, що синтез та регуляція більшості прозапальних цитокінів регулюється на рівні транскрипції, що призводить до посилення, або призупинення запальних процесів. Однією з молекулярних ланок між прозапальними цитокінами і факторами транскрипції є рецептори активації проліферації пероксисом (PPAR) [664]. Транскрипційна активність та експресія PPAR запускається при взаємодії ліпополісахаридів бактерій з TLR4 епітеліальних клітин, що пригнічує активність транскрипційних факторів (NF-κB, c-Jun) [665], продукцію прозапальних цитокінів (IL-1β,

TNF- $\alpha$ ), хемокінів, проліферацію запальних клітин [666]. Дослідниками ідентифіковано три ізоформи цих рецепторів, що кодуються окремими генами (PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  і PPAR $\gamma$ ). В свою чергу, найкраще охарактеризовану ізоформу, PPAR $\gamma$  розділяють на три підтипи (PPAR $\gamma$ 1,  $\gamma$ 2 і  $\gamma$ 3). Ми припустили, що застосування речовин, які впливають на рецептори, що задіяні в процесах диференціації клітин дасть нам змогу запобігти негативним наслідкам до яких призводить тривала гіпохлоргідрія шлункового соку.

В якості агоністів PPAR $\gamma$  нашу увагу привернули синтетичний ліганд піоглітазон [416] - один із лікарських препаратів із групи тiazолідиндіонів та інша природня поліфенольна сполука- меланін, яка за даними літератури [598] також є агоністом PPAR $\gamma$ . Продуцентом меланіну, що використовувався в наших дослідженнях були чорні дріжджі *Nadsoniella nigra* штам X-1, висіяні із зразків вертикальних скель о. Галіндез (Українська Антарктична станція імені академіка Вернадського). Дослідженнями проведеними Чижанською та співат. [559] показано, що введення блокатору PPAR $\gamma$  GW9662 усувало захисну дію меланіну на утворення виразок та масивних крововиливів в слизовій оболонці шлунка у щурів, підданих дії стресу, що є свідченням того, що цитопротективні властивості меланіну зумовлені стимуляцією PPAR $\gamma$ . Дослідити секреторну функцію шлунку в умовах тривалої гіпоацидності за умов введення агоністів PPAR $\gamma$  меланіну та піоглітазону стало одним із завдань нашої роботи.

Результати наших досліджень показали, що одночасне 28-денне введення з омепразолом агоністу PPAR $\gamma$  піоглітазону призводило до зниження дебіту базальної шлункової секреції на 53,3% ( $p < 0,05$ ) в порівнянні з групою щурів, що отримувала лише омепразол, при цьому показники секреції кислоти статистично значущо не відрізнялись від контролю.

У групи щурів, які одночасно з омепразолом протягом 28 днів отримували інший природній агоніст PPAR $\gamma$  меланін дебіт базальної секреції

гідрохлоридної кислоти був ще ближче наблизений до показників контрольної групи. При цьому спостерігалось зменшення кислотоутворення на 69,7% ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з групою з 28-денним введенням омепразолу. Отже, меланін знімав стимулюючий вплив омепразолу на базальну секрецію кислоти шлунком. З отриманих даних видно, що природний агоніст PPAR $\gamma$  меланін виявився більш ефективними в наблизенні результатів до контролю, ніж синтетичний піоглітазон.

Слід відмітити, що зниження шлукової секреції при введенні обох агоністів PPAR $\gamma$  (піоглітазону і меланіну) відбувалося на фоні вираженої гіпергастринемії. Зважаючи на те, що секреція кислоти в шлунку залежить від маси парієтальних клітин, ми припустили, що за умов одночасного введення агоністів PPAR $\gamma$  та омепразолу гіперпластичні процеси були менш вираженими або відсутніми [667].

Наші дані співпадають з відомими з літератури даними, в яких показано, що активація PPAR $\gamma$  в культивованих клітинах товстої кишки пригнічує ріст пухлини і індукує диференціацію та впливає на апоптоз [580, 668–670]. Автори стверджують, що виникнення апоптозу, індукованого PPAR $\gamma$  послідовно супроводжується зниженням рівня NF- $\kappa$ B і внутрішньоклітинного белкового фактору Bcl-2, так як надлишкова експресія Bcl-2 істотно захищає клітини від апоптозу [669]. В роботах зазначається, що активація PPAR $\gamma$ , пригнічує проліферацію клітин і онкогенез, в той час як шлунково-кишковий регуляторний пептид гастрин стимулює ріст пухлинних клітин.

Дослідженнями останніх років було доведено, що омепразол впливає на вироблення ендотеліальної eNO синтази та виділення оксиду азоту [612–614]. Вчені з особливою засторогою підкреслюють небезпечність тривалого застосування інгібіторів протонної помпи хворими з кардіоваскулярною патологією, адже ці препарати призводять до пригнічення ферментативної активності синтази оксиду азоту (eNOS) зменшення якої впливає на стійкість

судин, запалення і тромбоз [614]. Саме зменшенням утворення оксиду азоту пояснюється підвищений ризик розвитку інфаркту міокарда серед населення, які тривало використовують інгібітори протонної помпи.

Враховуючи це, слід навести літературні дані, які показують, що агоністи PPAR $\gamma$  мають протективну роль в шлунковому виразкоутворенні, викликаному різноманітними чинниками [416, 444], як хімічної так і стресової природи. Саме завдяки активації PPAR $\gamma$  при використанні меланіна відбувається зростання рівня NO крові за рахунок посилення активності eNOS, а рівень експресії іншої форми синтази оксиду азоту iNOS навпаки знижується [607, 608].

Таким чином, базуючись на отриманих нами результатах та даних літератури ми можемо рекомендувати поєднувати прийом інгібіторів протонної помпи з агоністами PPAR $\gamma$  для запобігання негативних наслідків, особливо людям з цукровим діабетом та ішемічною хворобою серця.

\*\*\*

На основі отриманих даних експериментальних досліджень нами було запропоновано комплексний підхід до вирішення проблеми гіпергастринемії, яка виникає як результат тривалого зниження шлункової секреції будь-якого генезу. Результати наших досліджень можуть бути підґрунтям для застосування при тривалій гіпергастринемії мультипробіотичних препаратів, агоністів PPAR $\gamma$  людям з цукровим діабетом та ішемічною хворобою серця, блокаторів кальцієвих каналів у хворих з гіпоацидністю шлункового соку з супутньою кардіоваскулярною патологією, короткочасного використання блокатору холецистокінін-гастринових рецепторів проглуміду.

Отримані результати наших досліджень дозволяють зробити узагальнюючу схему, яка показує негативні наслідки тривалої гіпоацидності шлункового соку та можливі способи їх попередження (рис.5.1).

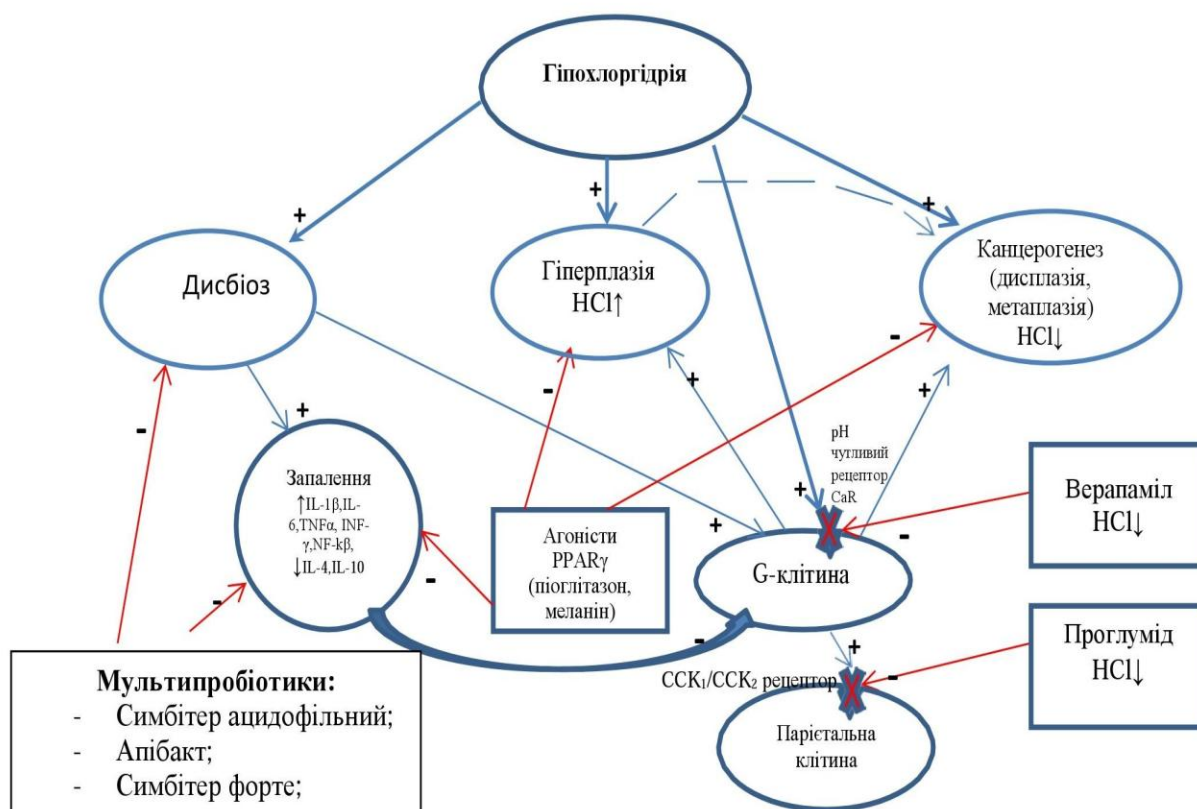


Рис.5.1 Наслідки тривалої гіпоацидності шлункового соку та можливі способи їх попередження.

## ВИСНОВКИ

У дисертації представлено нове вирішення наукової проблеми, що виявляється в розкритті механізмів функціонування секреторного апарату шлунка на тлі тривалої гіпергастринемії.

1. Введення щурам блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу упродовж 7 днів збільшувало концентрацію гастрину в сироватці крові на 206,7 % ( $p < 0,05$ ), яка в подальшому не залежала від тривалості введення омепразолу (7-28 днів).

2. Гіпергастринемія, викликана 7-, 14- та 21-денним введенням щурам блокатору  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу, через добу після його останнього введення спричиняє зростання базальної шлункової секреції гідрохлоридної кислоти. 28-денне введення щурам омепразолу призводить до різнонаправлених змін базальної шлункової секреції, яка у частини щурів зростає, а у частини – знижується. Встановлено, що гіпергастринемія, викликана 28-денним введенням омепразолу призводить до падіння чутливості парієтальних клітин до гістаміну, але не впливає на секреторну відповідь, стимульовану карбахоліном. Незалежно від природи гіпергастринемії (тривале введення омепразолу або наслідки стовбурової ваготомії у віддаленому періоді) секреція, стимульована пентагастрином, зменшується.

3. Встановлено, що тривала гіпергастринемія призводить до розвитку гіпертрофічних та дисрегенеративних процесів у клітинах слизової оболонки шлунка, що мало прояв у різнонаправлених змінах шлункової секреції. Показано, що на тлі розвитку гіпергастринемії відбувається зміна перерозподілу рецепторів на поверхні плазмолемі епітеліоцитів, подібний до їх розподілу в процесах онкотрансформації слизової оболонки.

4. Встановлено, що тривала гіпергастринемія активує колагенолітичні процеси в слизовій оболонці шлунка, свідченням чого є зростання вмісту вільного оксипроліну, посилює деполімеризацію фукопротеїнів і глікозаміногліканів сполучної тканини і протективних білків слизу, доказом чого є збільшення вмісту вільної фукози і N-ацетилнейрамінової і гексуринових кислот.

5. Пригнічення омепразолом секреції гідрохлоридної кислоти протягом 28 днів призводить до розвитку дисбактеріозу в шлунку щурів, на що вказує зміна кількісного і якісного складу його мікрофлори.

6. Сумісне введення блокатора холецистокінін/гастринових рецепторів проглуміду з омепразолом протягом 28 днів запобігало змінам шлункової секреції у щурів, що може свідчити про відсутність помітних змін у масі парієтальних клітин.

7. Одночасне введення блокатору рН-чутливих кальцієвих рецепторів верапамілу з омепразолом пригнічує стимулюючий вплив на виділення гастрину G-клітинами шлунка, спричинене зростанням рН внаслідок дії омепразолу, та не впливає на шлункову секрецію.

8. Встановлено, що одночасне застосування мультипробіотиків при тривалому пригніченні шлункової секреції омепразолом запобігає:

- розвитку проліферативного та дисрегенеративних процесів у слизовій шлунка, про що свідчить нормалізація шлункового соковиділення,
- змінам чутливості парієтальних клітин до стимуляторів шлункової секреції,
- змінам вмісту глікопротеїнів та протеогліканів в слизово-епітеліальному бар'єрі шлунка, який зазнає істотних змін в умовах гіпергастринемії,
- руйнуванню слизово-бікарбонатного бар'єру в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку та забезпечує нормалізацію його хімічного складу,

- розвитку мікробіологічних порушень і надмірному росту умовно-патогенної флори в шлунку, помірно знижує рівень гастрину в сироватці крові щурів.

9. Встановлено, що 28-денне введення омепразолу за умов одночасної стимуляції рецепторів PPAR $\gamma$  піоглітазоном і меланіном справляє корегуючу дію на шлункову секрецію у щурів. Агоністи PPAR $\gamma$  попереджають надмірну гіпертрофію та гіперплазію парієтальних клітин та запобігають розвитку злякисного їх переродження.

10. Розкриття фундаментальних механізмів стимульованої шлункової секреції кислоти в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку дозволяє розробити персоналізований підхід до профілактики негативних наслідків гіпергастринемії різного генезу у хворих з наявною супутньою патологією.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Nicholl C. G. The hormonal regulation of food intake, digestion, and absorption / C. G. Nicholl, J. M. Polak, S. R. Bloom // *Annual review of nutrition*. — 1985. — Vol. 5, No. 1. — P. 213–39.
2. Barret K. E. *Gastrointestinal physiology* / K. E. Barret, J. Malley, C. Naglieri. // New York: McGraw-Hill. — 2006. — p.596.
3. Schubert M. L. Hormonal regulation of gastric acid secretion / M. L. Schubert // *Current gastroenterology reports*. — 2008. — Vol. 10, No. 6. — P. 523–527.
4. Walsh J. H. *Gastrointestinal hormones* / J. H. Walsh // *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, ed Johnson L. R. — 1994. — No. 3. — P. 1–31.
5. Hersey S. J. Gastric acid secretion / S. J. Hersey, G. Sachs // *Physiological reviews*. — 1995. — Vol. 75, No. 1. — P. 155–189.
6. Cholinergically stimulated gastric acid secretion is mediated by M(3) and M(5) but not M(1) muscarinic acetylcholine receptors in mice / T. Aihara, Y. Nakamura, M. M. Taketo [et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. — 2005. — Vol. 288, No. 6. — P. G1199- G 1207.
7. Цитофізіологія травлення / В. К. Рибальченко, Т. В. Берегова, Т.В. Рибальченко (та інш.) — К.: Видавничо-поліграфічний центр „Київський університет”, 2004. — 244 с.
8. Іваницька О. М. Нейро-гуморальна регуляція шлункової секреції / О. М. Іваницька, І. Л. Попович // *Медична гідрологія та реабілітація* — 2013. — С.53-62
9. Mårdh S. Mechanisms of stimulation of acid production in parietal cells isolated from the pig gastric mucosa / S. Mårdh, Y.-H. Song, C. Carlsson, T. Björkman // *Acta Physiologica Scandinavica*. — 1987. — Vol. 131, No. 4. — P. 589–598.
10. Johnson L. R. *Gastric secretion* / L. R. Johnson, T. A. Gerwin //

- Gastrointestinal Physiology. — 2007. — Vol. 8. — P. 64–81.
11. Functional gastroduodenal disorders / J. Tack, N. J. Talley, M. Camilleri [et al.] // *Gastroenterology*. — 2006. — Vol. 130, No. 5. — P. 1466–1479.
  12. Журавльова Л. В. Лікування кислотозалежних захворювань у пацієнтів із метаболічними порушеннями / Л. В. Журавльова, О. В. Лахно, О. І. Цівенко // *Сучасна гастроентерологія*. — 2014. — No 3 (77). — с. 42–45.
  13. Hirschowitz B. I. Vitamin B12 deficiency in hypersecretors during long-term acid suppression with proton pump inhibitors / B. I. Hirschowitz, J. Worthington, J. Mohnen // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2008. — Vol. 27, No. 11. — P. 1110–1121.
  14. Park J. Y. Review of autoimmune metaplastic atrophic gastritis / J. Y. Park, D. Lam-Himlin, R. Vemulapalli // *Gastrointestinal endoscopy*. — 2013. — Vol. 77, No. 2. — P. 284–292.
  15. Toh B.-H. Cutting edge issues in autoimmune gastritis / B.-H. Toh, J. Chan, T. Kyaw, F. Alderuccio // *Clinical reviews in allergy & immunology*. — 2012. — Vol. 42, No. 3. — P. 269–278.
  16. Neumann W. L. Autoimmune atrophic gastritis-pathogenesis, pathology and management / W. L. Neumann, E. Coss, M. Rugge, R. M. Genta // *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*. — 2013. — Vol. 10, No. 9. — P. 529–541.
  17. Waldum H. L. Antiulcer drugs and gastric cancer / H. L. Waldum, B. Gustafsson, R. Fossmark, G. Qvigstad // *Digestive diseases and sciences*. — 2005. — Vol. 50 — P. S39- S 44.
  18. Князев М. В. Атрофия слизистой оболочки желудка как предраковое заболевание. Методы диагностики / М. В. Князев // *Клиническая эндоскопия*. — 2008. — No. 4. — С. 2–12.
  19. Gastric neuroendocrine neoplasms and proton pump inhibitors: fact or coincidence? / F. Cavalloli, A. Zilli, D. Conte [et al.] // *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. — 2015. — Vol. 50, No. 11. — P. 1397–1403.

20. Burkitt M. D. Importance of gastrin in the pathogenesis and treatment of gastric tumors / M. D. Burkitt, A. Varro, D. M. Pritchard // *World journal of gastroenterology*. — 2009. — Vol. 15, No. 1. — P. 1–16.
21. Waldum H. L. Does long-term profound inhibition of gastric acid secretion increase the risk of ECL cell-derived tumors in man? / H. L. Waldum, Ø. Hauso, E. Brenna [et al.] // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2016. — Vol. 51, No. 7. — P. 767–773.
22. Gastric carcinoids after long-term use of a proton pump inhibitor / C. S. Jianu, R. Fossmark, T. Viset [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2012. — Vol. 36, No. 7. — P. 644–649.
23. Hershko C. The anemia of achylia gastrica revisited / C. Hershko, J. Patz, A. Ronson // *Blood cells, molecules & diseases*. — 2007. — Vol. 39, No. 2. — P. 178–183.
24. Waldum H. L. The regulation of gastric acid secretion - clinical perspectives / H. L. Waldum, Ø. Hauso, R. Fossmark // *Acta physiologica*. — 2014. — Vol. 210, No. 2. — P. 256–339.
25. Animal models to study the role of long-term hypergastrinemia in gastric carcinogenesis / R. Fossmark, G. Qvigstad, T. C. Martinsen [et al.] // *Journal of biomedicine & biotechnology*. — 2011. — Vol. 2011. — P. 975–978.
26. Romero A. Comparative study of plasma gastrin levels in rats after two months of ebrotidine administration / A. Romero, F. Gómez, F. Villamayor // *Arzneimittel-Forschung*. — 1997. — Vol. 47, No. 4A. — P. 524–527.
27. Carlsson E. Gastrin and gastric enterochromaffin-like cell carcinoids in the rat / E. Carlsson, N. Havu, H. Mattsson, L. Ekman // *Digestion*. — 1990. — Vol. 47, No. 1. — P. 17–23.
28. Маев И. В. Пантопразол: значение и место в терапии кислотозависимых заболеваний / И. В. Маев, Ю. А. Кучерявый, Т. С. Оганесян // *РМЖ*. — 2010. — Vol. 28 (392), No. 10. — С. 1749 — 1753.
29. Шептулин А. А. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь и

- функциональные заболевания желудочно-кишечного тракта: есть ли какая-то связь? / А. А. Шептулин, М. А. Визе-Хрипунова // РЖГГК. — 2010. — No 4. — С. 44–48.
30. Poitras R. J. The Zollinger-Ellison syndrome: dangers and consequences of interrupting antisecretory treatment / R. J. Poitras, M.H. Gingras // Clin Gastroenterol Hepatol. — 2012. — Vol. 10(2). — P. 199–202.
31. Effect of proton pump inhibitor in patients with acute pancreatitis - pilot study / J. H. Yoo, C. H. Kwon, K. H. Yoo [et al.] // The Korean journal of gastroenterology — 2012. — Vol. 60, No. 6. — P. 362–367.
32. Яковенко Э. П. Пантопразол в терапии кислотозависимых заболеваний / Э. П. Яковенко, О. Л. Яковенко, А. В. Илларионова // Фарматека. — 2012. — Vol. 2. — P. 45 — 50.
33. Передерий В. Г. Кислотозависимые заболевания / В. Г. Передерий, С. М. Ткач, Ю. Г. Кузенко, С. В. Скопиченко — К. : ООО «Тиса ЛТД», 2008. — 425 с.
34. Михайлова М. Д. Гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь: сравнительная эффективность немедикаментозного и медикаментозного методов лечения / М. Д. Михайлова. — Ижевск : 2012. — 25 с.
35. Бордин Д. С. Безопасность лечения как критерий выбора ингибитора протонной помпы больному гастроэзофагеальной рефлюксной болезнью / Д. С. Бордин // Consilium Medicum. — 2010. — Vol. 12, No. 8. — С.18-21.
36. Song H. Long-term proton pump inhibitor (PPI) use and the development of gastric pre-malignant lesions [Электронный ресурс] / H. Song, J. Zhu, D. Lu // Cochrane Database of Systematic Reviews / H. Song. — Chichester, UK : John Wiley & Sons, Ltd, 2014. — No2(12). Режим доступа : [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25464111](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25464111).
37. Fujimoto K. Safety and efficacy of long-term maintenance therapy with oral dose of rabeprazole 10 mg once daily in japanese patients with reflux

- esophagitis / K. Fujimoto, M. Hongo // *Internal medicine* — 2011. — Vol. 50, No. 3. — P. 179–188.
38. Brunner G. Long-term, open-label trial: safety and efficacy of continuous maintenance treatment with pantoprazole for up to 15 years in severe acid-peptic disease / G. Brunner, C. Athmann, A. Schneider // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2012. — Vol. 36, No. 1. — P. 37–47.
39. Hirschowitz B. I. Long-term lansoprazole control of gastric acid and pepsin secretion in ZE and non-ZE hypersecretors: a prospective 10-year study / B. I. Hirschowitz, J. Simmons, J. Mohnen // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2001. — Vol. 15, No. 11. — P. 1795–1806.
40. Степанов Ю. М. Ингибиторы протонной помпы: насколько безопасно длительное применение пантопразола? / Ю. М. Степанов, И. Я. Будзак // *Гастроэнтерология*. — 2013. — Т. 3, No. 49. — С. 133–137.
41. Colmenares E. W. Proton pump inhibitors: risk for myopathy? / E. W. Colmenares, A. L. Pappas // *The Annals of pharmacotherapy*. — 2016. — Vol. 51, No. 1. — P. 66–71.
42. Omeprazole-induced myositis in a child receiving triple therapy for *Helicobacter pylori* infection / N. K. Visruthan, P. K. Boo, A. Kader [et al.] // *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*. — 2012. — Vol. 55, No. 3. — P. 338–339.
43. Laine L. Review article: potential gastrointestinal effects of long-term acid suppression with proton pump inhibitors / L. Laine, D. Ahnen, C. McClain // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2000. — Vol. 14, No. 6. — P. 651–668.
44. Lamberts R. Effects of very long (up to 10 years) proton pump blockade on human gastric mucosa / R. Lamberts, G. Brunner, E. Solcia // *Digestion*. — 2001. — Vol. 64, No. 4. — P. 205–213.
45. Risk of community-acquired pneumonia and use of gastric acid-suppressive drugs / R. J. F. Laheij, M. C. J. M. Sturkenboom, R.-J. Hassing [et al.] //

- JAMA. — 2004. — Vol. 292, No. 16. — P. 1955–1960.
46. Herzig S. J. Acid-suppressive medication use and the risk for hospital-acquired pneumonia / S. J. Herzig, M. D. Howell, L. H. Ngo // JAMA. — 2009. — Vol. 301, No. 20. — P. 2120–2128.
47. Nardone G. The human gastric microbiota: is it time to rethink the pathogenesis of stomach diseases? / G. Nardone, D. Compare // United European gastroenterology journal. — 2015. — Vol. 3, No. 3. — P. 255–260.
48. Waldum H. L. Long-term safety of proton pump inhibitors: risks of gastric neoplasia and infections / H. L. Waldum, E. Brenna, A. K. Sandvik // Expert opinion on drug safety. — 2002. — Vol. 1, No. 1. — P. 29–38.
49. Martinsen T. C. Gastric acidity protects mice against prion infection? / T. C. Martinsen, D. M. Taylor, R. Johnsen, H. L. Waldum // Scandinavian journal of gastroenterology. — 2002. — Vol. 37, No. 5. — P. 497–500.
50. The effect of proton pump inhibitors on the human microbiota / B. J. Vesper, A. Jawdi, K. W. Altman [et al.] // Current drug metabolism. — 2009. — Vol. 10, No. 1. — P. 84–89.
51. Ивашкин В.Т. Перспективы применения блокаторов протонного насоса в гастроэнтерологии / А. А. Ивашкин, В.Т. Шептулин // Болезни органов пищеварения. — 2001. — Т. 3, No. 1. — С. 78–84.
52. Дворщенко К. О. Біохімічні механізми функціонування печінки та підшлункової залози в умовах тривалої шлункової гіпохлоргідрії. автореф. дис.... докт. біол. наук: 03.00.04 / / К. О. Дворщенко. — Київський нац. ун-т ім. Т. Шевченка-Київ.- 2014. — 40 с.
53. Вакал С. Є. Сучасні уявлення щодо впливу блокаторів кислотної секреції шлунка на ризик розвитку гострого панкреатиту / С. Є. Вакал, Т. В. Бородіна, К. О. Дворщенко // Вісник КУ. Серія: Біологія. — 2012. — No. 60. — С. 45–48.
54. Пилипенко С. В. Моторна функція шлунково-кишкового тракту в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку та її

- корекція:автореф.дис.....докт.біол.наук: 03.00.13 / С. В. Пилипенко.-  
Київський нац. ун-т ім. Т. Шевченка, Київ, 2015. — 35 с.
55. Червінська Т. М. Дослідження ролі гастрину в процесах секреції та  
всмоктування води та електролітів в товстій  
кишці:автореф.дис.....канд.біол.наук:03.00.13 / Т. М. Червінська. —  
Київський нац. ун-т імені Т. Шевченка, Київ, 2008. — 19 с.
56. Радчук О. М. Вплив мультипробіотиків на стан слизової оболонки товстої  
кишки щурів за умов тривалої  
гіпергастринемії:автореф.дис.....канд.біол.наук: 03.00.11 / О. М. Радчук.  
— Київський нац. ун-т ім. Т. Шевченка, Київ, 2011. — 19 с.
57. Dacha S. Hypergastrinemia / S. Dacha, M. Razvi, J. Massaad [et al.] // *Gastroenterology* — 2015. — Vol. 3, No. 3. — P. 201–208.
58. Lundell L. Systematic review: the effects of long-term proton pump inhibitor  
use on serum gastrin levels and gastric histology / L. Lundell, M. Vieth, F.  
Gibson // *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. — 2015. — Vol. 42, No.  
6. — P. 649–663.
59. Effects of 5 years of treatment with rabeprazole or omeprazole on the gastric  
mucosa / G. Rindi, R. Fiocca, A. Morocutti [et al.] // *Eur.J.Gastroenterol.Hepatol.* — 2005. — Vol. 17, No. 5. — P. 559–566.
60. Hypergastrinemia, type 1 gastric carcinoid tumors: diagnosis and management.  
/ O. Y. Hung, S. K. Maithel, F. F. Willingham [et al.] // *Journal of clinical  
oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*. —  
2011. — Vol. 29, No. 25. — P. e713-e715.
61. Achlorhydria, parietal cell hyperplasia, and multiple gastric carcinoids: a new  
disorder / S. C. Abraham, J. A. Carney, A. Ooi [et al.] // *The American journal  
of surgical pathology*. — 2005. — Vol. 29, No. 7. — P. 969–975.
62. Jensen R. T. Consequences of long-term proton pump blockade: insights from  
studies of patients with gastrinomas / R. T. Jensen // *Basic & clinical  
pharmacology & toxicology*. — 2006. — Vol. 98, No. 1. — P. 4–19.

63. Gastrin increases its own synthesis in gastrointestinal cancer cells via the CCK2 receptor / S. Kovac, L. Xiao, A. Shulkes [et al.] // *FEBS* — 2010. — Vol. 584, No. 21. — P. 4413–4418.
64. Guo Y. S. Roles of gastrointestinal hormones in pancreatic cancer/ Y. S. Guo, C. M. Townsend // *Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery*. — 2000. — Vol. 7, No. 3. — P. 276–285.
65. Jensen R. T. Involvement of cholecystokinin/gastrin-related peptides and their receptors in clinical gastrointestinal disorders / R. T. Jensen // *Pharmacology & toxicology*. — 2002. — Vol. 91, No. 6. — P. 333–350.
66. Koh T. J. Extragastric effects of gastrin gene knock-out mice / T. J. Koh // *Pharmacology & toxicology*. — 2002. — Vol. 91, No. 6. — P. 368–374.
67. Aly A. Gastrins, cholecystokinins and gastrointestinal cancer / A. Aly, A. Shulkes, G. S. Baldwin // *Biochimica et biophysica acta*. — 2004. — Vol. 1704, No. 1. — P. 1–10.
68. Watson S. A. Gastrin - active participant or bystander in gastric carcinogenesis? / S. A. Watson, A. M. Grabowska, M. El-Zaatari, A. Takhar // *Nature reviews. Cancer*. — 2006. — Vol. 6, No. 12. — P. 936–946.
69. Expression profile of reg family proteins Reg 1 $\alpha$  and reg iv in advanced gastric cancer: comparison with mucin phenotype and prognostic markers / H. Yamagishi, H. Fukui, A. Sekikawa [et al.] // *Modern Pathology*. — 2009. — Vol. 22, No. 7. — P. 906–913.
70. Hara K. Effect of Reg 1 $\alpha$  protein on angiogenesis in gastric cancer tissues / K. Hara, H. Fukui, C. Sun [et al.] // *Oncology Reports*. — 2015.- P. 90-98
71. Jump R. L. P. Vegetative *Clostridium difficile* survives in room air on moist surfaces and in gastric contents with reduced acidity: a potential mechanism to explain the association between proton pump inhibitors and *C. difficile*-associated diarrhea? / R. L. P. Jump, M. J. Pultz, C. J. Donskey // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. — 2007. — Vol. 51, No. 8. — P. 2883–2887.

72. Bacterial overgrowth during treatment with omeprazole compared with cimetidine: a prospective randomised double blind study / J. Thorens, F. Froehlich, W. Schwizer [et al.] // *Gut*. — 1996. — Vol. 39, No. 1. — P. 54–59.
73. The effect of intra-gastric acidity and flora on the concentration of N-nitroso compounds in the stomach / F. Viani, H. H. Siegrist, B. Pignatelli [et al.] // *European journal of gastroenterology & hepatology*. — 2000. — Vol. 12, No. 2. — P. 165–173.
74. Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: a huge systematic review and meta-analyses / C. Persson, P. Canedo, J. C. Machado [et al.] // *American journal of epidemiology*. — 2011. — Vol. 173, No. 3. — P. 259–270.
75. Sokic-Milutinovic A. Role of Helicobacter pylori infection in gastric carcinogenesis: current knowledge and future directions / A. Sokic-Milutinovic, T. Alempijevic, T. Milosavljevic // *World journal of gastroenterology*. — 2015. — Vol. 21, No. 41. — P. 11654–11672.
76. Hanahan D. Hallmarks of cancer: the next generation / D. Hanahan, R. A. Weinberg // *Cell*. — 2011. — Vol. 144, No. 5. — P. 646–674.
77. Wroblewski L. E. The role of the microbiome in gastrointestinal cancer / L. E. Wroblewski, R. M. Peek, L. A. Coburn // *Gastroenterology clinics of North America*. — 2016. — Vol. 45, No. 3. — P. 543–556.
78. An antiapoptotic role for gastrin and the gastrin/CCK-2 receptor in Barrett's esophagus / J. C. Harris, P. A. Clarke, A. Awan [et al.] // *Cancer research*. — 2004. — Vol. 64, No. 6. — P. 1915–1929.
79. Philip M. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction / M. Philip, D. A. Rowley, H. Schreiber // *Seminars in cancer biology*. — 2004. — Vol. 14, No. 6. — P. 433–439.
80. Peek R. M. Helicobacter infection and gastric neoplasia / R. M. Peek, J. E. Crabtree // *The Journal of pathology*. — 2006. — Vol. 208, No. 2. — P. 233–248.

81. Ernst P. B. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer/ P. B. Ernst, B. D. Gold // *Annual review of microbiology*. — 2000. — Vol. 54. — P. 615–640.
82. Ofori-Darko E. An OMPA-like protein from *Acinetobacter* spp. stimulates gastrin and interleukin-8 promoters / E. Ofori-Darko, Y. Zavros, G. Rieder [et al.] // *Infection and immunity*. — 2000. — Vol. 68, No. 6. — P. 3657–3666.
83. Fried M. Duodenal bacterial overgrowth during treatment in outpatients with omeprazole / M. Fried, H. Siegrist, R. Frei // *Gut*. — 1994. — Vol. 35, No. 1. — P. 23–26.
84. Correa P. The gastric precancerous cascade/ P. Correa, M. B. Piazuelo // *Journal of digestive diseases*. — 2012. — Vol. 13, No. 1. — P. 2–9.
85. Пат. 43006 Спосіб профілактики раку шлунка та гіперплазії слизової оболонки товстої кишки у хворих гастроентерологічними захворюваннями / Л. І. Янковський, Д.С. Береговая, Т.В Остапченко, Г. С. Димент, О. І. Цирюк; Власник ТОВ фірма "Пролісок" №U200902666; заявл. 24.03.2009, опубл. 27.07.2009 Бюл. №14
86. Застосування пробіотиків у комплексній терапії та профілактиці захворювань органів травної системи / Ю. Філіпов, Т. В. Берегова, Д. С. Янковський [та ін.]. — Київ □: 2009. — 24 с.
87. Вплив харчових добавок з різним механізмом дії на структурно-функціональний стан шлунка / Л. І. Остапченко, Т. М. Фалалєєва, О. І. Цирюк [та ін.]. — Київ, 2008: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет». — 160 с.
88. Rozemond H. Laboratory animal protection: the European Convention and the Dutch Act. / H. Rozemond // *The Veterinary quarterly*. — 1986. — Vol. 8, No. 4. — P. 346–349.
89. Закон «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Верховна Рада України // *Відомості Верховної Ради України*. - 2006.-№27.-230 с.

90. Life Sciences C. I. Guide for the Care And Use Of Laboratory Animals . — 1996. -Vol.66,№4.— 248 p.
91. Pan Q.-S. Identification, localization and morphology of apud cells in gastroenteropancreatic system of stomach-containing teleosts / Q.-S. Pan, Z.-P. Fang, F.-J. Huang // World journal of gastroenterology. — 2000. — Vol. 6, No. 6. — P. 842–847.
92. Nuche-Berenguer B. Gastrointestinal hormones/neurotransmitters and growth factors can activate P21 activated kinase 2 in pancreatic acinar cells by novel mechanisms / B. Nuche-Berenguer, R. T. Jensen // Biochimica et biophysica acta. — 2015. — Vol. 1853, No. 10 Pt A. — P. 2371–2382.
93. Impaired gastric acid secretion in gastrin-deficient mice / L. Friis-Hansen, F. Sundler, Y. Li [et al.] // The American journal of physiology. — 1998. — Vol. 274, No. 3 Pt 1. — P. G561- G 568.
94. Barocelli E. Histamine in the control of gastric acid secretion: a topic review / E. Barocelli, V. Ballabeni // Pharmacological research. — 2003. — Vol. 47, No. 4. — P. 299–304.
95. Control of gastric acid secretion:the gastrin-ECL cell-parietal cell axis / E. Lindström, D. Chen, P. Norlén [et al.] // Comparative biochemistry and physiology.Molecular & integrative physiology. — 2001. — Vol. 128, No. 3. — P. 505–514.
96. Influence of vagus nerve stimulation on histamine-induced itching / A. Kirchner, H. Stefan, M. Schmelz [et al.] // Neurology. — 2002. — Vol. 59, No. 1. — P. 108–112.
97. Abnormal functional and morphological regulation of the gastric mucosa in histamine H2 receptor-deficient mice / T. Kobayashi, S. Tonai, Y. Ishihara [et al.] // The Journal of clinical investigation. — 2000. — Vol. 105, No. 12. — P. 1741–1749.
98. Schubert M. L. Control of gastric acid secretion in health and disease. / M. L. Schubert, D. A. Peura // Gastroenterology. — 2008. — Vol. 134, No. 7. — P.

- 1842–1860.
99. Schubert M. L. Gastric secretion / M. L. Schubert // *Current opinion in gastroenterology*. — 2005. — Vol. 21, No. 6. — P. 636–43.
  100. Schubert M. L. Gastric secretion / M. L. Schubert // *Current opinion in gastroenterology*. — 2014. — Vol. 30, No. 6. — P. 578–582.
  101. Parietal cell activation by arborization of ECL cell cytoplasmic projections is likely the mechanism for histamine induced secretion of hydrochloric acid / B. I. Gustafsson, I. Bakke, Ø. Hauso[et al.] // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2011. — Vol. 46, No. 5. — P. 531–537.
  102. Goo T. Mechanisms of intragastric pH sensing / T. Goo, Y. Akiba, J. D. Kaunitz // *Current gastroenterology reports*. — 2010. — Vol. 12, No. 6. — P. 465–470.
  103. Brenna E. Trophic effect of gastrin on the enterochromaffin like cells of the rat stomach: establishment of a dose response relationship. / E. Brenna, H. L. Waldum // *Gut*. — 1992. — Vol. 33, No. 10. — P. 1303–1316.
  104. Håkanson R. Trophic effects of gastrin / R. Håkanson, F. Sundler // *Scandinavian journal of gastroenterology* — 1991. — Vol. 180. — P. 130–136.
  105. Role of proton pump inhibitors in preventing hypergastrinemia-associated carcinogenesis and in antagonizing the trophic effect of gastrin / Y.-M. Han, J.-M. Park, N. Kangwan [et al.] // *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*. — 2015. — Vol. 66, No. 2. — P. 159–167.
  106. Blais K. Gastrin-releasing peptide receptor mediates the excitation of preoptic gabaergic neurons by bombesin / K. Blais, J. Sethi, I. V Tabarean // *Neuroscience letters*. — 2016. — Vol. 633. — P. 262–267.
  107. Stumpf W. E. Salivary glands epithelial and myoepithelial cells are major vitamin D targets / W. E. Stumpf, N. Hayakawa // *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. — Vol. 32, No. 3. — P. 123–129.

108. The calcium-sensing receptor acts as a modulator of gastric acid secretion in freshly isolated human gastric glands / M. M. Dufner, P. Kirchhoff, C. Remy[et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology.* — 2005. — Vol. 289, No. 6. — P. G1084- G 1090.
109. Ceglia L. Activation of the calcium sensing receptor stimulates gastrin and gastric acid secretion in healthy participants / L. Ceglia, S. S. Harris, H. M. Rasmussen, B. Dawson-Hughes // *Osteoporosis international*: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA. — 2009. — Vol. 20, No. 1. — P. 71–78.
110. Joseph I. M. P. A model for integrative study of human gastric acid secretion / I. M. P. Joseph, Y. Zavros, J. L. Merchant, D. Kirschner // *Journal of Applied Physiology.* — 2003. — Vol. 94, No. 4. — P. 1602–1618.
111. Munson K. Inhibitor and ion binding sites on the gastric HK-ATPase / K. Munson, R. Garcia, G. Sachs // *Biochemistry.* — 2005. — Vol. 44, No. 14. — P. 5267–5284.
112. Yao X. Cell biology of acid secretion by the parietal cell. / X. Yao, J. G. Forte // *Annual review of physiology.* — 2003. — Vol. 65. — P. 103–131.
113. Rabon E. C. The mechanism and structure of the gastric H, K-ATPase / E. C. Rabon, M. A. Reuben // *Annual Review of Physiology.* — 1990. — Vol. 52, No. 1. — P. 321–344.
114. The renal H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPases: physiology, regulation, and structure / M. L. Gumz, I. J. Lynch, M. M. Greenlee [et al.] // *American journal of physiology. Renal physiology.* — 2010. — Vol. 298, No. 1. — P. F12- F 21.
115. Belisario D. C. Purification and characterization of the ouabain-sensitive H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase from guinea-pig distal colon / D. C. Belisario, M. A. Rocafull, J. R. del Castillo // *Archives of biochemistry and biophysics.* — 2010. — Vol. 496, No. 1. — P. 21–32.
116. Phosphorylation of S955 at the protein kinase a consensus promotes

- maturation of the alpha subunit of the colonic H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup> -ATPase / J. Codina, J. Liu, A. J. Bleyer [et al.] // *Journal of the American Society of Nephrology: JASN*. — 2006. — Vol. 17, No. 7. — P. 1833–1840.
117. Munson K. Analysis of the membrane domain of the gastric H<sup>(+)</sup>/K<sup>(+)</sup>-ATPase/ K. Munson, N. Lambrecht, J. M. Shin, G. Sachs // *The Journal of experimental biology*. — 2000. — Vol. 203, No.1. — P. 161–170.
118. Shull G. E. Molecular cloning of the rat stomach (H<sup>+</sup> K<sup>+</sup>)-ATPase / G. E. Shull, J. B. Lingrel // *The Journal of biological chemistry*. — 1986. — Vol. 261, No. 36. — P. 16788–16891.
119. Shull G. E. Cdna cloning of the beta-subunit of the rat gastric H,K-ATPase / G. E. Shull // *The Journal of biological chemistry*. — 1990. — Vol. 265, No. 21. — P. 12123–12126.
120. Shin J. M. Gastric H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase / J. M. Shin, K. Munson, G. Sachs // *Comprehensive Physiology*. — 2011. — Vol. 1, No. 4. — P. 2141–2153.
121. An amino acid transporter involved in gastric acid secretion / P. Kirchhoff, M. H. Dave, C. Remy [et al.] // *Pflugers Archiv: European journal of physiology*. — 2006. — Vol. 451, No. 6. — P. 738–748.
122. Лопина О. Д. Молекулярные механизмы регуляции секреции соляной кислоты слизистой оболочки желудка / О. Д. Лопина, А. А. Котлобай, А. Рубцов // *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. — 1997. — No. 6. — с. 15–19.
123. Sugimoto Y. Prostaglandin E receptors / Y. Sugimoto, S. Narumiya // *The Journal of biological chemistry*. — 2007. — Vol. 282, No. 16. — P. 11613–11617.
124. Kulnigg-Dabsch S. Autoimmune gastritis/ S. Kulnigg-Dabsch // *Wiener medizinische Wochenschrift* . — 2016.-№166 (13-14).-p.424-430.
125. Reilly J. P. Safety profile of the proton-pump inhibitors. / J. P. Reilly // *American journal of health-system pharmacy*. — 1999. — Vol. 56, No. 23. — P. S11- S 17.

126. Sharma V. R. Effect of omeprazole on oral iron replacement in patients with iron deficiency anemia / V. R. Sharma, M. A. Brannon, E. A. Carloss // Southern medical journal. — 2004. — Vol. 97, No. 9. — P. 887–889.
127. The changing of serum vitamin B12 and homocysteine levels after gastrectomy in patients with gastric cancer: do they associate with clinicopathological factors? / A. Bilici, A. Sonkaya, S. Ercan [et al.] // Tumour biology. — 2015. — Vol. 36, No. 2. — P. 823–828.
128. Festen H. P. Intrinsic factor secretion and cobalamin absorption. Physiology and pathophysiology in the gastrointestinal tract / H. P. Festen // Scandinavian journal of gastroenterology. — 1991. — Vol. 188. — P. 1–7.
129. Vitamin B(12) deficiency after gastrectomy for gastric cancer: an analysis of clinical patterns and risk factors / Y. Hu, H.-I. Kim, W. J. Hyung[et al.] // Annals of surgery. — 2013. — Vol. 258, No. 6. — P. 970–5.
130. Koop H. Serum gastrin levels during long-term omeprazole treatment / H. Koop, M. Klein, R. Arnold // Alimentary pharmacology & therapeutics. — 1990. — Vol. 4, No. 2. — P. 131–138.
131. Dutta S. K. Vitamin B12 malabsorption and omeprazole therapy / S. K. Dutta // Journal of the American College of Nutrition. — 1994. — Vol. 13, No. 6. — P. 544–545.
132. Marcuard S. P. Omeprazole therapy causes malabsorption of cyanocobalamin (vitamin B12) / S. P. Marcuard, L. Albernaz, P. G. Khazanie // Annals of internal medicine. — 1994. — Vol. 120, No. 3. — P. 211–215.
133. Effect of hypochlorhydria due to omeprazole treatment or atrophic gastritis on protein-bound vitamin B12 absorption / J. R. Saltzman, J. A. Kemp, B. B. Golner [et al.] // Journal of the American College of Nutrition. — 1994. — Vol. 13, No. 6. — P. 584–591.
134. Effect of long-term gastric acid suppressive therapy on serum vitamin B12 levels in patients with Zollinger-Ellison syndrome / B. Termanini, F. Gibril, V. E. Sutliff [et al.] // The American journal of medicine. — 1998. — Vol. 104,

- No. 5. — P. 422–430.
135. Festen H. Malabsorption of protein-bound but not unbound cobalamin during treatment with omeprazole / H. Festen, J. Tertoolen // *Gastroenterology*. — 1988.- P. 66-68.
136. Effect of short- and long-term treatment with omeprazole on the absorption and serum levels of cobalamin / B. E. Schenk, H. P. Festen, E. J. Kuipers [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 1996. — Vol. 10, No. 4. — P. 541–545.
137. Toh B. H. The causative H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase antigen in the pathogenesis of autoimmune gastritis / B. H. Toh, J. W. Sentry, F. Alderuccio // *Immunology today*. — 2000. — Vol. 21, No. 7. — P. 348–354.
138. Linder L. Drug-induced vitamin B12 deficiency: a focus on proton pump inhibitors and histamine-2 antagonists. / L. Linder, C. Tamboue, J. N. Clements // *Journal of pharmacy practice*. — 2016.,-Vol.2.-p.11-15.
139. Maton P. N. Long-term efficacy and safety of omeprazole in patients with Zollinger-Ellison syndrome: a prospective study / P. N. Maton, R. Vinayek, H. Frucht // *Gastroenterology*. — 1989. — Vol. 97, No. 4. — P. 827–836.
140. Koop H. Serum iron, ferritin, and vitamin B12 during prolonged omeprazole therapy / H. Koop, M. G. Bachem // *Journal of clinical gastroenterology*. — 1992. — Vol. 14, No. 4. — P. 288–292.
141. Valuck R. J. A case-control study on adverse effects: H<sub>2</sub> blocker or proton pump inhibitor use and risk of vitamin B12 deficiency in older adults / R. J. Valuck, J. M. Ruscin // *Journal of clinical epidemiology*. — 2004. — Vol. 57, No. 4. — P. 422–428.
142. Degnan P. H. Vitamin B12 as a modulator of gut microbial ecology / P. H. Degnan, M. E. Taga, A. L. Goodman // *Cell Metabolism*. — 2014. — Vol. 20, No. 5. — P. 769–778.
143. Iron absorption in patients with Zollinger-Ellison syndrome treated with long-term gastric acid antisecretory therapy / C. A. Stewart, B. Termanini, V. E.

- Sutliff [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 1998. — Vol. 12, No. 1. — P. 83–98.
144. Prevalence of cobalamin deficiency in the framingham elderly population / J. Lindenbaum, I. H. Rosenberg, P. W. Wilson [et al.] // *The American journal of clinical nutrition*. — 1994. — Vol. 60, No. 1. — P. 2–11.
145. Wolters M. Cobalamin: a critical vitamin in the elderly / M. Wolters, A. Ströhle, A. Hahn // *Preventive medicine*. — 2004. — Vol. 39, No. 6. — P. 1256–1266.
146. Mitchell S. L. The association between antiulcer medication and initiation of cobalamin replacement in older persons / S. L. Mitchell, K. Rockwood // *Journal of clinical epidemiology*. — 2001. — Vol. 54, No. 5. — P. 531–534.
147. Sagar M. Effect of CYP2c19 polymorphism on serum levels of vitamin B12 in patients on long-term omeprazole treatment/ M. Sagar, I. Janczewska, A. Ljungdahl // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 1999. — Vol. 13, No. 4. — P. 453–458.
148. Atrophic gastritis during long-term omeprazole therapy affects serum vitamin B12 levels / B. E. Schenk, E. J. Kuipers, E. C. Klinkenberg-Knol [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 1999. — Vol. 13, No. 10. — P. 1343–1346.
149. Bezwoda W. The importance of gastric hydrochloric acid in the absorption of nonheme food iron / W. Bezwoda, R. Charlton, T. Bothwell // *The Journal of laboratory and clinical medicine*. — 1978. — Vol. 92, No. 1. — P. 108–116.
150. Bellou A. Cobalamin deficiency with megaloblastic anaemia in one patient under long-term omeprazole therapy / A. Bellou, I. Aimone-Gastin, J. D. De Korwin // *Journal of internal medicine*. — 1996. — Vol. 240, No. 3. — P. 161–164.
151. Ruscin J. M. Vitamin B(12) deficiency associated with histamine(2)-receptor antagonists and a proton-pump inhibitor / J. M. Ruscin, R. L. Page, R. J. Valuck // *The Annals of pharmacotherapy*. — 2002. — Vol. 36, No. 5. — P.

- 812–816.
152. Conrad M. E. Iron absorption / M. E. Conrad // *Physiology of the gastrointestinal tract*, 2nd ed. Ed. — 1987.-p.1437-1453.
153. Rucker R. B. Intestinal absorption of nutritionally important trace elements / R. B. Rucker, B. Lonnerdal, C. L. Keen // *Physiology of the gastrointestinal tract*, 3rd edn. — 1994. — P. 2183–2202.
154. Golubov J. Inhibition of iron absorption by omeprazole in rat model / J. Golubov, P. Flanagan, P. Adams // *Digestive diseases and sciences*. — 1991. — Vol. 36, No. 4. — P. 405–408.
155. Сенин С. А. Микроэлементный баланс в слизистой оболочке желудка крыс в условиях длительной гипоацидности / С. А. Сенин, А. А. Макаров, Т. В. Береговая, Л. И. Остапченко // *Микроэлементы в медицине*. — 2011. — Т. 12, No. 3–4. — С. 86–87.
156. Smith J. T. Tolerance during 8 days of high-dose H<sub>2</sub>-blockade: placebo-controlled studies of 24-hour acidity and gastrin / J. T. Smith, C. Gavey, C. U. Nwokolo, R. E. Pounder // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 1990. — Vol. 4 Suppl 1. — P. 47–63.
157. Gillen D. Problems associated with the clinical use of proton pump inhibitors / D. Gillen, K. E. McColl // *Pharmacology & toxicology*. — 2001. — Vol. 89, No. 6. — P. 281–286.
158. Qvigstad G. Rebound hypersecretion after inhibition of gastric acid secretion / G. Qvigstad, H. Waldum // *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. — 2004. — Vol. 94, No. 5. — P. 202–208.
159. Obesity alters gut microbial ecology / R. E. Ley, F. Bäckhed, P. Turnbaugh [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2005. — Vol. 102, No. 31. — P. 11070–11075.
160. Early effects of oral administration of omeprazole and roxatidine on intragastric pH / H. Iida, S. Kato, Y. Sekino [et al.] // *Journal of Zhejiang University. Science. B*. — 2012. — Vol. 13, No. 1. — P. 29–34.

161. Хавкин А. И. Перспективы применения ингибиторов протонной помпы в педиатрии / А. И. Хавкин, Н. С. Рачкова, Н. С. Жихарева, З. К. Ханакаева // *Русский медицинский журнал*. — 2003. — Т. 11, No. 5. — С. 2–11.
162. Голофеевский, В.Ю Иноземцев С. Сравнительные представления о фармакологии ингибиторов протоной помпы и новые данные об их эффективности / С. Голофеевский, В.Ю Иноземцев, С. И. Ситкин // *Журнал гастроэнтерологии*. — 2006. — No. 1–2. — С. 2–4.
163. Ивашкин В. Т. Эффективность нового ингибитора протонной помпы париета при лечении гастроэзофагальной рефлюксной болезни / В. Т. Ивашкин, Н. Ю. Трухманов, А.С. Ивашкина // *Росс. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. — 2000. — No. 5. — С. 47–49.
164. Randomized, parallel, double-blind comparison of the ulcer-healing effects of ilaprazole and omeprazole in the treatment of gastric and duodenal ulcers / K. Y. Ho, A. Kuan, F. Zaño [et al.] // *Journal of gastroenterology*. — 2009. — Vol. 44, No. 7. — P. 697–707.
165. Васильев Ю. В. Ингибиторы протонного насоса / Ю. В. Васильев // *Журнал «Лечащий врач»*. — 2007. — No. 1. — С. 5–7.
166. Ekundayo A. A. Gastrin and the growth of the gastrointestinal tract / A. A. Ekundayo, C. Y. Lee, R. A. Goodlad // *Gut*. — 1995. — Vol. 36, No. 2. — P. 203–208.
167. Long-term proton pump induced hypergastrinaemia does induce lineage-specific restitution but not clonal expansion in benign Barrett's oesophagus in vivo / J. A. Obszynska, P. A. Atherfold, M. Nanji [et al.] // *Gut*. — 2010. — Vol. 59, No. 2. — P. 156–163.
168. Edkins J. S. The chemical mechanism of gastric secretion / J. S. Edkins // *The Journal of Physiology*. — 1905. — Vol. 34, No. 1–2. — P. 133–144.
169. Komarov S. A. Gastrin / S. A. Komarov // *Proc. Roy. Soc. Biol. Med.* — 1938. — Vol. 38. — P. 514–516.

170. Komarov S. A. Studies of gastrin. Physiological properties of a specific gastric secretagogue of the pyloric mucous membrane / S. A. Komarov // *Rev. Canad. Biol.* — Vol. 1. — P. 377.
171. Komarov S. A. Studies of gastrin i. methods of isolation of a specific gastric secretagogue from the pyloric mucous membrane and its chemical properties / S. A. Komarov // *Rev. Canad. Biol.* — Vol. 1. — P. 377.
172. Anderson J. C. Synthesis of gastrin / J. C. Anderson, M. A. Barton, R. A. Gregory [et al.] // *Nature.* — 1964. — Vol. 204. — P. 933–934.
173. Gregory R. A. The constitution and properties of two gastrins extracted from hog antral mucosa / R. A. Gregory, H. J. Tracy // *Gut.* — 1964. — Vol. 5. — P. 103–114.
174. Kenner G. W. Phenyl esters for c-terminal protection in peptide synthesis / G. W. Kenner, J. H. Seely // *Journal of the American Chemical Society.* — 1972. — Vol. 94, No. 9. — P. 3259–3260.
175. Morley J. S. Structure--function relationships in gastrin-like peptides / J. S. Morley // *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences.* — 1968. — Vol. 170, No. 1018. — P. 97–111.
176. Pisegna J. R. Molecular cloning of the human brain and gastric cholecystokinin receptor: structure, functional expression and chromosomal localization / J. R. Pisegna, A. de Weerth, K. Huppi, S. A. Wank // *Biochemical and biophysical research communications.* — 1992. — Vol. 189, No. 1. — P. 296–303.
177. Localization of the human cholecystokinin-B/gastrin receptor gene (CCKBR) to chromosome 11 by fluorescence in situ hybridization / D. B. Zimonjic, N. C. Popescu, T. Matsui [et al.] // *Cytogenetics and cell genetics.* — 1994. — Vol. 65, No. 3. — P. 184–185.
178. Localization of the gene for atp citrate lyase (ACLY) distal to gastrin(GAS) and proximal to D17S856 on chromosome 17 / F. J. Couch, K. J. Abel, L. C. Brody [et al.] // *Genomics.* — 1994. — Vol. 21, No. 2. — P. 444–446.

179. Lamberts R. Long-term omeprazole therapy in peptic ulcer disease: gastrin, endocrine cell growth, and gastritis / R. Lamberts, W. Creutzfeldt, H. G. Strüber // *Gastroenterology*. — 1993. — Vol. 104, No. 5. — P. 1356–1370.
180. Gregory R. A. Isolation of two minigastrins from Zollinger-Ellison tumour tissue / R. A. Gregory, H. J. Tracy // *Gut*. — 1974. — Vol. 15, No. 9. — P. 683–685.
181. Hakanson R. The stomach as an endocrine organ / R. Hakanson, F. Sundler. — Elsevier.- 1991. — 547 p.
182. Гаев Б. А. Гастрин / Б. А. Гаев, А. А. Саркисян // *Сборник научных трудов*.- 1977. — No. 2. — С. 13–19.
183. Фокина А. А. К физиологическому анализу действия гастрина на органы желудочно-кишечного тракта / А. А. Фокина, Н. С. Павлова // *Журнал общей биологии*.-1976. — Т. 62, No. 2. — С. 5–18.
184. Илинич В. К. Современное состояние проблемы гастрина: научный обзор / В. К. Илинич, О. С. Радбиль. — Москва. : 1979. — 60 с.
185. Berson S. A. Nature of immunoreactive gastrin extracted from tissues of gastrointestinal tract/ S. A. Berson, R. S. Yllow // *Gastroenterology*. — 1971. — Vol. 60, No. 2. — P. 215–222.
186. Dockray G. J. Evolution of secretin-like hormones / G. J. Dockray // *In Gut hormones*. — 1978. — P. 64–67.
187. Rehfeld J. F. Progastrin processing differs in 7B2 and PC2 knockout animals: a role for 7B2 independent of action on PC2 / J. F. Rehfeld, I. Lindberg, L. Friis-Hansen // *FEBS letters*. — 2002. — Vol. 510, No. 1–2. — P. 89–93.
188. Prohormone convertases 1/3 and 2 together orchestrate the site-specific cleavages of progastrin to release gastrin-34 and gastrin-17 / J. F. Rehfeld, X. Zhu, C. Norrbom [et al.] // *The Biochemical journal*. — 2008. — Vol. 415, No. 1. — P. 35–43.
189. Friis-Hansen L. Impaired feedback of gastric functions in carboxypeptidase E-deficient mice / L. Friis-Hansen, J. F. Rehfeld // *Biochemical and*

- biophysical research communications. — 2000. — Vol. 267, No. 2. — P. 638–642.
190. Dockray G. Gastrin: old hormone, new functions / G. Dockray, R. Dimaline, A. Varro // *Pflugers Archiv: European journal of physiology*. — 2005. — Vol. 449, No. 4. — P. 344–355.
191. Rehfeld J. F. The posttranslational phase of gene expression: new possibilities in molecular diagnosis / J. F. Rehfeld, J. P. Goetze // *Current molecular medicine*. — 2003. — Vol. 3, No. 1. — P. 25–38.
192. McGuigan J. E. Antibodies to gastrin / J. E. McGuigan // *Federation proceedings*. — Vol. 27, No. 6. — P. 1337–1340.
193. Solcia E. Cytologic observations on the pancreatic islets with reference to some endocrine-like cells of the gastrointestinal mucosa / E. Solcia, R. Sampietro // *Zeitschrift fur Zellforschung und mikroskopische Anatomie*. — 1965. — Vol. 68, No. 5. — P. 689–698.
194. Sun F.-P. G and d cells in rat antral mucosa: an immunoelectron microscopic study/ F.-P. Sun, Y.-G. Song // *World journal of gastroenterology*. — 2003. — Vol. 9, No. 12. — P. 2768–2771.
195. Климов П. К. Пептиды и пищеварительная система / П. К. Климов. — Л.: Наука, 1983. — 272 с.
196. Громов Л. А. Нейропептиды / Л. А. Громов. — К.: Здоровье, 1992. — 248 с.
197. Аруин А. И. Хронический гастрит / А. И. Аруин, П. Я. Григорьев, В. А. Исаков, С. П. Яковенко. — Амстердам : 1993. — 18-64 с.
198. Vanderhaeghen J. J. New peptide in the vertebrate CNS reacting with antigastrin antibodies / J. J. Vanderhaeghen, J. C. Signeau, W. Gepts // *Nature*. — 1975. — Vol. 257, No. 5527. — P. 604–605.
199. Rehfeld J. F. Gastrin and cholecystokinin in human cerebrospinal fluid. immunochemical determination of concentrations and molecular heterogeneity / J. F. Rehfeld, C. Kruse-Larsen // *Brain research*. — 1978. — Vol. 155, No. 1.

- P. 19–26.
200. Rehfeld J. F. Localisation of gastrins to neuro- and adenohypophysis / J. F. Rehfeld // *Nature*. — 1978. — Vol. 271, No. 5647. — P. 771–773.
201. In vivo analysis of mouse gastrin gene regulation in enhanced GFP-bac transgenic mice / S. Takaishi, W. Shibata, H. Tomita [et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. — 2011. — Vol. 300, No. 2. — P. G334- G 344.
202. Purification, molecular cloning, and functional expression of the cholecystokinin receptor from rat pancreas / S. A. Wank, R. Harkins, R. T. Jensen [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1992. — Vol. 89, No. 7. — P. 3125–3129.
203. Expression cloning and characterization of the canine parietal cell gastrin receptor / A. S. Kopin, Y. M. Lee, E. W. McBride [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1992. — Vol. 89, No. 8. — P. 3605–3609.
204. Seva C. Growth-promoting effects of glycine-extended progastrin / C. Seva, C. J. Dickinson, T. Yamada // *Science (New York, N.Y.)*. — 1994. — Vol. 265, No. 5170. — P. 410–412.
205. Koh T. J. Gastrin as a growth factor in the gastrointestinal tract / T. J. Koh, D. Chen // *Regulatory peptides*. — 2000. — Vol. 93, No. 1–3. — P. 37–44.
206. Calcium-sensing receptor is a physiologic multimodal chemosensor regulating gastric G-cell growth and gastrin secretion / J. Feng, C. D. Petersen, D. H. Coy [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2010. — Vol. 107, No. 41. — P. 17791–17796.
207. Immunolocalization of gastrin-dependent histidine decarboxylase activity in rat gastric mucosa during feeding / G. V Ohning, M. Song, H. C. Wong [et al.] // *The American journal of physiology*. — 1998. — Vol. 275, No. 4 Pt 1. — P. G660- G 667.
208. Lichtenberger L. M. Amine trapping: physical explanation for the inhibitory

- effect of gastric acidity on the postprandial release of gastrin. studies on rats and dogs / L. M. Lichtenberger, A. A. Nelson, L. A. Graziani // *Gastroenterology*. — 1986. — Vol. 90, No. 5 Pt 1. — P. 1223–1231.
209. Lichtenberger L. M. Importance of food in the regulation of gastrin release and formation / L. M. Lichtenberger // *The American journal of physiology*. — 1982. — Vol. 243, No. 6. — P. G429- G 441.
210. Quinn S. J. Ph sensing by the calcium-sensing receptor / S. J. Quinn, M. Bai, E. M. Brown // *The Journal of biological chemistry*. — 2004. — Vol. 279, No. 36. — P. 37241–37249.
211. Busque S. M. L-type amino acids stimulate gastric acid secretion by activation of the calcium-sensing receptor in parietal cells / S. M. Busque, J. E. Kerstetter, J. P. Geibel, K. Insogna // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. — 2005. — Vol. 289, No. 4. — P. G664- G 669.
212. Feng J. The calcium-sensing receptor (CASR) mediates meal stimulated gastrin secretion / J. Feng, M. Lu, S. Anthony // *Gastroenterology*. — 2007. — Vol. 32. — P. 101.
213. Zhang Z. Factors affecting the serum gastrin 17 level: an evidence-based analysis of 3906 serum samples among chinese / Z. Zhang, L. Ping Sun, Y. H. Gong // *Journal of digestive diseases*. — 2007. — Vol. 8, No. 2. — P. 72–76.
214. Nilsson G. Plasma gastrin and gastric acid responses to sham feeding and feeding in dogs / G. Nilsson, J. Simon, R. S. Yalow, S. A. Berson // *Gastroenterology*. — 1972. — Vol. 63, No. 1. — P. 51–59.
215. Walsh J. H. Gastrin (first of two parts) / J. H. Walsh, M. I. Grossman // *The New England journal of medicine*. — 1975. — Vol. 292, No. 25. — P. 1324–1334.
216. Walsh J. H. Gastrin (second of two parts) / J. H. Walsh, M. I. Grossman // *The New England journal of medicine*. — 1975. — Vol. 292, No. 26. — P. 1377–1384.

217. Smith V. C. The innervation of the human antro-pyloric region: organization and composition / V. C. Smith, N. Dhatt, A. M. Buchan // Canadian journal of physiology and pharmacology. — 2001. — Vol. 79, No. 11. — P. 905–918.
218. Mulholland M. W. Central nervous system inhibition of pentagastrin-stimulated acid secretion by insulin-like growth factor / M. W. Mulholland, H. T. Debas // Life sciences. — 1988. — Vol. 42, No. 21. — P. 2091–2096.
219. Maslen G. L. Comparative mapping of the grpr locus on the X chromosomes of man and mouse / G. L. Maslen, Y. Boyd // Genomics. — 1993. — Vol. 17, No. 1. — P. 106–109.
220. The fifth transmembrane segment of the neuromedin B receptor is critical for high affinity neuromedin B binding / Z. Fathi, R. V Benya, H. Shapira[et al.] // The Journal of biological chemistry. — 1993. — Vol. 268, No. 20. — P. 14622–14626.
221. Johnson L. R. Physiologi of the gastrointestinal tract / L. R. Johnson. — Raven Press, 1983. — 705 p.
222. Regulation of gastric function by endogenous gastrin releasing peptide in humans: studies with a specific gastrin releasing peptide receptor antagonist/ P. Hildebrand, F. S. Lehmann, S. Ketterer[et al.] // Gut. — 2001. — Vol. 49, No. 1. — P. 23–28.
223. Dockray G. J. Topical review. gastrin and gastric epithelial physiology / G. J. Dockray // The Journal of physiology. — 1999. — Vol. 518 ,Pt 2. — P. 315–324.
224. Amer M. S. Studies with cholecystokinin cholecystokinetic potency of porcine gastrins i and ii and related peptides in three systems / M. S. Amer // Endocrinology. — 1969. — Vol. 84, No. 5. — P. 1277–1281.
225. Sandvik A. K. Gastrin regulates histidine decarboxylase activity and abundance in rat oxyntic mucosa / A. K. Sandvik, R. Dimaline, R. Mårvik // The American journal of physiology. — 1994. — Vol. 267, No. 2 Pt 1. — P. G254- G 258.

226. Hermansen K. Gastrin releasing peptide stimulates the secretion of insulin, but not that of glucagon or somatostatin, from the isolated perfused dog pancreas / K. Hermansen, B. Ahrén // *Acta physiologica Scandinavica*. — 1990. — Vol. 138, No. 2. — P. 175–179.
227. Johnson L. R. Effect of gastrin on the in vivo incorporation of <sup>14</sup>C-leucine into protein of the digestive tract / L. R. Johnson, D. Aures, R. Hakanson // *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. Society for Experimental Biology and Medicine . — 1969. — Vol. 132, No. 3. — P. 996–998.
228. Crean G. P. Parietal cell hyperplasia induced by the administration of pentagastrin (ICI 50,123) to rats / G. P. Crean, M. W. Marshall, R. D. Rumsey // *Gastroenterology*. — 1969. — Vol. 57, No. 2. — P. 147–155.
229. A prospective study of gastric carcinoids and enterochromaffin-like cell changes in multiple endocrine neoplasia type 1 and Zollinger-Ellison syndrome: identification of risk factors/ M. J. Berna, B. Annibale, M. Marignani[et al.] // *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. — 2008. — Vol. 93, No. 5. — P. 1582–1591.
230. Gastrin stimulates the growth of gastric pit cell precursors by inducing its own receptors/ T. Nakajima, Y. Konda, Y. Izumi [et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. — 2002. — Vol. 282, No. 2. — P. G359- G 366.
231. Waldum H. L. Gastrin-histamine sequence in the regulation of gastric acid secretion / H. L. Waldum, A. K. Sandvik, E. Brenna, H. Petersen // *Gut*. — 1991. — Vol. 32, No. 6. — P. 698–701.
232. Soll A. H. The isolation and characterization of fundic endocrine cells / A. H. Soll, C.-N. Chuang, M. C. Y. Chen. — Amsterdam: : Elsevier Science, 1991. — 71–78 p.
233. Chuang C. N. Gastrin induction of histamine release from primary cultures of canine oxyntic mucosal cells / C. N. Chuang, M. Tanner, M. C. Chen // *The*

- American journal of physiology. — 1992. — Vol. 263, No. 4 Pt 1. — P. G460- G 465.
234. Histamine secretion from rat enterochromaffinlike cells / C. Prinz, M. Kajimura, D. R. Scott [et al.] // *Gastroenterology*. — 1993. — Vol. 105, No. 2. — P. 449–461.
235. Gastrin effects on isolated rat enterochromaffin-like cells in primary culture / C. Prinz, D. R. Scott, D. Hurwitz [et al.] // *The American journal of physiology*. — 1994. — Vol. 267, No. 4 Pt 1. — P. G663- G 675.
236. The mechanism of histamine secretion from gastric enterochromaffin-like cells / C. Prinz, R. Zanner, M. Gerhard [et al.] // *The American journal of physiology*. — 1999. — Vol. 277, No. 5 Pt 1. — P. C845- C 855.
237. Zeng N. Selective ligand-induced intracellular calcium changes in a population of rat isolated gastric endocrine cells / N. Zeng, J. H. Walsh, T. Kang // *Gastroenterology*. — 1996. — Vol. 110, No. 6. — P. 1835–1846.
238. Sachs G. Physiology of isolated gastric endocrine cells / G. Sachs, N. Zeng, C. Prinz // *Annual review of physiology*. — 1997. — Vol. 59. — P. 243–256.
239. Kitano M. Gastric submucosal microdialysis: a method to study gastrin- and food-evoked mobilization of ECL-cell histamine in conscious rats / M. Kitano, P. Norlén, R. Håkanson // *Regulatory peptides*. — 2000. — Vol. 86, No. 1–3. — P. 113–123.
240. Hansen O. H. Effect of gastrin on gastric mucosal cell proliferation in man / O. H. Hansen, T. Pedersen, J. K. Larsen, J. F. Rehfeld // *Gut*. — 1976. — Vol. 17, No. 7. — P. 536–541.
241. Henwood M. Expression of gastrin in developing gastric adenocarcinoma / M. Henwood, P. A. Clarke, A. M. Smith, S. A. Watson // *The British journal of surgery*. — 2001. — Vol. 88, No. 4. — P. 564–568.
242. Thomas R. P. Role of gastrointestinal hormones in the proliferation of normal and neoplastic tissues/ R. P. Thomas, M. R. Hellmich, C. M. Townsend // *Endocrine reviews*. — 2003. — Vol. 24, No. 5. — P. 571–599.

243. Успенский В. М. Трофический эффект пентагастрина на слизистую оболочку желудка и двенадцатиперстной кишки / В. М. Успенский, В. Б. Триневич, А. А. Фокина // Физиологический журнал. — 1977. — Т. 63, No. 9. — С. 4–9.
244. Processing and proliferative effects of human progastrin in transgenic mice / T. C. Wang, T. J. Koh, A. Varro [et al.] // The Journal of clinical investigation. — 1996. — Vol. 98, No. 8. — P. 1918–1929.
245. Brown D. Pp60c-SRC kinase mediates growth effects of the full-length precursor progastrin1-80 peptide on rat intestinal epithelial cells, in vitro. / D. Brown, U. Yallampalli, A. Owlia, P. Singh // Endocrinology. — 2003. — Vol. 144, No. 1. — P. 201–211.
246. Smith J. P. The functional significance of the cholecystokinin-C (CCK-c) receptor in human pancreatic cancer / J. P. Smith, W. B. Stanley, M. F. Verderame // Pancreas. — 2004. — Vol. 29, No. 4. — P. 271–277.
247. Smith A. M. Review article: gastrin and colorectal cancer / A. M. Smith, S. A. Watson // Alimentary pharmacology & therapeutics. — 2000. — Vol. 14, No. 10. — P. 1231–1247.
248. COOH-terminal 26-amino acid residues of progastrin are sufficient for stimulation of mitosis in murine colonic epithelium in vivo / P. D. Ottewell, A. Varro, G. J. Dockray [et al.] // American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology. — 2005. — Vol. 288, No. 3. — P. G541- G 549.
249. Berna M. J. Role of CCK/gastrin receptors in gastrointestinal/metabolic diseases and results of human studies using gastrin/cck receptor agonists/antagonists in these diseases / M. J. Berna, R. T. Jensen // Current topics in medicinal chemistry. — 2007. — Vol. 7, No. 12. — P. 1211–1231.
250. Ferrand A. Signaling pathways associated with colonic mucosa hyperproliferation in mice overexpressing gastrin precursors / A. Ferrand, C. Bertrand, G. Portolan / Cancer research. — 2005. — Vol. 65, No. 7. — P.

2770–2777.

251. Inactivating cholecystokinin-2 receptor inhibits progastrin-dependent colonic crypt fission, proliferation, and colorectal cancer in mice / G. Jin, V. Ramanathan, M. Quante [et al.] // *Journal of Clinical Investigation*. — 2009. — Vol. 119, No. 9. — P. 5–26.
252. Stepan V. M. Gastrin induces C-Fos gene transcription via multiple signaling pathways / V. M. Stepan, M. Tatewaki, M. Matsushima // *The American journal of physiology*. — 1999. — Vol. 276, No. 2 Pt 1. — P. G415- G 424.
253. Molecular mechanisms for the growth factor action of gastrin / A. Todisco, Y. Takeuchi, A. Urumov [et al.] // *The American journal of physiology*. — 1997. — Vol. 273, No. 4. — P. G891- G 898.
254. TNF-alpha and interleukin 1 activate gastrin gene expression via MAPK- and PKC-dependent mechanisms / T. Suzuki, E. Grand, C. Bowman [et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. — 2001. — Vol. 281, No. 6. — P. G1405- G 1412.
255. Chang A. J. Attenuation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) mediates gastrin-stimulated colorectal cancer cell proliferation / A. J. Chang, D. H. Song, M. M. Wolfe // *The Journal of biological chemistry*. — 2006. — Vol. 281, No. 21. — P. 14700–14710.
256. Genini D. Multiple interactions between peroxisome proliferators-activated receptors and the ubiquitin-proteasome system and implications for cancer pathogenesis. [Электронный ресурс] / D. Genini, G. M. Carbone, C. V. Catapano // *PPAR research*. — 2008. — Vol. 2008. Режим доступа:<http://www.hindawi.com/journals/PPAR/2008/195065> .
257. Sekikawa A. Possible role of reg ialpha protein in ulcerative colitis and colitic cancer / A. Sekikawa, H. Fukui, S. Fujii // *Gut*. — 2005. — Vol. 54, No. 10. — P. 1437–1444.
258. Fukui H. Regenerating gene protein may mediate gastric mucosal proliferation induced by hypergastrinemia in rats / H. Fukui, Y. Kinoshita, T.

- Maekawa // *Gastroenterology*. — 1998. — Vol. 115, No. 6. — P. 1483–1493.
259. Berman D. M. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours / D. M. Berman, S. S. Karhadkar, A. Maitra [et al.] // *Nature*. — 2003. — Vol. 425, No. 6960. — P. 846–851.
260. Zavros Y. Gastrin-induced pepsinogen regulates Sonic Hedgehog processing and prevents gastric atrophy / Y. Zavros // *Gastroenterology*. — 2006. — Vol. 130. — P. 17.
261. Blackmore M. Autocrine stimulation of growth of AR4-2J rat pancreatic tumour cells by gastrin. / M. Blackmore, B. H. Hirst // *British journal of cancer*. — 1992. — Vol. 66, No. 1. — P. 32–8.
262. Bachwich D. Identification of a CIS-regulatory element mediating somatostatin inhibition of epidermal growth factor-stimulated gastrin gene transcription / D. Bachwich, J. Merchant, S. J. Brand // *Molecular endocrinology*. — 1992. — Vol. 6, No. 8. — P. 1175–1184.
263. Guidelines for the management of gastroenteropancreatic neuroendocrine (including carcinoid) tumours (nets) / J. K. Ramage, A. Ahmed, J. Ardill [et al.] // *Gut*. — 2012. — Vol. 61, No. 1. — P. 6–32.
264. Lahner E. Pernicious anemia: new insights from a gastroenterological point of view / E. Lahner, B. Annibale // *World journal of gastroenterology*. — 2009. — Vol. 15, No. 41. — P. 5121–5128.
265. Klöppel G. The biological relevance of gastric neuroendocrine tumors / G. Klöppel, A. Clemens // *The Yale journal of biology and medicine*. — Vol. 69, No. 1. — P. 69–74.
266. Gastrin increases its own synthesis in gastrointestinal cancer cells via the CCK2 receptor / S. Kovac, L. Xiao, A. Shulkes [et al.] // *FEBS letters*. — 2010. — Vol. 584, No. 21. — P. 4413–4418.
267. Broutet N. Pepsinogen a, pepsinogen C, and gastrin as markers of atrophic chronic gastritis in european dyspeptics / N. Broutet, M. Plebani, C. Sakarovitch // *British journal of cancer*. — 2003. — Vol. 88, No. 8. — P.

- 1239–1247.
268. Iijima K. Serum biomarker tests are useful in delineating between patients with gastric atrophy and normal, healthy stomach / K. Iijima, Y. Abe, R. Kikuchi // *World journal of gastroenterology*. — 2009. — Vol. 15, No. 7. — P. 853–859.
269. Baldwin G. S. The role of gastrin and cholecystokinin in normal and neoplastic gastrointestinal growth / G. S. Baldwin // *Journal of gastroenterology and hepatology*. — Vol. 10, No. 2. — P. 215–232.
270. Baldwin G. S. Gastrin, gastrin receptors and colorectal carcinoma / G. S. Baldwin, A. Shulkes // *Gut*. — 1998. — Vol. 42, No. 4. — P. 581–584.
271. Peghini P. L. Effect of chronic hypergastrinemia on human enterochromaffin-like cells: insights from patients with sporadic gastrinomas / P. L. Peghini, B. Annibale, C. Azzoni // *Gastroenterology*. — 2002. — Vol. 123, No. 1. — P. 68–85.
272. Hypergastrinaemia produces trophic effects in stomach but not in pancreas and intestines / R. Håkanson, H. Blom, E. Carlsson [et al.] // *Regulatory peptides*. — 1986. — Vol. 13, No. 3–4. — P. 225–233.
273. Håkanson R. Hypergastrinaemia evoked by omeprazole stimulates growth of gastric mucosa but not of pancreas or intestines in hamster, guinea pig and chicken / R. Håkanson, J. Axelson, R. Ekman // *Regulatory peptides*. — 1988. — Vol. 23, No. 1. — P. 105–115.
274. Baldwin G. S. The role of gastrin and cholecystokinin in normal and neoplastic gastrointestinal growth / G. S. Baldwin // *Journal of gastroenterology and hepatology*. — 1995. — Vol. 10, No. 2. — P. 215–232.
275. Differential expression of the CCK-A and CCK-B/gastrin receptor genes in human cancers of the esophagus, stomach and colon / P. Clerc, M. Dufresne, C. Saillan [et al.] // *International journal of cancer*. — 1997. — Vol. 72, No. 6. — P. 931–936.
276. The biological and therapeutic importance of gastrin gene expression in

- pancreatic adenocarcinomas / J. C. Harris, A. D. Gilliam, A. J. McKenzie [et al.] // *Cancer research*. — 2004. — Vol. 64, No. 16. — P. 5624–5631.
277. Morisset J. What are the pancreatic target cells for gastrin and its CCKB receptor? Is this a couple for cancerous cells? / J. Morisset, J. Lainé, M. Biernat, S. Julien // *Medical science monitor*: international medical journal of experimental and clinical research. — 2004. — Vol. 10, No. 10. — P. RA242- RA 246.
278. Caplin M. Effect of gastrin and anti-gastrin antibodies on proliferation of hepatocyte cell lines / M. Caplin, K. Khan, S. Grimes [et al.] // *Digestive diseases and sciences*. — 2001. — Vol. 46, No. 7. — P. 1356–1366.
279. Abdalla S. I. Gastrin-induced cyclooxygenase-2 expression in Barrett's carcinogenesis / S. I. Abdalla, P. Lao-Sirieix, M. R. Novelli [et al.] // *Clinical cancer research*: an official journal of the American Association for Cancer Research. — 2004. — Vol. 10, No. 14. — P. 4784–4792.
280. Moore T. C. Gastrin stimulates receptor-mediated proliferation of human esophageal adenocarcinoma cells / T. C. Moore, L. I. Jepeal, M. O. Boylan [et al.] // *Regulatory peptides*. — 2004. — Vol. 120, No. 1–3. — P. 195–203.
281. Shulkes A. Biology of gut cholecystinin and gastrin receptors / A. Shulkes, G. S. Baldwin // *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. — Vol. 24, No. 3–4. — P. 209–216.
282. Takhar A. S. The role of gastrin in colorectal carcinogenesis / A. S. Takhar, O. Eremin, S. A. Watson // *The surgeon: journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland*. — 2004. — Vol. 2, No. 5. — P. 251–7.
283. Smith A. M. Gastrin and gastrin receptor activation: an early event in the adenoma-carcinoma sequence / A. M. Smith, S. A. Watson // *Gut*. — 2000. — Vol. 47, No. 6. — P. 820–824.
284. Nieuwenhove Y. Van Gastrin stimulates epithelial cell proliferation in the oesophagus of rats / Y. Van Nieuwenhove, T. De Backer, D. Chen [et al.] // *Virchows Archiv: an international journal of pathology*. — 1998. — Vol. 432,

- No. 4. — P. 371–375.
285. Haigh C. R. Gastrin induces proliferation in Barrett's metaplasia through activation of the CCK2 receptor / C. R. Haigh, S. E. A. Attwood, D. G. Thompson // *Gastroenterology*. — 2003. — Vol. 124, No. 3. — P. 615–625.
286. Chu M. Effect of endogenous hypergastrinemia on gastrin receptor expressing human colon carcinoma transplanted to athymic rats / M. Chu, F. C. Nielsen, L. Franzén, A. M. Smith // *Gastroenterology*. — 1995. — Vol. 109, No. 5. — P. 1415–1420.
287. Rehfeld J. F. The tumor biology of gastrin and cholecystikinin / J. F. Rehfeld, W. W. van Solinge // *Advances in cancer research*. — 1994. — Vol. 63. — P. 295–347.
288. Baba M. Glycine-extended gastrin induces matrix metalloproteinase-1- and -3-mediated invasion of human colon cancer cells through type i collagen gel and matrigel / M. Baba, K. Itoh, M. Tatsuta // *International journal of cancer*. — 2004. — Vol. 111, No. 1. — P. 23–31.
289. Baldwin G. S. Gastrin as an autocrine growth factor in colorectal carcinoma: implications for therapy / G. S. Baldwin, A. Shulkes // *World journal of gastroenterology*. — 1998. — Vol. 4, No. 6. — P. 461–463.
290. Chronic endogenous hypergastrinemia in humans: evidence for a mitogenic effect on the colonic mucosa / I. Sobhani, T. Lehy, P. Laurent-Puig [et al.] // *Gastroenterology*. — 1993. — Vol. 105, No. 1. — P. 22–30.
291. Prolonged hypergastrinemia does not increase the frequency of colonic neoplasia in patients with Zollinger-Ellison syndrome / M. Orbuch, D. J. Venzon, I. A. Lubensky [et al.] // *Digestive diseases and sciences*. — 1996. — Vol. 41, No. 3. — P. 604–613.
292. Cancer risk following pernicious anaemia / L. A. Brinton, G. Gridley, Z. Hrubec [et al.] // *British journal of cancer*. — 1989. — Vol. 59, No. 5. — P. 810–813.
293. Creutzfeldt W. Is hypergastrinaemia dangerous to man? / W. Creutzfeldt, R.

- Lamberts // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 1991. — Vol. 180. — P. 179–191.
294. Effects of oral rabeprazole on oesophageal and gastric pH in patients with gastro-oesophageal reflux disease. / M. Robinson, P. N. Maton, S. Rodriguez [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 1997. — Vol. 11, No. 5. — P. 973–980.
295. Maton P. Risks of hypergastrinemia / P. Maton // *Dig. Dis. Sci.* — 1995. — Vol. 13. — P. 1–2.
296. Rectal cell proliferation and colon cancer risk in patients with hypergastrinaemia / M. Renga, G. Brandi, G. M. Paganelli [et al.] // *Gut*. — 1997. — Vol. 41, No. 3. — P. 330–332.
297. Prospective study of efficacy and safety of lansoprazole in Zollinger-Ellison syndrome / D. C. Metz, J. R. Pisegna, G. L. Ringham [et al.] // *Digestive diseases and sciences*. — 1993. — Vol. 38, No. 2. — P. 245–256.
298. Increased incidence of pancreatic neoplasia in pernicious anemia / K. Borch, E. Kullman, S. Hallhagen [et al.] // *World journal of surgery*. — 1988. — Vol. 12, No. 6. — P. 866–870.
299. Pernicious anemia and subsequent cancer. A population-based cohort study / A. W. Hsing, L. E. Hansson, J. K. McLaughlin [et al.] // *Cancer*. — 1993. — Vol. 71, No. 3. — P. 745–750.
300. Cancer of the upper gastrointestinal tract among patients with pernicious anemia: a case-cohort study / B. M. Karlson, A. Ekblom, S. Wacholder [et al.] // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2001. — Vol. 35, No. 8. — P. 847–851.
301. Ye W. Risk of cancers of the oesophagus and stomach by histology or subsite in patients hospitalised for pernicious anaemia / W. Ye, O. Nyrén // *Gut*. — 2003. — Vol. 52, No. 7. — P. 938–941.
302. Younes M. Can proton pump inhibitors be blamed for the rising incidence of esophageal cancer? / M. Younes // *Gastroenterology*. — 2003. — Vol. 125,

- No. 6. — P. 1912; author reply 1912-1913.
303. Fléjou J.-F. Barrett's oesophagus: from metaplasia to dysplasia and cancer / J.-F. Fléjou // *Gut*. — 2005. — Vol. 54 Suppl 1. — P. 6-12.
304. Buchan A. M. Regulatory peptides in Barrett's oesophagus / A. M. Buchan, S. Grant, H. J. Freeman // *The Journal of pathology*. — 1985. — Vol. 146, No. 3. — P. 227-234.
305. Activation of NFkappaB represents the central event in the neoplastic progression associated with barrett's esophagus: a possible link to the inflammation and overexpression of COX-2, ppargamma and growth factors / P. C. Konturek, A. Nikiforuk, J. Kania [et al.] // *Digestive diseases and sciences*. — 2004. — Vol. 49, No. 7-8. — P. 1075-1083.
306. Haigh C. An evaluation of a judgmental model of assessment for assessing clinical skills in MSC students / C. Haigh // *Nurse education in practice*. — 2003. — Vol. 3, No. 1. — P. 43-48.
307. Morris C. D. Cyclooxygenase-2 expression in the Barrett's metaplasia-dysplasia-adenocarcinoma sequence / C. D. Morris, G. R. Armstrong, G. Bigley // *The American journal of gastroenterology*. — 2001. — Vol. 96, No. 4. — P. 990-996.
308. Evenepoel P. Uremic toxins originating from colonic microbial metabolism / P. Evenepoel, B. K. I. Meijers, B. R. M. Bammens, K. Verbeke // *Kidney international* — 2009. — Vol. 76, No. 114. — P. S12- S19.
309. The effect of cimetidine on the gastric bacterial microflora / W. Ruddell, A. Axon, J. Findlay [et al.] // *Lancet*. — 1980. — P. 672-674.
310. Intra-gastric nitrites, nitrosamines, and bacterial overgrowth during cimetidine treatment / R. W. Stockbrugger, P. B. Cotton, N. Eugenides [et al.] // *Gut*. — 1982. — Vol. 23, No. 12. — P. 1048-1054.
311. Alteration of bile acid metabolism by cimetidine in healthy humans / K. Shindo, R. Yamazaki, K. Koide [et al.] // *Journal of investigative medicine: the official publication of the American Federation for Clinical Research*. — 1996.

- Vol. 44, No. 8. — P. 462–469.
312. Effect of cimetidine and antacid on gastric microbial flora / R. Snepar, G. A. Poporad, J. M. Romano [et al.] // *Infection and immunity*. — 1982. — Vol. 36, No. 2. — P. 518–524.
313. Intra-gastric bacterial activity and nitrosation before, during, and after treatment with omeprazole / B. K. Sharma, I. A. Santana, E. C. Wood [et al.] // *British medical journal*. — 1984. — Vol. 289, No. 6447. — P. 717–719.
314. Effect of omeprazole on intra-gastric bacterial counts, nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds / E. Verdu, F. Viani, D. Armstrong [et al.] // *Gut*. — 1994. — Vol. 35, No. 4. — P. 455–460.
315. Helicobacter pylori infection and gastric cancer — is eradication enough to prevent gastric cancer / A. Sokic-Milutinovic, D. Popovic, T. Alempijevic [et al.] // In: Roesler B, editor. *Trends in Helicobacter pylori infection*. — 2014. — P. 155–173.
316. Вплив мультипробіотиків на вміст інтерферону-гамма в сироватці крові щурів за умов тривалої гіпоацидності / О. Короткий, С. Пилипенко, І. Компанець [та інш.] // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка*. — 2009. — No. 54. — С. 47–49.
317. Studies on the influence of candida fungal colonization on the healing process of inflammatory lesions in the colon in rat animal model / M. Zwolińska-Wcisło, T. Brzozowski, A. Budak [et al.] // *Przegląd lekarski*. — 2007. — Vol. 64, No. 3. — P. 124–129.
318. Candida overgrowth after treatment of duodenal ulcer. a comparison of cimetidine, famotidine, and omeprazole / M. K. Goenka, R. Kochhar, A. Chakrabarti [et al.] // *Journal of clinical gastroenterology*. — 1996. — Vol. 23, No. 1. — P. 7–10.
319. Cooz M. Inhibition of human gastric H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase-subunit gene expression by Helicobacter pylori / M. Cooz, C. E. Hammond, K. Larsen // *AJP – GI*. — 2000. — Vol. 278, No. 6. — P. 981–991.

320. Gastrin secretion from primary cultures of rabbit antral G cells: stimulation by inflammatory cytokines / N. Weigert, K. Schaffer, V. Schusdziarra, P. Weigert [et al.] // *Gastroenterology*. — 1996. — Vol. 110, No. 1. — P. 147–154.
321. Human gastrin: a *Helicobacter pylori*-specific growth factor. / M. Y. Chowers, N. Keller, R. Tal [et al.] // *Gastroenterology*. — 1999. — Vol. 117, No. 5. — P. 1113–1118.
322. Moss S. F. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori* / S. F. Moss, J. Calam, B. Agarwal [et al.] // *Gut*. — 1996. — Vol. 38, No. 4. — P. 498–501.
323. Kuipers E. J. *Helicobacter pylori*, acid, and omeprazole revisited: bacterial eradication and rebound hypersecretion / E. J. Kuipers, E. C. Klinkenberg-Knol // *Gastroenterology*. — 1999. — Vol. 116, No. 2. — P. 479–483.
324. Zavros Y. Gastritis and hypergastrinemia due to *acinetobacter lwoffii* in mice / Y. Zavros, G. Rieder, A. Ferguson, J. L. Merchant // *Infection and immunity*. — 2002. — Vol. 70, No. 5. — P. 2630–2639.
325. Маев И. В. Поведение микрофлоры слизистой оболочки полости рта при лечении кислотозависимых заболеваний / И. В. Маев // *Медицина критических состояний*. — 2008. — No. 1. — С. 31–32.
326. *Helicobacter pylori* -induced Sonic Hedgehog expression is regulated by NF $\kappa$ B pathway activation: the use of a novel in vitro model to study epithelial response to infection / M. A. Schumacher, R. Feng, E. Aihara [et al.] // *Helicobacter*. — 2015. — Vol. 20, No. 1. — P. 19–28.
327. Zavros Y. Sonic Hedgehog is associated with H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase-containing membranes in gastric parietal cells and secreted with histamine stimulation / Y. Zavros, M. A. Orr, C. Xiao, D. H. Malinowska // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. — 2008. — Vol. 295, No. 1. — P. G99–G111.
328. Reduced pepsin a processing of sonic Hedgehog in parietal cells precedes gastric atrophy and transformation. / Y. Zavros, M. Waghray, A. Tessier [et

- al.] // *The Journal of biological chemistry*. — 2007. — Vol. 282, No. 46. — P. 33265–33274.
329. Intracellular calcium release and protein kinase C activation stimulate Sonic Hedgehog gene expression during gastric acid secretion / M. El-Zaatari, Y. Zavros, A. Tessier [et al.] // *Gastroenterology*. — 2010. — Vol. 139, No. 6. — P. 2061–2071.
330. Saeki N. Genetic factors related to gastric cancer susceptibility identified using a genome-wide association study / N. Saeki, H. Ono, H. Sakamoto, T. Yoshida // *Cancer science*. — 2013. — Vol. 104, No. 1. — P. 1–8.
331. Marshall B. J. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. / B. J. Marshall B. J. J. R. Warren // *Lancet*. — 1984. — Vol. 1, No. 8390. — P. 1311–1315.
332. Rugge M. The war of the worlds: metaplastic versus nonmetaplastic atrophic gastritis. / M. Rugge, M. Fassan, F. Farinati // *Gastrointestinal endoscopy*. — 2011. — Vol. 73, No. 2. — P. 411–423.
333. Cougnoux A. Bacterial genotoxin colibactin promotes colon tumour growth by inducing a senescence-associated secretory phenotype / A. Cougnoux, G. Dalmaso, R. Martinez, A. Caghray // *Gut*. — 2014. — Vol. 63, No. 12. — P. 1932–1942.
334. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota / J. C. Arthur, E. Perez-Chanona, M. Mühlbauer [et al.] // *Science*. — 2012. — Vol. 338, No. 6103. — P. 120–123.
335. Ajouz H. Secondary bile acids: an underrecognized cause of colon cancer / H. Ajouz, D. Mukherji, A. Shamseddine // *World journal of surgical oncology*. — 2014. — Vol. 12. — P. 164.
336. Salaspuro M. Alcohol and upper aerodigestive tract cancer / M. Salaspuro, V. Salaspuro, H. K. Seitz. — Switzerland: 2006. — 48–62 p.
337. Payne C. M. Hydrophobic bile acids, genomic instability, darwinian selection, and colon carcinogenesis / C. M. Payne, C. Bernstein, K. Dvorak, H. Bernstein

- // Clinical and experimental gastroenterology. — 2008. — Vol. 1. — P. 19–47.
338. Pooled analysis of alcohol dehydrogenase genotypes and head and neck cancer: a huge review / P. Brennan, S. Lewis, M. Hashibe [et al.] // American journal of epidemiology. — 2004. — Vol. 159, No. 1. — P. 1–16.
339. Bile acids as carcinogens in human gastrointestinal cancers / H. Bernstein, C. Bernstein, C. M. Payne [et al.] // Mutation research. — 2005. — Vol. 589, No. 1. — P. 47–65.
340. NF-kappaB regulates intestinal epithelial cell and bile salt-induced migration after injury. / E. D. Strauch, B. L. Bass, J. N. Rao [et al.] // Annals of surgery. — 2003. — Vol. 237, No. 4. — P. 494–501.
341. Karin M. NF-kappaB as a critical link between inflammation and cancer / M. Karin // Cold Spring Harbor perspectives in biology. — 2009. — Vol. 1, No. 5. — P.141.
342. Naylor G. Role of bacterial overgrowth in the stomach as an additional risk factor for gastritis. / G. Naylor, A. Axon // Canadian journal of gastroenterology . Journal canadien de gastroenterologie. — 2003. — Vol. 17 Suppl B. — P. 13B–17B.
343. Gastric mucosal recognition of helicobacter pylori is independent of Toll-like receptor 4 / F. Bäckhed, B. Rokbi, E. Torstensson [et al.] // The Journal of infectious diseases. — 2003. — Vol. 187, No. 5. — P. 829–836.
344. Rosenstiel P. Stories of love and hate: innate immunity and host-microbe crosstalk in the intestine / P. Rosenstiel // Current opinion in gastroenterology — 2013. — Vol. 29, No. 2. — P. 125–132.
345. Expression and subcellular distribution of Toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on the gastric epithelium in Helicobacter pylori infection / B. Schmausser, M. Andrulis, S. Endrich [et al.] // Clinical and experimental immunology. — 2004. — Vol. 136, No. 3. — P. 521–526.
346. Beswick E. J. Helicobacter pylori-induced IL-8 production by gastric epithelial cells up-regulates CD74 expression / E. J. Beswick, S. Das, I. V

- Pinchuk [et al.] // *Journal of immunology*. — 2005. — Vol. 175, No. 1. — P. 171–6.
347. Characterization of a *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein / D. J. Evans, D. G. Evans, T. Takemura [et al.] // *Infection and immunity*. — 1995. — Vol. 63, No. 6. — P. 2213–2220.
348. Blaser M. J. The biology of *cag* in the *Helicobacter pylori*-human interaction / M. J. Blaser // *Gastroenterology*. — 2005. — Vol. 128, No. 5. — P. 1512–1515.
349. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* Cag pathogenicity island/ J. Viala, C. Chaput, I. G. Boneca [et al.] // *Nature immunology*. — 2004. — Vol. 5, No. 11. — P. 1166–1174.
350. O’Keeffe J. Conventional, regulatory, and unconventional T cells in the immunologic response to *Helicobacter pylori* / J. O’Keeffe, A. P. Moran // *Helicobacter*. — 2008. — Vol. 13, No. 1. — P. 1–19.
351. Suarez G. Immune response to *H. pylori*. / G. Suarez, V. E. Reyes, E. J. Beswick // *World journal of gastroenterology*. — 2006. — Vol. 12, No. 35. — P. 5593–5598.
352. Molecular mimicry between *Helicobacter pylori* antigens and H<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> - adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity / A. Amedei, M. P. Bergman, B. J. Appelmelk [et al.] // *The Journal of experimental medicine*. — 2003. — Vol. 198, No. 8. — P. 1147–1156.
353. *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity / M. M. D’Elios, M. P. Bergman, A. Amedei [et al.] // *Microbes and infection* / Institut Pasteur. — 2004. — Vol. 6, No. 15. — P. 1395–1401.
354. Wu W. M. Microbiota in the stomach: new insights / W. M. Wu, Y. S. Yang, L. H. Peng // *Journal of digestive diseases*. — 2014. — Vol. 15, No. 2. — P. 54–61.
355. Yang I. Survival in hostile territory: the microbiota of the stomach / I. Yang, S. Nell, S. Suerbaum // *FEMS microbiology reviews*. — 2013. — Vol. 37, No.

5. — P. 736–761.
356. Zilberstein B. Digestive tract microbiota in healthy volunteers / B. Zilberstein, A. G. Quintanilha, M. A. A. Santos // *Clinics*. — 2007. — Vol. 62, No. 1. — P. 47–54.
357. Янковский Д. С. Микрофлора и здоровье человека / Д. С. Янковский, Г. С. ДЫМЕНТ. — К.: «Червона Рута-Турс», 2008. — 552 с.
358. Goldsmith J. R. The role of diet on intestinal microbiota metabolism: downstream impacts on host immune function and health, and therapeutic implications / J. R. Goldsmith, R. B. Sartor // *Journal of gastroenterology*. — 2014. — Vol. 49, No. 5. — P. 785–798.
359. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome / L. A. David, C. F. Maurice, R. N. Carmody [et al.] // *Nature*. — 2014. — Vol. 505, No. 7484. — P. 559–563.
360. Chan Y. K. Clinical consequences of diet-induced dysbiosis / Y. K. Chan, M. Estaki, D. L. Gibson // *Annals of nutrition & metabolism*. — 2013. — Vol. 63 Suppl 2. — P. 28–40.
361. Interplay between the gastric bacterial microbiota and candida albicans during postantibiotic recolonization and gastritis / K. L. Mason, J. R. Erb Downward, N. R. Falkowski [et al.] // *Infection and immunity*. — 2012. — Vol. 80, No. 1. — P. 150–158.
362. Prevention of *Helicobacter pylori* infection by *Lactobacilli* in a gnotobiotic murine model / A. M. Kabir, Y. Aiba, A. Takagi [et al.] // *Gut*. — 1997. — Vol. 41, No. 1. — P. 49–55.
363. Takahashi H. Role of indigenous *Lactobacilli* in gastrin-mediated acid production in the mouse stomach/ H. Takahashi, Y. Nakano, T. Matsuoka // *Applied and environmental microbiology*. — 2011. — Vol. 77, No. 19. — P. 6964–6971.
364. Fox J. G. Inflammation, atrophy, and gastric cancer / J. G. Fox, T. C. Wang // *The Journal of clinical investigation*. — 2007. — Vol. 117, No. 1. — P. 60–

- 69.
365. Kuper H. Infections as a major preventable cause of human cancer / H. Kuper, H. O. Adami, D. Trichopoulos // *Journal of internal medicine*. — 2000. — Vol. 248, No. 3. — P. 171–183.
366. Martel C. de Infections and cancer: established associations and new hypotheses / C. de Martel, S. Franceschi // *Critical reviews in oncology/hematology*. — 2009. — Vol. 70, No. 3. — P. 183–194.
367. Huttenhower C. Inflammatory bowel disease as a model for translating the microbiome / C. Huttenhower, A. D. Kostic, R. J. Xavier // *Immunity*. — 2014. — Vol. 40, No. 6. — P. 843–854.
368. Peterson M. Probiotics / M. Peterson // *Bioceuticals*. — 2002. — Vol. 23. — P. 565–573.
369. Gupta V. Probiotics / V. Gupta, R. Garg // *Indian journal of medical microbiology*. — Vol. 27, No. 3. — P. 202–209.
370. Bengmark S. Gut microbiota, immune development and function / S. Bengmark // *Pharmacological research*. — 2013. — Vol. 69, No. 1. — P. 87–113.
371. Ширококов В. П. Микробы в биогеохимических процессах, эволюции биосферы и существования человечества / В. П. Ширококов, Д. С. Янковский. — К.: «ФОП Верес», 2014. — 464 с.
372. Yan F. Probiotics: progress toward novel therapies for intestinal diseases / F. Yan, D. B. Polk // *Current opinion in gastroenterology*. — 2010. — Vol. 26, No. 2. — P. 95–101.
373. Zoppi G., Cinquetti M., Benini A., Bonamini E. Modulation of the intestinal ecosystem by probiotics and lactulose in children during treatment with ceftriaxone / E. M. G. Zoppi, M. Cinquetti, A. Benini, E. Bonamini // *Curr Ther Res*. — 2001. — Vol. 62. — P. 418–435.
374. Mikelsaar M. Do probiotic preparations for humans really have efficacy? / M. Mikelsaar, V. Lazar, A. Onderdonk, G. Donelli // *Microbial Ecology in Health*

- & Disease. — 2011. — Vol. 22.- P. 41-48
375. Liu Y. Human-derived probiotic *Lactobacillus reuteri* strains differentially reduce intestinal inflammation/ Y. Liu, N. Y. Fatheree, N. Mangalat, J. M. Rhoads // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology.* — 2010. — Vol. 299, No. 5. — P. G1087- G1096.
376. Inhibition of *Helicobacter pylori* infection in humans by *Lactobacillus reuteri* 55730 and effect on eradication therapy: a pilot study / R. Francavilla, E. Lionetti, S. P. Castellaneta [et al.] // *Helicobacter.* — 2008. — Vol. 13, No. 2. — P. 127–134.
377. Genomic variation landscape of the human gut microbiome / S. Schloissnig, M. Arumugam, S. Sunagawa[et al.] // *Nature.* — 2013. — Vol. 493, No. 7430. — P. 45–50.
378. Culligan E. P. Probiotics and gastrointestinal disease: successes, problems and future prospects/ E. P. Culligan, C. Hill, R. D. Sleator // *Gut pathogens.* — 2009. — Vol. 1, No. 1. — P. 19.
379. Ogunshe A. A. O. Effect of production batches of antibiotics on in vitro selection criterion for potential probiotic candidates / A. A. O. Ogunshe // *Journal of medicinal food.* — 2008. — Vol. 11, No. 4. — P. 753–760.
380. Покровский В. И. Биомедицинская этика / В. И. Покровский. — М.: Медицина, 1997. — 224 с.
381. Мурзін О. Б. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей / О. Б. Мурзін // *Посібник до практичних занять з фізіології людини.* — 2004. — с. 135–148.
382. Мальцев Т., Белоусов В.И., Ефимцева Д.Ю. Этическая оценка методик проведения исследований / Т. Мальцев, В.И. Белоусов, Д.Ю. Ефимцева // *Еженедельник Аптека.* — 2001. — No. 34. — с. 305.
383. Рекомендации комитета по этике, проводящим экспертизу биомедицинских исследований / Женева. — 2000.-32 с.

384. Сторожков Е. А., Малышева Г.И. Оценка методик проведения исследований / Е. А. Сторожков, Г.И. Малышева // Качественная клиническая практика. — 2001. — No. 1. — с. 21–30.
385. Ткач С. М. Перспективы парентерального применения ингибиторов протонной помпы в клинической практике / С. М. Ткач // Сучасна гастроентерологія. — 2003. — Т. 3. — с. 74–79.
386. Inhibition of gastric emptying and intestinal transit by amphetamine through a mechanism involving an increased secretion of CCK in male rats / M. L. Doong, C. C. Lu, M. M. Kau [et al.] // British journal of pharmacology. — 1998. — Vol. 124, No. 6. — P. 1123–1130.
387. Selective CCK-A but not CCK-B receptor antagonists inhibit HT-29 cell proliferation: synergism with pharmacological levels of melatonin / C. González-Puga, A. García-Navarro, G. Escames [et al.] // Journal of pineal research. — 2005. — Vol. 39, No. 3. — P. 243–250.
388. Hoosein N. M. Antiproliferative effects of gastrin receptor antagonists and antibodies to gastrin on human colon carcinoma cell lines / N. M. Hoosein, P. A. Kiener, R. C. Curry // Cancer research. — 1988. — Vol. 48, No. 24 Pt 1. — P. 7179–7183.
389. Фалалеева Т. М. Роль глутамату та пролінвмісних ди- та трипептидів у регуляції морфо-функціонального стану шлунка: автореф.дис. ...докт.біол.наук: 03.00.13 / Т. М. Фалалеева // Київський нац. ун-тім. Т. Шевченка – Київ. — 2011. — 32 с.
390. Ghosh M. N. Continuous recording of acid gastric secretion in the rat / M. N. Ghosh, H. O. Schild // British journal of pharmacology and chemotherapy. — 1958. — Vol. 13, No. 1. — P. 54–61.
391. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. — Львов : Из-во Львов. ун-та, 1989. — 144 с.
392. Антонюк В. А. Конъюгирование лектинов с пероксидазой хрена: усовершенствование методики / В. А. Антонюк, А. М. Ященко //

- Клиническая лабораторная диагностика. — 1996. — Т. 4. — с. 102–106.
393. Тетянець С. С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови / С. С. Тетянець // Лаб. дело. — 1985. — No. 1. — с. 61–62.
394. Шараев П. Н. Метод определения фукозы, не связанной с белками / П. Н. Шараев, Н. С. Стрелков, Р. Р. Кильдиярова // Клини. лаб. диагностика. — 1997. — No. 4. — с. 17–18.
395. Шараев П. Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П. Н. Шараев // Лаб. дело. — 1987. — No. 5. — с. 530–535.
396. Філімонова Н. Б. Статистичний аналіз даних відповідно до засад науково обґрунтованої медицини: первинний аналіз кількісних даних, подання результатів експерименту / Н. Б. Філімонова, І. О. Філь, Т. С. Михайлова // Медицина залізничного транспорту України. — 2004. — No. 4. — с. 85–93.
397. Васильев Ю. В. Омепразол в терапии гастроэзофагеальной рефлюксной болезни и язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки / Ю. В. Васильев // Русский медицинский журнал. — 2007. — Т. 15, No. 4. — с. 233–236.
398. Раков, А.Л. Макаров, Ю.С. Горбачов В. В. Сравнительная оценка антисекреторной активности фамотидина, омепразола и рабепразола (париета) при язвенной болезни желудка, по данным суточного рН-мониторирования / В. В. Раков, А.Л. Макаров, Ю.С. Горбачов // Военно-медицинский журнал. — 2001. — No. 9. — с. 54–58.
399. Рудь М. В. Сочетанное применение ингибиторов протонного насоса и блокаторов H<sub>2</sub>-рецепторов гистамина в терапии язвенной болезни желудка / М. В. Рудь // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. — 2003. — No. 1. — с. 105.
400. Andersson N. Gastrin effects on isolated rat enterochromaffin-like cells following long-term hypergastrinaemia in vivo / N. Andersson, M. Rhedin, B.

- Peteri-Brunbäck // *Biochimica et biophysica acta*. — 1999. — Vol. 1451, No. 2–3. — P. 297–304.
401. Bateson M. C. Hypergastrinaemia with long-term omeprazole treatment / M. C. Bateson // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 1999. — Vol. 13, No. 3. — P. 440–441.
402. Cui G. L. Long-term omeprazole treatment suppresses body weight gain and bone mineralization in young male rats / G. L. Cui, U. Syversen, C. M. Zhao [et al.] // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2001. — Vol. 36, No. 10. — P. 1011–1015.
403. Jalving M. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy. / M. Jalving, J. J. Koornstra, J. Wesseling // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2006. — Vol. 24, No. 9. — P. 1341–1348.
404. Selway S. A. Potential hazards of long-term acid suppression / S. A. Selway // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 1990. — Vol. 178. — P. 85–92.
405. Wormsley K. G. Is chronic long-term inhibition of gastric secretion really dangerous? / K. G. Wormsley // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 1988. — Vol. 146. — P. 166–174.
406. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. / E. J. Kuipers, A. M. Uytterlinde, A. S. Peña [et al.] // *Lancet*. — 1995. — Vol. 345, No. 8964. — P. 1525–1528.
407. Brunner G. H. Efficacy and safety of omeprazole in the long-term treatment of peptic ulcer and reflux oesophagitis resistant to ranitidine / G. H. Brunner, R. Lamberts, W. Creutzfeldt // *Digestion*. — 1990. — Vol. 47 Suppl 1. — P. 64–68.
408. Фалалєєва Т. М. Вплив коротколанцюгових жирних кислот на шлункову секрецію: автореф. дис.... канд. біол. наук: 03.00.13 / Т. М. Фалалєєва. — Київський нац. ун-т імені Т. Шевченка, Київ, 2004. — 19 с.
409. Fossmark R. Rebound acid hypersecretion after long-term inhibition of gastric

- acid secretion / R. Fossmark, G. Johnsen, E. Johanessen, H. L. Waldum // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2005. — Vol. 21, No. 2. — P. 149–154.
410. Marked increase in gastric acid secretory capacity after omeprazole treatment / H. L. Waldum, J. S. Arnestad, E. Brenna [et al.] // *Gut*. — 1996. — Vol. 39, No. 5. — P. 649–653.
411. Huang J. Q. Pharmacological and pharmacodynamic essentials of H(2)-receptor antagonists and proton pump inhibitors for the practising physician / J. Q. Huang, R. H. Hunt // *Best practice & research. Clinical gastroenterology*. — 2001. — Vol. 15, No. 3. — P. 355–370.
412. Schubert M. L. Gastric secretion / M. L. Schubert // *Current opinion in gastroenterology*. — 2010. — Vol. 26, No. 6. — P. 598–603.
413. Heijmans J. Morphogens and the parietal cell: shaping up acid secretion / J. Heijmans, G. R. van den Brink // *Gastroenterology*. — 2010. — Vol. 139, No. 6. — P. 1830–1833.
414. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) agonist inhibits transforming growth factor-beta1 and matrix production in human dermal fibroblasts / G.-Y. Zhang, T. Cheng, M.-H. Zheng [et al.] // *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery: JPRAS*. — 2010. — Vol. 63, No. 7. — P. 1209–1216.
415. Faraji E. I. Multifocal atrophic gastritis and gastric carcinoma / E. I. Faraji, B. Frank // *Gastroenterol.Clin. North Am.* — 2002. — Vol. 31, No. 2. — P. 499–516.
416. Pioglitazone, a specific ligand of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, accelerates gastric ulcer healing in rat / P. C. Konturek, T. Brzozowski, J. Kania [et al.] // *European journal of pharmacology*. — 2003. — Vol. 472, No. 3. — P. 213–220.

417. McColl K. E. L., Review article: gastrin releasing peptide and its value in assessing gastric secretory function / K. E. L McColl, E. El-Omar // *Aliment. Pharmacol. Ther.*– 1995 – Vol.9 – P. 341–347.
418. Banasch M. No diagnosis and treatment of gastrinoma in the era of proton pump inhibitors / M. Banasch, F. Schmitz // *Wien Klin Wochenschr.* — 2007. — Vol. 119. — P. 573–578.
419. Вороніна О. Ультрaструктурний аналіз клітин слизової оболонки фундального відділу шлунка щурів при гіпергастринемії / О.Вороніна, В. Грищук, М. Дзержинський // 2007. — No. 49. — с. 13–15.
420. Цирюк О. І. Вплив мультипробіотика «Симбітер ацидофільний» концентрований на стан мікроекології шлунка у щурів / О. І. Цирюк, Т. В. Берегова // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології.* — 2007. — Т. 3–4, No. 78–79. — С. 62–70.
421. Цирюк О. Пошук засобів корекції структурно-функціональних змін в шлунку за умов тривалої гіпоацидності / О. Цирюк, Т. Берегова // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій.* — 2014. — Т. 2, No. 67. — с. 80–82.
422. The biology and pathobiology of the ecl cells / R. Näkanson, Y. Tielemans, D. Chen [et al.] // *The Yale journal of biology and medicine.* — 1996. — Vol. 65, No. 6. — P. 761-769.
423. Racke K. Control by cholinergic mechanisms / K. Racke, U. R. Juergens, S. Matthiesen // *Eur. J Pharmacol.* — 2006. — Vol. 533, No. 1–3. — P. 57–68.
424. Ventura S. Cholinergic innervation and function in the prostate gland / S. Ventura, J. Pennefather, F. Mitchelson // *Pharmacol Ther.* — 2002. — Vol. 94, No. 1–2. — P. 93–112.
425. Цирюк О. І. Вплив омепразол-викликаної гіпергастринемії на базальну шлункову секрецію у щурів / О. І. Цирюк, Т. В. Берегова // *Вісник проблем біології і медицини.* — 2007. — No. 3. — С. 38–43.

426. Johnston D. Highly selective vagotomy without a drainage procedure in the treatment of duodenal ulcer. / D. Johnston, A. R. Wilkinson // *The British journal of surgery*. — 1970. — Vol. 57, No. 4. — P. 289–96.
427. Ramus N. I. Effect of highly selective vagotomy on pancreatic exocrine function and on cholecystikinin and gastrin release / N. I. Ramus, R. C. Williamson, J. M. Oliver, D. Johnston // *Gut*. — 1982. — Vol. 23, No. 7. — P. 553–7.
428. Unilateral vagal denervation suppresses omeprazole-induced trophic effects on the denervated side of the rat stomach / R. Håkanson, J. Axelson, Y. Tielemans [et al.] // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 1992. — Vol. 27, No. 1. — P. 65–70.
429. Кветной И. М. О состоянии слизистой оболочки и нейроэндокринных клеток желудка и кишечника после ваготомии / И. М. Кветной, А. Л. Грабежев, Н. Н. Жернакова // *Геронтологический журнал им.В.Ф.Купревича*. — 2011. — Т. 1 (4), No. 2. — с. 24–31.
430. Niazmand S. Effects of *achillea wilhelmsii* on rat's gastric acid output at basal, vagotomized, and vagal-stimulated conditions / S. Niazmand, E. Khooshnood, M. Derakhshan // *Pharmacognosy magazine*. — 2010. — Vol. 6, No. 24. — P. 282–285.
431. Naseri M. K. G. Effect of esophageal distention on basal and stimulated gastric acid secretion in rats / M. K. G. Naseri, S. A. Mard, M. Badavi // *Iranian biomedical journal*. — 2007. — Vol. 11, No. 3. — P. 177–183.
432. Abdel Salam O. M. E. Fluoxetine and sertraline stimulate gastric acid secretion via a vagal pathway in anaesthetised rats / O. M. E. Abdel Salam // *Pharmacological research*. — 2004. — Vol. 50, No. 3. — P. 309–316.
433. Водяник А. А. Вплив стовбурової ваготомії на слизову оболонку шлунка у щурів в експерименті / А. А. Водяник, Д. В. Шамрай, Н. О. Мельник // *Український науково-медичний молодіжний журнал*. — 2012. — Т. 2. — С. 26–28.

434. Okabe S. Pharmacological regulation of gastric acid secretion in the apical membrane of parietal cells; a new target for antisecretory drugs / S. Okabe, K. Shimosako, K. Amagase // *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society*. — 2001. — Vol. 52, No. 4. — P. 639–656.
435. Mbulaiteye S. M. Helicobacter pylori associated global gastric cancer burden / S. M. Mbulaiteye, M. Hisada, E. M. El-Omar // *Frontiers in bioscience*. — 2009. — Vol. 14. — P. 1490–1504.
436. Leonard J. Systematic review of the risk of enteric infection in patients taking acid suppression / J. Leonard, J. K. Marshall, P. Moayyedi // *The American journal of gastroenterology*. — 2007. — Vol. 102, No. 9. — P. 2047–56.
437. Zavros Y. Modulating the cytokine response to treat Helicobacter gastritis / Y. Zavros, J. L. Merchant // *Biochemical pharmacology*. — 2005. — Vol. 69, No. 3. — P. 365–371.
438. Maciorkowska E. Mucosal gastrin cells and serum gastrin levels in children with Helicobacter pylori infection / E. Maciorkowska, A. Panasiuk, K. Kondej-Muszyńska // *Advances in medical sciences*. — 2006. — Vol. 51. — P. 137–141.
439. Probiotic effects of feeding heat-killed Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei to Candida albicans-colonized immunodeficient mice / R. D. Wagner, C. Pierson, T. Warner [et al.] // *Journal of food protection*. — 2000. — Vol. 63, No. 5. — P. 638–644.
440. Agonist of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR-gamma): a new compound with potent gastroprotective and ulcer healing properties / T. Brzozowski, P. C. Konturek, R. Pajdo [et al.] // *Inflammopharmacology*. — 2005. — Vol. 13, No. 1–3. — P. 317–330.
441. Nakao M. Growth inhibitory and bactericidal activities of lansoprazole compared with those of omeprazole and pantoprazole against Helicobacter pylori / M. Nakao, P. Malfertheiner // *Helicobacter*. — 1998. — Vol. 3, No. 1.

- P. 21–27.
442. The yeast plasma membrane proton pumping ATPase is a viable antifungal target . Effects of the cysteine-modifying reagent omeprazole / B. C. Monk, A. B. Mason, G. Abramochkin [et al.] // *Biochimica et biophysica acta*. — 1995. — Vol. 1239, No. 1. — P. 81–90.
443. Altman K. W. Effect of proton pump inhibitor pantoprazole on growth and morphology of oral *Lactobacillus* strains / K. W. Altman, V. Chhaya, N. D. Hammer, W. Altman // *The Laryngoscope*. — 2008. — Vol. 118, No. 4. — P. 599–604.
444. Brzozowski T. Influence of gastric colonization with *Candida albicans* on ulcer healing in rats: effect of ranitidine, aspirin and probiotic therapy / T. Brzozowski, M. Zwolinska-Wcislo, P. C. Konturek // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2005. — Vol. 40, No. 3. — P. 286–296.
445. Gastric inflammation, metaplasia, and tumor development in gastrin-deficient mice / L. Friis-Hansen, K. Rieneck, H.-O. Nilsson [et al.] // *Gastroenterology*. — 2006. — Vol. 131, No. 1. — P. 246–258.
446. Effects of acid suppression on microbial flora of upper gut / N. D. Yeomans, R. W. Brimblecombe, J. Elder [et al.] // *Digestive diseases and sciences*. — 1995. — Vol. 40, No. 2. — P. 81S–95S.
447. Friis-Hansen L. Lessons from the gastrin knockout mice / L. Friis-Hansen // *Regulatory peptides*. — 2007. — Vol. 139, No. 1–3. — P. 5–22.
448. Wilder-Smith C. H. Bactericidal factors in gastric juice / C. H. Wilder-Smith, G. Spiring, T. Krech, H. S. Merki // *Eur. J. of Gastroenterology and Hepatology*. — 1992. — Vol. 4. — P. 885–891.
449. Jajatilaka S. *Clostridium difficile* infection in an urban medical center: five-year analysis of infection rates among adult admissions and association with the use of proton pump inhibitors / S. Jajatilaka, R. Shakov, R. Eddi // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2007. — Vol. 37. — P. 241–247.
450. Non-*Helicobacter pylori* bacterial flora during acid-suppressive therapy:

- differential findings in gastric juice and gastric mucosa / S. Sanduleanu, D. Jonkers, A. De Bruine [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2001. — Vol. 15, No. 3. — P. 379–88.
451. A comparison of esomeprazole and lansoprazole for control of intragastric pH in patients with symptoms of gastro-oesophageal reflux disease / D. A. Johnson, T. Stacy, M. Ryan [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2005. — Vol. 22, No. 2. — P. 129–134.
452. Nwokolo C. U. Increased incidence of bacterial diarrhoea in patients taking gastric acid antiseecretory drugs / C. U. Nwokolo, D. E. Loft, R. Holder // *Eur. J. gastroenterol. Hepatol.* — 1994. — Vol. 6. — P. 697–699.
453. Абдулахад К. Ф. А. Дослідження впливу мультипробіотиків групи «Симбітер» на секреторну функцію шлунка у щурів в умовах тривалої гіпергастринемії: автореф. дис... канд. біол. наук: 03.00.13 / К. Ф. А. Абдулахад // Київ, 2012. — 19с.
454. Association of proton pump inhibitor therapy with spontaneous bacterial peritonitis in cirrhotic patients with ascites/ J. S. Bajaj, Y. Zadvornova, D. M. Heuman [et al.] // *The American journal of gastroenterology*. — 2009. — Vol. 104, No. 5. — P. 1130–4.
455. Johnson A. G. Histamine-2 receptor antagonists and gastric cancer / A. G. Johnson, S. S. Jick, D. R. Perera, H. Jick // *Epidemiology*. — 1996. — Vol. 7, No. 4. — P. 434–436.
456. Vecchia C. La A review of epidemiological studies on cancer in relation to the use of anti-ulcer drugs / C. La Vecchia, A. Tavani // *European journal of cancer prevention: the official journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*. — 2002. — Vol. 11, No. 2. — P. 117–123.
457. Аруин Л. И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин, Л. Л. Капуллер, В. А. Исаков. — М.: Трида – X, 1998. — 496 с.
458. Цирюк О.І. Вплив гіпергастринемії різної тривалості на структурно

- функціональний стан слизової оболонки шлунка у щурів / О. І. Цирюк, О. К. Вороніна, Т. В. Овчарик // Матеріали міжнародної наукової конференції, приуроченої до 60-ліття новоствореної кафедри фізіології людини і тварин Львівського університету імені Івана Франка «Механізми функціонування фізіологічних систем». — 2006. — С. 152–153.
459. Вороніна О.К. Морфометричні зміни в слизовій оболонці шлунка та кишечника при гіпергастринемії різної тривалості / Вороніна О.К., Берегова Т. В. // Таврійський медико-біологічний вісник. Матеріали VI конгресу патофізіологів України. — 2012. — Т. 15, №. 3. — с. 314.
460. Вороніна О.К. Ультраструктурні зміни у слизовій оболонці шлунка при введенні меланіну на фоні експериментальної гіпергастринемії / О. К. Вороніна, Т. В. Берегова, М. Е. Держинський // VI Міжнародна наукова конференція, присвячена 170-річчю кафедри фізіології людини і тварини та 100-річчю школи електрофізіології Київського університету. Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології. — 2012. — Р. 59.
461. Сотников В. Н. Значение эндоскопической рН-метрии в определении кислотопродуцирующей функции желудка. Пособие для врачей / В. Н. Сотников, Т. К. Дубинская, А. В. Волова, Г. А. Яковлев. — М.: РМАПО, 2005. — 35 с.
462. Bur M. Lectin binding to human gastric adenocarcinomas and adjacent tissues / M. Bur, W. A. Franklin // American journal of pathology. — 1985. — Vol. 119. — P. 279–287.
463. Kahn H. J. Differences in lectin binding in tissue sections of human and murine malignant tumors and their metastases / H. J. Kahn, R. Bauml // The american journal of pathology. — 1985. — Vol. 119. — P. 420–429.
464. Антонюк В. О. Лектини та їхні джерела / В. О. Антонюк. — Львів: Кварц, 2005. — 565 с.

465. Ященко А. М. Лектиногістохімічні характеристики окремих органів в нормі і при деяких патологічних процесах / А. М. Ященко, В. В. Дудок, О. В. Амбарова та інші // Матеріали III Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів. — 2002. — С. 373–374.
466. The syndrome of gastric argyrophil carcinoid tumors and nonantral gastric atrophy / J. A. Carney, V. L. Go, V. F. Fairbanks [et al.] // *Annals of internal medicine*. — 1983. — Vol. 99, No. 6. — P. 761–766.
467. Луцик О. Д. Гетерогенність деяких клітинних популяцій щура, виявлена методами лектиногістохімії / О. Д. Луцик // *Acta medica Leopoldensia*. — 1997. — Т. 3, No. 1–2. — С. 70–79.
468. Moore R. Differences in cellular glycoconjugates of quiescent, inflamed, and neoplastic colonic epithelium in colitis and cancer-prone tamarins / R. Moore, N. King, J. Alroy // *American journal of pathology*. — 1988. — Vol. 131, No. 3. — P. 484–489.
469. Bolos C. Regulation of mucin and glycoconjugate expression: from normal epithelium to gastric tumors. / C. Bolos, F. X. Real, A. Lopez-Ferrer // *Frontiers in bioscience* □ — 2001. — Vol. 6. — P. D1256- D 1263.
470. Corfield A. P. Mucins in the gastrointestinal tract in health and disease / A. P. Corfield, D. Carroll, N. Myerscough, C. S. Probert // *Frontiers in bioscience*. — 2001. — Vol. 6. — P. D1321- D 1357.
471. Gastric cancer associated structure in mucus glycoproteins shown as a clinically useful marker / I. Häkkinen, T. Nevalainen, R. Paasivuo [et al.] // *Gut*. — 1991. — Vol. 32, No. 12. — P. 1465–1469.
472. Гурленко Т. М. Вплив блокади ССК/гастринових рецепторів на транспортну функцію ободової кишки в умовах тривалої гіпергастринемії / Т. М. Гурленко, О. К. Вороніна, Т. В. Овчарик, Т. В. Берегова // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. — 2007. — Т. 36, No. 1. — С. 16–21.
473. Золотаревский В. Б. Лектиногистохимическая характеристика эпителия

- при кишечной метаплазии, полипах и раке желудка / В. Б. Золотаревский, А. Г. Уфимцева // *Арх Пат.* — 1991. — Т. 53, No. 10. — С. 39–44.
474. Becker D. J. Fucose: biosynthesis and biological function in mammals / D. J. Becker, J. B. Lowe // *Glycobiology.* — 2003. — Vol. 13, No. 7. — P. 41R–53R.
475. Fut2-null mice display an altered glycosylation profile and impaired baba-mediated helicobacter pylori adhesion to gastric mucosa. / A. Magalhães, J. Gomes, M. N. Ismail [et al.] // *Glycobiology.* — 2009. — Vol. 19, No. 12. — P. 1525–1536.
476. Holmén J. M. Larsson Studies of mucus in mouse stomach, small intestine, and colon. III. Gastrointestinal MUC5ac and MUC2 mucin O-glycan patterns reveal a regiospecific distribution. / J. M. Holmén Larsson, K. A. Thomsson, A. M. Rodríguez-Piñeiro // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology.* — 2013. — Vol. 305, No. 5. — P. G357- G 363.
477. Metabolic profiling to identify potential serum biomarkers for gastric ulceration induced by nonsteroid anti-inflammatory drugs / K. Takeuchi, M. Ohishi, S. Ota [et al.] // *Journal of proteome research.* — 2013. — Vol. 12, No. 3. — P. 1399–1407.
478. Anand B. S. Ulcer and gastritis / B. S. Anand, D. Y. Graham // *Endoscopy.* — 1999. — Vol. 31, No. 2. — P. 215–225.
479. Ham M. Gastroduodenal mucosal defense / M. Ham, J. D. Kaunitz // *Curr Opin Gastroenterol.* — 2008. — Vol. 24, No. 6. — P. 665–673.
480. Проценко Т. Л. Вивчення складу глікопротеїнів шлунка за умов різних експериментальних виразок / Т. Л. Проценко, Т. Д. Хілько, І. В. Якубцова // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка.* — 2003. — Vol. 41. — С. 116–118.
481. Bolos C. de Regulation of mucin and glycoconjugate expression: from normal epithelium to gastric tumors / C. de Bolos, F. Real, A. Lopez-Ferrer // *Front Biosci.* — 2001. — Vol. 6. — P. 1256–1263.

482. Kakei N. Effects of long-term omeprazole treatment on adult rat gastric mucosa—enhancement of the epithelial cell proliferation and suppression of its differentiation / N. Kakei, M. Ichinose, M. Tatematsu // *Biochem Biophys Res Commun.* — 1995. — Vol. 214, No. 3. — P. 861–868.
483. Громов М. С. Маркеры метаболизма соединительной ткани и серотонинсекретирующие клетки в диагностике и оценке динамики неспецифического язвенного колита / М. С. Громов, А. Г. Чиж, Е. А. Исламова // *Современные наукоемкие технологии.* — 2007. — No. 7. — С. 85–87.
484. Sacan O. Zinc supplementation ameliorates glycoprotein components and oxidative stress changes in the lung of streptozotocin diabetic rats / O. Sacan, T. I. Burcu, B. B. Boran // *BioMetals.* — 2016. — Vol. 29, No. 2. — P. 239–248.
485. Ohsawa T. Effects of three H<sub>2</sub>-receptor antagonists (cimetidine, famotidine, ranitidine) on serum gastrin level. / T. Ohsawa, W. Hirata, S. Higichi // *International journal of clinical pharmacology research.* — 2002. — Vol. 22, No. 2. — P. 29–35.
486. Wolfe M. M. The physiology of gastric acid secretion / M. M. Wolfe, A. H. Soll // *The New England journal of medicine.* — 1988. — Vol. 319, No. 26. — P. 1707–1715.
487. Hypergastrinemia and gastric enterochromaffin-like cells / C. Bordi, T. D'Adda, C. Azzoni [et al.] // *The American journal of surgical pathology.* — 1995. — Vol. 19. — P. S8-S 19.
488. Oesophageal mucosal involvement in patients with systemic sclerosis receiving proton pump inhibitor therapy / I. Marie, P. Ducrotte, P. Denis [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics.* — 2006. — Vol. 24, No. 11–12. — P. 1593–1601.
489. Dockray G. J. Clinical endocrinology and metabolism. gastrin / G. J. Dockray // *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism.* — 2004. —

- Vol. 18, No. 4. — P. 555–568.
490. Jonson L. R. Proglumide inhibition of trophic action of pentagastrin / L. R. Jonson, P. Guhrle // *Am. Physiol. Society.* — 1984. — P. 62–66.
491. Meleń-Mucha G. The combined effects of proglumide and fluorouracil on the growth of murine colon 38 cancer cells in vitro. / G. Meleń-Mucha, H. Ławnicka, S. Mucha // *Endokrynologia Polska.* — Vol. 56, No. 6. — P. 933–938.
492. Structural features of various proglumide-related cholecystokinin receptor antagonists / R. T. Jensen, Z. C. Zhou, R. B. Murphy [et al.] // *The American journal of physiology.* — 1986. — Vol. 251, No. 6 Pt 1. — P. G839-46.
493. Bali J. P. The inhibitory effect of proglumide on gastric acid secretion: experimental study in the rat / J. P. Bali, T. N. Pham-Tham-Ch, M. Boucard // *Excerpta Medica.* — 1979. — P. 15–25.
494. Sampietro R. Inhibiting effects of xylamide on induced maximal gastric acid secretion in humans / R. Sampietro // *Minerva medica.* — 1969. — Vol. 60, No. 23. — P. 1032–1037.
495. Vidal y Plana R. R. Influence of proglumide and cimetidine on the growth rate of cells of the gastric mucosa / R. R. Vidal y Plana, D. Bizzarri. — Amsterdam: Exc. Med., 1979. — 27-36 c.
496. Beauchamp R. D. Proglumide, a gastrin receptor antagonist, inhibits growth of colon cancer and enhances survival in mice. / R. D. Beauchamp, C. M. Townsend, P. Singh // *Annals of surgery.* — 1985. — Vol. 202, No. 3. — P. 303–309.
497. Imdahl A. Growth of colorectal carcinoma cells: regulation in vitro by gastrin, pentagastrin and the gastrin-receptor antagonist proglumide / A. Imdahl, S. Eggstein, C. Crone, E. H. Farthmann // *Journal of cancer research and clinical oncology.* — 1989. — Vol. 115, No. 4. — P. 388–392.
498. Treatment of peptic ulcer using proglumide (milid) / K. Brailski, A. Mendizova, B. Dimitrov [et al.] // *Vutreshni bolesti.* — 1989. — Vol. 28,

- No. 1. — P. 46–51.
499. Harrison J. D. The effect of the gastrin receptor antagonist proglumide on survival in gastric carcinoma / J. D. Harrison, J. A. Jones, D. L. Morris // *Cancer*. — 1990. — Vol. 66, No. 7. — P. 1449–1452.
500. Цирюк О. І. Вплив проглуміду на функціональні зміни в секреторній функції шлунка, викликані тривалою гіпергастринемією / О. І. Цирюк, Т. В. Берегова, К. О. Канівець // *Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія*. — 2008. — No. 1. — с. 31–35.
501. Behar J. Clinical aspects of gallbladder motor function and dysfunction / J. Behar // *Current gastroenterology reports*. — 1999. — Vol. 1, No. 2. — P. 91–94.
502. Qvist N. Cholecystokinin, secretin, pancreatic polypeptide in relation to gallbladder dynamics and gastrointestinal interdigestive motility / N. Qvist, E. Oster-Jørgensen, L. Rasmussen [et al.] // *Digestion*. — 1990. — Vol. 45, No. 3. — P. 130–137.
503. Gallbladder dysfunction: how much longer will it be controversial? / N. Goussous, G. C. Kowdley, N. Sardana [et al.] // *Digestion*. — 2014. — Vol. 90, No. 3. — P. 147–154.
504. Otsuki M. Pathophysiological role of cholecystokinin in humans / M. Otsuki // *Journal of gastroenterology and hepatology*. — 2000. — Vol. 15 — P. D71-D 83.
505. Rehfeld J. F. A neuroendocrine tumor syndrome from cholecystokinin secretion. / J. F. Rehfeld, B. Federspiel, L. Bardram // *The New England journal of medicine*. — 2013. — Vol. 368, No. 12. — P. 1165–1166.
506. Baillie J. Sphincter of Oddi dysfunction / J. Baillie // *Current gastroenterology reports*. — 2010. — Vol. 12, No. 2. — P. 130–134.
507. Krishnamurthy S. Biliary dyskinesia: role of the sphincter of Oddi, gallbladder and cholecystokinin / S. Krishnamurthy, G. T. Krishnamurthy // *Journal of nuclear medicine*. — 1997. — Vol. 38, No. 11. — P. 1824–1830.

508. Elta G.-H. Sphincter of Oddi dysfunction and bile duct microlithiasis in acute idiopathic pancreatitis / G.-H. Elta // *World journal of gastroenterology*. — 2008. — Vol. 14, No. 7. — P. 1023–1026.
509. McLoughlin M. T. Sphincter of Oddi dysfunction and pancreatitis / M. T. McLoughlin, R. M. S. Mitchell // *World journal of gastroenterology*. — 2007. — Vol. 13, No. 47. — P. 6333–6243.
510. Catterall W. A. Structure and function of voltage-sensitive ion channels. / W. A. Catterall // *Science (New York, N.Y.)*. — 1988. — Vol. 242, No. 4875. — P. 50–61.
511. Nieto J. M. The role of proton pump inhibitors in the treatment of Zollinger-Ellison syndrome / J. M. Nieto, J. R. Pisegna // *Expert opinion on pharmacotherapy*. — 2006. — Vol. 7, No. 2. — P. 169–175.
512. Walsh J. H. Gastrointestinal hormones and peptides / J. H. Walsh // *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 2nd edition. — 1987. — P. 181–252.
513. Tsyriuk O. I. Correction of negative influence of long-term hypergastrinemia on gastric acid secretion / O. I. Tsyriuk // *Fiziolohichniy zhurnal*. — 2011. — Vol. 57, No. 1. — P. 66–71.
514. Cui G. Physiological and clinical significance of enterochromaffin-like cell activation in the regulation of gastric acid secretion / G. Cui, H. L. Waldum // *World journal of gastroenterology*. — 2007. — Vol. 13, No. 4. — P. 493–496.
515. Management strategy for patients with gastroesophageal reflux disease: a comparison between empirical treatment with esomeprazole and endoscopy-oriented treatment / E. G. Giannini, P. Zentilin, P. Dulbecco [et al.] // *The American journal of gastroenterology*. — 2008. — Vol. 103, No. 2. — P. 267–275.
516. Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle. / T. Tanabe, H. Takeshima, A. Mikami [et al.] // *Nature*. — Vol. 328, No. 6128. — P. 313–318.
517. Glossmann H. Molecular properties of calcium channels / H. Glossmann, J.

- Striessnig // *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*. — 1990. — Vol. 114. — P. 1–105.
518. Берегова Т. В. Зміни у функціонуванні слизового бар'єру проксимального відділу травного тракту в умовах тривалої гіпоацидності та її корекція / Т. В. Берегова, К. С. Непорада, О. І. Цирюк // *Доповіді НАУ*. — 2010. — Т. 8. — С. 163–166.
519. Sewing K. F. Calcium channel antagonists verapamil and gallopamil are powerful inhibitors of acid secretion in isolated and enriched guinea pig parietal cells / K. F. Sewing, H. Hannemann // *Pharmacology*. — 1983. — Vol. 27, No. 1. — P. 9–14.
520. Effects of nifedipine on gastric acid secretion and gastrin release in man / K. E. McColl, N. M. Buchanan, G. Laferla [et al.] // *Gut*. — 1987. — Vol. 28, No. 4. — P. 455–459.
521. Лапина Т. Л. Ингибиторы протонной помпы: несколько вопросов по теории и практике / Т. Л. Лапина // *Фарматека*. — 2006. — No. 1. — С. 1–4.
522. Rebound acid hypersecretion from a physiological, pathophysiological and clinical viewpoint/ H. L. Waldum, G. Qvigstad, R. Fossmark [et al.] // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2010. — Vol. 45, No. 4. — P. 389–394.
523. Lerotić I. Acid inhibition and the acid rebound effect / I. Lerotić, N. Baršić, S. Stojsavljević, M. Duvnjak // *Digestive diseases* . — 2011. — Vol. 29, No. 5. — P. 482–486.
524. Sipponen P. Chronic gastritis/ P. Sipponen, H.-I. Maaros // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2015. — Vol. 50, No. 6. — P. 657–667.
525. Agréus L. Rationale in diagnosis and screening of atrophic gastritis with stomach-specific plasma biomarkers / L. Agréus, E. J. Kuipers, L. Kupcinskas // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 2012. — Vol. 47, No. 2. — P. 136–147.

526. Корниенко Е.А. , Дроздова С. Н. Пробиотики как способ повышения эффективности эрадикации *Helicobacter pylori* у детей / С. Н. Корниенко, Е.А. Дроздова // Фарматека. — 2005. — No. 7. — С. 69–70.
527. Canducci F. A Lyophilized and inactivated culture of *Lactobacillus acidophilus* increases *Helicobacter pylori* eradication rates / F. Canducci, A. Armuzzi, F. Cremonini // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2000. — Vol. 14, No. 12. — P. 1625–1629.
528. Effect of frequent consumption of a *Lactobacillus casei*-containing milk drink in *Helicobacter pylori*-colonized subjects / A. Cats, E. J. Kuipers, M. A. R. Bosschaert [et al.] // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2003. — Vol. 17, No. 3. — P. 429–435.
529. Michetti P. Effect of whey-based culture supernatant of *Lactobacillus acidophilus* (*johnsonii*) la1 on *Helicobacter pylori* infection in humans / P. Michetti, G. Dorta, P. H. Wiesel // *Digestion*. — 1999. — Vol. 60, No. 3. — P. 203–209.
530. Myllyluoma E. Probiotic supplementation improves tolerance to *Helicobacter pylori* eradication therapy – a placebo-controlled, double-blind randomized pilot study / E. Myllyluoma, L. Veijola, T. Ahlroos // *Aliment. Pharmacol. Ther.* — 2005. — No. 21. — P. 1263–1272.
531. Sykora J. , Valeckova K. , Amlerova J. Effects of a specially designed fermented milk product containing probiotic *Lactobacillus casei* dn-114 001 and the eradication of *Helicobacter pylori* in children: a prospective randomized double-blind study / J. Sykora, J. Valeckova, K. Amlerova // *J. Clin. Gastroenterol.* — 2005. — No. 39. — P. 692–698.
532. Tursi A. Effect of *Lactobacillus casei* supplementation on the effectiveness and tolerability of a new second-line 10-day quadruple therapy after failure of a first attempt to cure *Helicobacter pylori* infection / A. Tursi, G. Brandimarte, G. M. Giorgetti, M. E. Modeo // *Med. Sci. Monit.* — 2004. — No. 10. — P. 662–666.

533. Ozcan A. S. Adsorption of lead (II) ions onto 8-hydroxy quinoline-immobilized bentonite / A. S. Ozcan, O. Gök, A. Ozcan // *Journal of hazardous materials*. — 2009. — Vol. 161, No. 1. — P. 499–509.
534. Горпинченко И. И. Использование мультипробиотика Апибакт в комплексном лечении урогенитальных инфекционных заболеваний у супружеской пары / И. И. Горпинченко, С. Н. Мельников, А. М. Корниенко, Л. И. Добровольская // *Здоровье мужчины*. — 2006. — Vol. 3. — С. 72–76.
535. What makes a natural clay antibacterial? / L. B. Williams, D. W. Metge, D. D. Eberl [et al.] // *Environmental science & technology*. — 2011. — Vol. 45, No. 8. — P. 3768–3773.
536. Haydel S. E. Broad-spectrum in vitro antibacterial activities of clay minerals against antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant bacterial pathogens / S. E. Haydel, C. M. Remenih, L. B. Williams // *The Journal of antimicrobial chemotherapy*. — 2008. — Vol. 61, No. 2. — P. 353–361.
537. Dobrowolski J. W. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products / J. W. Dobrowolski, S. B. Vohora, K. Sharma // *Journal of ethnopharmacology*. — 1991. — Vol. 35, No. 1. — P. 77–82.
538. Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms / Y. K. Park, M. H. Koo, J. A. Abreu [et al.] // *Current microbiology*. — 1998. — Vol. 36, No. 1. — P. 24–28.
539. Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on Candidiasis in immunodeficient mice / R. D. Wagner, C. Pierson, T. Warner [et al.] // *Infection and immunity*. — 1997. — Vol. 65, No. 10. — P. 4165–4172.
540. Risk factors of gastric precancerous lesions in a high-risk colombian population (II) nitrate and nitrite / V. W. Chen, R. R. Abu-Elyazeed, D. E. Zavala [et al.] // *Nutrition and cancer*. — 1990. — Vol. 13, No. 1–2. — P. 67–72.

541. Marks P. Fos is required for egf stimulation of the gastrin promoter / P. Marks, G. Iyer, Y. Cui, J. L. Merchant // *The American journal of physiology*. — 1996. — Vol. 271, No. 6 Pt 1. — P. G942- G 948.
542. Wiegert N. V. S. Gastrin secretion from primary cultures of rabbit antral G-cells: stimulation by inflammatory cytokines / V. S. N. Wiegert, K. Schaffer // *Gastroenterology*. — 1996. — Vol. 110. — P. 147–154.
543. Moro K. Innate lymphoid cells, possible interaction with microbiota / K. Moro, S. Koyasu // *Seminars in immunopathology*. — 2015. — Vol. 37, No. 1. — P. 27–37.
544. Kristensen M. Mucus secretion in hypertrophic, hypersecretory, protein-losing gastropathy / M. Kristensen, T. Nilsson // *The American journal of gastroenterology*. — 1985. — Vol. 80, No. 2. — P. 77–81.
545. Якубовская О. Г. Клинико-морфологическая характеристика хронического гастродуоденита у детей с синдромом дисплазии соединительной ткани сердца / О. Г. Якубовская. — 2008. — 24 с.
546. Сосновская Е. В. Структурно-функциональная характеристика воспалительных изменений слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки при дисплазии соединительной ткани / Е. В. Сосновская, Е. А. Лялюкова, М. А. Ливзан, В. Б. Колокольцев // *Морфология*. — 2008. — Т. 133, No. 2. — С. 127–132.
547. Гульнева М. Ю. Микробиоценоз кишечника при системных заболеваниях соединительной ткани / М. Ю. Гульнева, Н. П. Шилкина, Э. В. Малафеева // *Клиническая медицина*. — 2007. — Т. 85, No. 8. — С. 50–54.
548. Челпаченко О. Е. Патогенетическое значение микробиоценоза кишечника у детей с синдромом дисплазии соединительной ткани и возможные пути коррекции / О. Е. Челпаченко. — М. : 2003. — 20 с.
549. Иванова И. И. Особенности проявлений заболеваний пищеварительного тракта у детей с дисплазией соединительной ткани / И. И. Иванова, С. Ф.

- Гнусаев, Ю. С. Апенченко // Вопросы современной педиатрии. — 2012. — Т. 11, No. 5. — С. 50–55.
550. Kim Y. S. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress / Y. S. Kim, S. B. Ho // Current gastroenterology reports. — 2010. — Vol. 12, No. 5. — P. 319–30.
551. Kien C. L. Cecal infusion of butyrate increases intestinal cell proliferation in piglets / C. L. Kien, R. Blauwiel, J. Y. Bunn [et al.] // The Journal of nutrition. — 2007. — Vol. 137, No. 4. — P. 916–922.
552. Archer S. Y. P21(WAF1) is required for butyrate-mediated growth inhibition of human colon cancer cells / S. Y. Archer, S. Meng, A. Shei, R. A. Hodin // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. — 1998. — Vol. 95, No. 12. — P. 6791–6796.
553. Bordonaro M. Pharmacological and genetic modulation of wnt-targeted cre-lox-mediated gene expression in colorectal cancer cells / M. Bordonaro, D. L. Lazarova, A. C. Sartorelli // Nucleic Acids Research. — 2004. — Vol. 32, No. 8. — P. 2660–2674.
554. Mager D. L. Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? / D. L. Mager // Journal of translational medicine. — 2006. — Vol. 4. — P. 14.
555. Лукьянова Е. М. Новый мультипробиотик «Апибакт» и перспективы его применения в лечении детей с заболеваниями органов пищеварения, ассоциированных с дисбиозом кишечника / Е. М. Лукьянова // Здоровье женщины. — 2005. — Т. 21, No. 1. — С. 205–211.
556. Муквіч О. М. Ефективність протирецидивних курсів мультипробіотика «Апібакт» у дітей із захворюваннями органів травлення / О. М. Муквіч // Современная педиатрия. — 2004. — Т. 16, No. 4. — С. 162–166.
557. Цирюк О. І. Морфологічний та лектиногістохімічний аналіз слизової оболонки шлунка після 28-денної гіпоацидності / О. І. Цирюк // Вісник проблем біології і медицини. — 2014. — Vol. 2, No. 2(109). — С. 295–300.

558. Берегова Т. В. Мультипробіотик «Симбігер» як засіб профілактики структурно-морфологічних змін в шлунку, що виникають на фоні зниженої кислотності шлункового соку / Т. В. Берегова, О. І. Цирюк // Збірник праць Сателітного симпозиуму «Сучасні аспекти застосування пробіотиків в педіатрії». — 2008. — С. 52–57.
559. Чижанська Н. В. Нові дані про механізми цитопротективної дії меланіну / Н. В. Чижанська, В. М. Кухарський, О. І. Цирюк // Гастроентерологія. Міжвідомчий збірник. — 2007. — No. 39. — С. 145–150.
560. Książczyńska D. Overuse of proton pump inhibitors / D. Książczyńska, A. Szeląg, L. Paradowski // Pol. Arch. Med. Wewn. — 2015. — Vol. 125, No. 4. — P. 289–298.
561. Berardi R. R. Proton-pump inhibitors in acid-related diseases / R. R. Berardi, L. S. Welage // Am J Health Syst Pharm. — 1988. — Vol. 55. — P. 2289–2298.
562. Welage L. S. Evaluation of omeprazole, lansoprazole, pantoprazole, and rabeprazole in the treatment of acid-related diseases / L. S. Welage, R. R. Berardi // J Am Pharm Assoc. — 2000. — Vol. 40. — P. 52–62.
563. Stedman C. A. Review article: comparison of the pharmacokinetics, acid suppression and efficacy of proton pump inhibitors / C. A. Stedman, M. L. Barclay // Aliment Pharmacol Ther. — 2000. — Vol. 14. — P. 963–978.
564. Naylor G. The role of bacterial overgrowth in the stomach as additional risk factor for gastritis / G. Naylor, A. Axon — 2002. — P. 185–194
565. Väkeväinen S. Ethanol-derived microbial production of carcinogenic acetaldehyde in achlorhydric atrophic gastritis / S. Väkeväinen // Scand J Gastroenterol. — 2002. — Vol. 37. — P. 648–655.
566. Genetic or chemical hypochlorhydria is associated with inflammation that modulates parietal and g-cell populations in mice / Y. Zavros, G. Rieder, A. Ferguson [et al.] // Gastroenterology. — 2002. — Vol. 122, No. 1. — P. 119–133.

567. Tsyryuk O. The influence of multiprobiotic «Symbiter® acidophilic» on structurally functional state of gastric mucosa in omeprazole-treated rats / O. Tsyryuk, O. Radchuk, V. Rybalchenko, T. Beregova // *Annales universitatis Mariae Curie-Sklodowska*. — 2008. — Vol. XXI, No. 1,46. — P. 257–260.
568. Абдулахад К. Вплив мультипробіотика «Симбітер® форте» на слизову оболонку шлунка та пристінковий слиз в умовах тривалої гіпоацидності / К. Абдулахад, О. Цирюк, К. Непорада, Т. Берегова // *Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій*. — 2011. — No. 14. — С. 44–46.
569. Tsyryuk O. Effect of multiprobiotic “Symbiter® acidophilic” concentrated on morphofunctional changes in stomach evoked by 28-days introduction of omeprazole / O. Tsyryuk, T. Beregova // *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*. — 2010. — Vol. 4, No. 1. — P. 52–56.
570. McColl K. E. Review article: gastrin releasing peptide and its value in assessing gastric secretory function / K. E. McColl, E. El-Omar // *Aliment. Pharmacol. Ther.* — 1995. — Vol. 9. — P. 341–347.
571. The effectiveness of ranitidine in reducing gastric acid-secretion decreases with continued therapy / P. J. Prichard, D. B. Jones, N. D. Yeomans [et al.] // *Br. J. clin. Pharmac.* — 1986. — Vol. 22. — P. 663–668.
572. Effects of hypochlorhydria and hypergastrinemia on structure and function of gastrointestinal cells / J. W. Freston, K. Borch, B. Stephen [et al.] // *Digestive diseases and sciences*. — 1995. — Vol. 40. — P. 50S–62S.
573. Merchant J. L. Inducible regulation of gastrin gene expression. gastrin in the new millenium / J. L. Merchant, T. P. Tucker, Y. Zavros // Los Angeles, CA: CURE Foundation. — 2004. — P. 55–69.
574. Ewaschuk J. B. Bioproduction of conjugated linoleic acid by probiotic bacteria occurs in vitro and in vivo in mice / J. B. Ewaschuk, J. W. Walker, H. Diaz, K. L. Madsen // *The Journal of nutrition*. — 2006. — Vol. 136, No. 6. — P. 1483–1487.

575. Takeyama K. Peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR)—structure, function, tissue distribution, gene expression / K. Takeyama, Y. Kodera, M. Suzawa, S. Kato // *Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine.* — 2000. — Vol. 58, No. 2. — P. 357–363.
576. Kwiecień S. Gastric analysis with fractional test meals (ethanol, caffeine, and peptone meal), augmented histamine or pentagastrin tests, and gastric pH recording / S. Kwiecień, S. J. Konturek // *Journal of physiology and pharmacology: an official journal of the Polish Physiological Society.* — 2003. — Vol. 54. — P. 69–82.
577. Berger J. The mechanisms of action of PPARs / J. Berger, D. E. Moller // *Annual review of medicine.* — 2002. — Vol. 53. — P. 409–35.
578. International union of pharmacology LXI peroxisome proliferator-activated receptors / L. Michalik, J. Auwerx, J. P. Berger [et al.] // *Pharmacological reviews.* — 2006. — Vol. 58, No. 4. — P. 726–741.
579. Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical transcriptional network / A. L. Bookout, Y. Jeong, M. Downes [et al.] // *Cell.* — 2006. — Vol. 126, No. 4. — P. 789–799.
580. Osawa E. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands suppress colon carcinogenesis induced by azoxymethane in mice / E. Osawa, A. Nakajima, K. Wada // *Gastroenterology.* — 2003. — Vol. 124, No. 2. — P. 361–367.
581. Panigrahy D. PPARgamma as a therapeutic target for tumor angiogenesis and metastasis / D. Panigrahy, S. Huang, M. W. Kieran, A. Kaipainen // *Cancer biology & therapy.* — 2005. — Vol. 4, No. 7. — P. 687–693.
582. Pioglitazone inhibits EGFR/MDM2 signaling-mediated PPAR $\gamma$  degradation / J. Shi, W. Zhang, M. You [et al.] // *European journal of pharmacology.* — 2016. — Vol. 791. — P. 316–321.
583. Constitutive expression of PPAR $\gamma$  inhibits proliferation and migration of gastric cancer cells and down-regulates WNT/ $\beta$ -catenin signaling pathway

- downstream target genes TERT and ENAH. / F. Guo, X. Ren, Y. Dong [et al.] // *Gene*. — 2016. — Vol. 584, No. 1. — P. 31–37.
584. Cabrero A. Peroxisome proliferator-activated receptors and the control of inflammation / A. Cabrero, J. C. Laguna, M. Vázquez // *Current drug targets. Inflammation and allergy*. — 2002. — Vol. 1, No. 3. — P. 243–248.
585. PPARgamma as a new therapeutic target in inflammatory bowel diseases / L. Dubuquoy, C. Rousseaux, X. Thuru [et al.] // *Gut*. — 2006. — Vol. 55, No. 9. — P. 1341–1349.
586. Emerging role of the  $\beta$ -catenin-PPAR $\gamma$  axis in the pathogenesis of colorectal cancer / L. Sabatino, M. Pancione, C. Votino [et al.] // *World journal of gastroenterology*. — 2014. — Vol. 20, No. 23. — P. 7137–7151.
587. Bouskila M. Adiponectin: a relevant player in ppargamma-agonist-mediated improvements in hepatic insulin sensitivity? / M. Bouskila, U. B. Pajvani, P. E. Scherer // *International journal of obesity*. — 2005. — Vol. 29. — P. S17- S 23.
588. Activated liver receptors stimulate adipocyte differentiation through induction of peroxisome proliferator-activated receptor gamma expression / J. B. Seo, H. M. Moon, W. S. Kim [et al.] // *Molecular and cellular biology*. — 2004. — Vol. 24, No. 8. — P. 3430–3444.
589. Walcher D. Insulin resistance and cardiovascular disease: the role of PPARgamma activators beyond their anti-diabetic action / D. Walcher, N. Marx // *Diabetes & vascular disease research*. — 2004. — Vol. 1, No. 2. — P. 76–81.
590. Gustafsson M. C. U. Ligand modulated antagonism of ppargamma by genomic and non-genomic actions of PPARdelta / M. C. U. Gustafsson, D. Knight, C. N. A. Palmer // *PloS One*. — 2009. — Vol. 4, No. 9. — P. 70-76.
591. Scarpulla R. C. Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis / R. C. Scarpulla, R. B. Vega, D. P. Kelly // *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. — 2012. — Vol. 23, No. 9. — P. 459–466.

592. Lecarpentier Y. Circadian rhythms, WNT/beta-catenin pathway and PPAR alpha/gamma profiles in diseases with primary or secondary cardiac dysfunction / Y. Lecarpentier, V. Claes, G. Duthoit, J.-L. Hébert // *Frontiers in physiology*. — 2014. — Vol. 5. — P. 429.
593. Adipose-specific peroxisome proliferator-activated receptor gamma knockout causes insulin resistance in fat and liver but not in muscle. / W. He, Y. Barak, A. Hevener [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 2003. — Vol. 100, No. 26. — P. 15712–15717.
594. Karak M. Targeting peroxisome proliferator-activated receptor gamma for generation of antidiabetic drug / M. Karak, N. C. Bal, A. Sharon // *Current diabetes reviews*. — 2013. — Vol. 9, No. 4. — P. 275–285.
595. Terminal differentiation of human liposarcoma cells induced by ligands for peroxisome proliferator-activated receptor gamma and the retinoid receptor / P. Tontonoz, S. Singer, B. M. Forman [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1997. — Vol. 94, No. 1. — P. 237–241.
596. Induction of solid tumor differentiation by the peroxisome proliferator-activated receptor-gamma ligand troglitazone in patients with liposarcoma / G. D. Demetri, C. D. Fletcher, E. Mueller [et al.] // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. — 1999. — Vol. 96, No. 7. — P. 3951–3956.
597. Terminal differentiation of human breast cancer through PPAR gamma / E. Mueller, P. Sarraf, P. Tontonoz [et al.] // *Molecular cell*. — 1998. — Vol. 1, No. 3. — P. 465–470.
598. Plonka P. M. Melanin synthesis in microorganisms—biotechnological and medical aspects / P. M. Plonka, M. Grabacka // *Acta biochimica Polonica*. — 2006. — Vol. 53, No. 3. — P. 429–443.
599. Curcumin inhibits trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis in rats by activation of peroxisome proliferator-activated receptor gamma / M. Zhang, C.

- Deng, J. Zheng [et al.] // *International immunopharmacology*. — 2006. — Vol. 6, No. 8. — P. 1233–1242.
600. Чижанська Н. В. Про участь оксиду азоту в цитопротективній дії меланіну на слизову оболонку шлунка / Н. В. Чижанська, Т. В. Берегова, О. І. Цирюк // *Вісник проблем біології і медицини*. — 2005. — No. 5. — С. 56–59.
601. Nitric oxide inhibits gastric acid secretion by increasing intraparietal cell levels of CGMP in isolated human gastric glands / A. Berg, S. Redéen, M. Grenegård [et al.] // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology*. — 2005. — Vol. 289, No. 6. — P. G1061- G 1066.
602. Kitazawa T. Potentiation of motilin-induced contraction by nitric oxide synthase inhibition in the isolated chicken gastrointestinal tract / T. Kitazawa, C. Onodera, T. Taneike // *Neurogastroenterology and motility: the official journal of the European Gastrointestinal Motility Society*. — 2002. — Vol. 14, No. 1. — P. 3–13.
603. Calatayud S. Nitric oxide: relation to integrity, injury, and healing of the gastric mucosa / S. Calatayud, D. Barrachina, J. V Esplugues // *Microscopy research and technique*. — 2001. — Vol. 53, No. 5. — P. 325–335.
604. Cho C. H. Current roles of nitric oxide in gastrointestinal disorders. / C. H. Cho // *Journal of physiology, Paris*. — Vol. 95, No. 1–6. — P. 253–256.
605. Roles of inducible nitric oxide synthase in the development and healing of experimentally induced gastric ulcers / M. Tatemichi, T. Ogura, N. Sakurazawa [et al.] // *International journal of experimental pathology*. — 2003. — Vol. 84, No. 5. — P. 213–220.
606. Increased risk of intestinal type of gastric adenocarcinoma in japanese women associated with long forms of CCTTT pentanucleotide repeat in the inducible nitric oxide synthase promoter / M. Tatemichi, T. Sawa, I. Gilibert [et al.] // *Cancer letters*. — 2005. — Vol. 217, No. 2. — P. 197–202.
607. Kostadinova R. PPARs in diseases: control mechanisms of inflammation / R.

- Kostadinova, W. Wahli, L. Michalik // *Current medicinal chemistry*. — 2005. — Vol. 12, No. 25. — P. 2995–3009.
608. Polikandriotis J. A. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands stimulate endothelial nitric oxide production through distinct peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent mechanisms / J. A. Polikandriotis, L. Mazzella, H. L. Rupnow // *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol*. — 2005. — Vol. 25, No. 9. — P. 1810–1816.
609. Leite L. P. Persistent acid secretion during omeprazole therapy: a study of gastric acid profiles in patients demonstrating failure of omeprazole therapy / L. P. Leite, B. T. Johnston, R. J. Just, D. O. Castell // *The American journal of gastroenterology*. — 1996. — Vol. 91, No. 8. — P. 1527–1531.
610. Nakazawa S. Late phase II clinical trial of e3810 (rabeprazole sodium) for the treatment of gastric and duodenal ulcers: dose-finding study using a double-blind comparative method / S. Nakazawa, M. Namiki, Y. Matsuo // *Mod. Physician*. — 1994. — Vol. 14. — P. 38–68.
611. Rindi G. Argrophil ecl cell histology in the gastric corpus and antrum in 243 patients taking rabeprazole 10 mg or 20 mg omeprazole for one year / G. Rindi, R. Fiocca, T. Humphries // *American College of gastroenterology 63-rd Annual meeting*. — 1998.- No.59(3).- P.234
612. Proton pump inhibitor usage and the risk of myocardial infarction in the general population / N. H. Shah, P. LePendou, A. Bauer-Mehren [et al.] // *PloS one*. — 2015. — Vol. 10, No. 6. — P. e0124.
613. Goodman S. G. Association of proton pump inhibitor use on cardiovascular outcomes with clopidogrel and ticagrelor: insights from the platelet inhibition and patient outcomes trial / S. G. Goodman, R. Clare, K. S. Pieper// *Circulation*. — 2012. — Vol. 125, No. 8. — P. 978–986.
614. Cooke J. P. DDAH says NO to ADMA / J. P. Cooke, Y. T. Ghebremariam // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. — 2011. — Vol. 31, No. 7. — P. 1462–1464.

615. Савицький Я. М. Меланіни в регуляції моторної функції проксимального відділу травного тракту та секреції шлункових залоз / Я. М. Савицький, В. Й. Кімакович, Т. В. Берегова // Практична медицина. — 2002. — No. 3. — С. 55–59.
616. Фалалеева Т. М. Влияние пролин-содержащих пептидов Pro-Gly-Pro и его метаболитов Gly-Pro и Pro-Gly на желудочную секрецию кислоты у крыс / Т. М. Фалалеева, Г. Е. Самонина, Т. В. Береговая // Світ біології та медицини. — 2010. — Vol. 2. — С. 189–193.
617. Полякова А. А. Вплив меланіну на слизову оболонку шлунку щурів при гіпергастринемії / А. А. Полякова, О. К. Вороніна, Т. В. Берегова, М. Е. Держинський // Вісник морфології. — 2011. — Т. 17, No. 3. — С. 538–542.
618. Ступин В. А. Функциональная гастроэнтерология. инструментальные методы исследования / В. А. Ступин. — М.: 2009. — 28 с.
619. Howden C. W. Relationship between gastric secretion and infection/ C. W. Howden, R. H. Hunt // Gut. — 1987. — Vol. 28, No. 1. — P. 96–107.
620. Beales I. L. Interleukin 1 beta and tumour necrosis factor alpha inhibit acid secretion in cultured rabbit parietal cells by multiple pathways/ I. L. Beales, J. Calam // Gut. — 1998. — Vol. 42, No. 2. — P. 227–234.
621. El-Omar E. M. The role of interleukin-1 polymorphisms in the pathogenesis of gastric cancer / E. M. El-Omar, M. Carrington, W. H. Chow // Nature. — 2001. — Vol. 412, No. 6842. — P. 99.
622. Ruggiero P. Helicobacter pylori and inflammation / P. Ruggiero // Current pharmaceutical design. — 2010. — Vol. 16, No. 38. — P. 4225–4236.
623. Ayala G, Escobedo-Hinojosa WI, de la Cruz-Herrera CF1 R. I. Exploring alternative treatments for Helicobacter pylori infection / R. I. Ayala G, Escobedo-Hinojosa WI, de la Cruz-Herrera CF // World J Gastroenterol. — 2014. — Vol. 20, No. 6. — P. 1450–1469.
624. Bacterial overgrowth without clinical malabsorption in elderly

- hypochlorhydric subjects / J. R. Saltzman, K. V Kowdley, M. C. Pedrosa [et al.] // *Gastroenterology*. — 1994. — Vol. 106, No. 3. — P. 615–623.
625. Береговая Т. В. Моторика толстой кишки в условиях длительного введения омепразола и ее коррекция мультипробиотиком / Т. В. Береговая, С. В. Пилипенко, Ю. В. Цейслер [и др.] // *Российский биофармацевтический журнал*. — 2014. — Т. 2, No. 6. — с. 37–40.
626. Omeprazole causes delay in gastric emptying of digestible meals / L. Benini, G. Castellani, E. Bardelli [et al.] // *Digestive diseases and sciences*. — 1996. — Vol. 41, No. 3. — P. 469–474.
627. Effect of gastric acid suppressants on human gastric motility / H. P. Parkman, J. L. Urbain, L. C. Knight [et al.] // *Gut*. — 1998. — Vol. 42, No. 2. — P. 243–250.
628. Biolato M. Gastric non-secreting neuroendocrine tumor and hypochlorhydria-related hypergastrinemia: a case report / M. Biolato, S. Alfieri, G. Ianiro [et al.] // *Journal of medical case reports*. — 2013. — Vol. 7. — P. 53.
629. Cattan D. Discussion on the effect of chronic hypergastrinemia on human enterochromaffin-like cells: insights from patients with sporadic gastrinomas / D. Cattan // *Gastroenterology*. — 2003. — Vol. 125, No. 2. — P. 627–628.
630. Dufresne M. Cholecystinin and gastrin receptors / M. Dufresne, C. Seva, D. Fourmy // *Physiological reviews*. — 2006. — Vol. 86, No. 3. — P. 805–847.
631. Kroupa R. Risk of  
 . — 2010. — Vol. 56, No. 2. — P. 115–119.
632. Olbe L. Effect of omeprazole on gastric acid secretion and plasma gastrin in man / L. Olbe, C. Cederberg, T. Lind, M. Olausson // *Scandinavian journal of gastroenterology*. — 1989. — Vol. 166. — P. 27–32.
633. Effect of omeprazole—a gastric proton pump inhibitor—on pentagastrin stimulated acid secretion in man / T. Lind, C. Cederberg, G. Ekenved [et al.] // *Gut*. — 1983. — Vol. 24, No. 4. — P. 270–276.
634. Inhibition of gastric acid secretion by omeprazole in the dog and rat / H.

- Larsson, E. Carlsson, U. Junggren [et al.] // *Gastroenterology*. — 1983. — Vol. 85, No. 4. — P. 900–907.
635. Marked rebound acid hypersecretion after treatment with ranitidine / E. el-Omar, S. Banerjee, A. Wirz [et al.] // *The American journal of gastroenterology*. — 1996. — Vol. 91, No. 2. — P. 355–359.
636. Effect of IL-1 $\beta$  and IL-1 $\alpha$  polymorphisms in carcinogenesis of the gastric mucosa in patients infected with *Helicobacter pylori* in algeria. / A. E.-M. Drici, S. Moulessehoul, A. Tifrit [et al.] // *The Libyan journal of medicine*. — 2016. — Vol. 11. — P. 31-56.
637. Philip M. Inflammation as a tumor promoter in cancer induction / M. Philip, D. A. Rowley, H. Schreiber // *Semin. Cancer Biol.* — 2009. — Vol. 14. — P. 433 — 439.
638. Persson C. Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: a huge systematic review and meta-analyses / C. Persson, P. Canedo, J. Machado // *Am J Epidemiol.* — 2011. — Vol. 173. — P. 259–270.
639. Яковенко В. О. Ендоскопічна діагностика / В. О. Яковенко, М. П. Захараш, О. Г. Курик. — Вінниця : 2013. — 136 с.
640. Martel C. de Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis / C. de Martel, J. Ferlay, S. Franceschi // *The Lancet. Oncology*. — 2012. — Vol. 13, No. 6. — P. 607–615.
641. Бабак О. Я. Ингибиторы протонной помпы: вопросы и ответы / О. Я. Бабак // *Сучасна гастроентерологія*. — 2003. — No. 3. — С. 4–8.
642. Yeomans N. D. Personal review: alarmism or legitimate concerns about long-term suppression of gastric acid secretion? / N. D. Yeomans, J. Dent // *Alimentary pharmacology & therapeutics*. — 2000. — Vol. 14, No. 3. — P. 267–271.
643. Ткач С. М. Перспективы парентерального применения ингибиторов протонной помпы в клинической практике / С. М. Ткач // *Медична газета:*

- Здоров'я України. — 2004. — С. 3–5.
644. Arroyo Villarino M. T. Effects of long-term treatment with lansoprazole and omeprazole on serum gastrin and the fundic mucosa. / M. T. Arroyo Villarino, A. Lanas Arbeloa, F. Esteva Día z digestivas.-1997. — Vol. 89, No. 5. — P. 347–56.
645. Rao J.N. Regulation of gastrointestinal mucosal growth [Електронний ресурс]/ Rao J.N., Wang J.Y.// Morgan & Claypool Life Sciences, 2010. Режим доступу :<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21634069>
646. Identification of a receptor for reg (regenerating gene) protein, a pancreatic beta-cell regeneration factor / S. Kobayashi, T. Akiyama, K. Nata [et al.] // The Journal of biological chemistry. — 2000. — Vol. 275, No. 15. — P. 10723–10726.
647. Opposite roles of human pancreatitis-associated protein and Reg1a expression in hepatocellular carcinoma: association of pancreatitis-associated protein expression with low-stage hepatocellular carcinoma, beta-catenin mutation, and favorable prognosis / R.-H. Yuan, Y.-M. Jeng, H.-L. Chen [et al.] // Clinical cancer research. — 2005. — Vol. 11, No. 7. — P. 2568–2575.
648. Reg 1 alpha protein may function as a trophic and/or anti-apoptotic factor in the development of gastric cancer / A. Sekikawa, H. Fukui, S. Fujii [et al.] // Gastroenterology. — 2005. — Vol. 128, No. 3. — P. 642–653.
649. Барінов П. Г., Кондратенко Э. Ф. Морфогенез краєвої зони язв желудка на фоні антисекреторної терапії після острого кровотечення / П. Г. Барінов, Э. Ф. Кондратенко, О. Н. Сулаєва, С. О. Жариков // Хірургія України. — 2014. — Т. 1. — С. 30–34.
650. Peumans W. J. Classification of plant lectins in families of structurally and evolutionary related proteins / W. J. Peumans, E. J. Van Damme, A. Barre, P. Rougé // Advances in experimental medicine and biology. — 2001. — Vol. 491. — P. 27–54.
651. Identification of novel pathways in plant lectin-induced cancer cell apoptosis /

- Z. Shi, R. Sun, T. Yu [et al.] // International journal of molecular sciences. — 2016. — Vol. 17, No. 2. — P. 228.
652. Buschiazzo A. Structural insights into sialic acid enzymology / A. Buschiazzo, P. M. Alzari // Current opinion in chemical biology. — 2008. — Vol. 12, No. 5. — P. 565–572.
653. Bertozzi C. R. Structural basis of glycan diversity / C. R. Bertozzi, D. Rabuka // Essentials of Glycobiology. — 2009. — Vol. 2. — P. 97–121.
654. Mejia E. G. de The anticarcinogenic potential of soybean lectin and lunasin / E. G. de Mejia, T. Bradford, C. Hasler // Nutrition reviews. — 2003. — Vol. 61, No. 7. — P. 239–246.
655. Weis W. I. Structural basis of lectin-carbohydrate recognition / W. I. Weis, K. Drickamer // Annual review of biochemistry. — 1996. — Vol. 65. — P. 441–73.
656. Vernygorodskyi S. Immunohistochemical evaluation of mucin expression in precancerous tissue of stomach / S. Vernygorodskyi // Experimental oncology. — 2013. — Vol. 35, No. 2. — P. 114–117.
657. Gelesnaya L. Structure and functions of mucus glycoproteins of mucus (mucins) / L. Gelesnaya // Rus J Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. — 1998. — Vol. 1. — P. 30–37.
658. Essential role of gastric gland mucin in preventing gastric cancer in mice / F. Karasawa, A. Shiota, Y. Goso [et al.] // The Journal of clinical investigation. — 2012. — Vol. 122, No. 3. — P. 923–934.
659. Edaise M. Molecular analyses of early-onset gastric cancer in Brazilian patients: TP53 mutations, cadherin-catenin and mucins proteins expression / M. Edaise, J. H. TG. // J Cancer Therapy. — 2013. — Vol. 4. — P. 33–42.
660. Johnson L. R. Proglumide inhibition of trophic action of pentagastrin / L. R. Johnson, P. D. Guthrie // The American journal of physiology. — 1984. — Vol. 246, No. 1. — P. G62–G66.
661. Держинський М. Е. Вплив введення блокатору ССК-рецепторів

- проглуміду на слизову оболонку шлунка щурів після тривалого введення омепразолу / М. Е. Держинський, Т. В. Берегова, О. К. Вороніна // Матеріали міжнародної науково - практичної конференції студентів , аспірантів та молодих вчених “ Шевченківська весна ”, Київ — 2007. — С.12-13.
662. Цирюк О. І. Вплив верапамілу на секреторну функцію шлунка за умов тривалої омепразол-індукованої гіпохлоргідрії / О. І. Цирюк, Ю. Ю. Головинська, Н. С. Скочко, Т. В. Берегова // Вісник Львівського університету. — 2015. — No. 70. — С. 287–294.
663. Probiotics, prebiotics and immunomodulation of gut mucosal defences: homeostasis and immunopathology / H. Hardy, J. Harris, E. Lyon [et al.] // *Nutrients*. — 2013. — Vol. 5, No. 6. — P. 1869–1912.
664. Sertznig P. Present concepts and future outlook: function of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) for pathogenesis, progression, and therapy of cancer / P. Sertznig, M. Seifert, W. Tilgen, J. Reichrath // *Journal of cellular physiology*. — 2007. — Vol. 212, No. 1. — P. 1–12.
665. Activation of human T lymphocytes is inhibited by peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) agonists. PPARgamma co-association with transcription factor NFAT / X. Y. Yang, L. H. Wang, T. Chen [et al.] // *The Journal of biological chemistry*. — 2000. — Vol. 275, No. 7. — P. 4541–4544.
666. Harris S. G. The nuclear receptor PPAR gamma is expressed by mouse t lymphocytes and ppar gamma agonists induce apoptosis / S. G. Harris, R. P. Phipps // *European journal of immunology*. — 2001. — Vol. 31, No. 4. — P. 1098–1105.
667. Tsyryuk O. The influence of pioglitazone on basal gastric acid secretion in omeprazole-treated rats / O. Tsyryuk, V. Kukharsky, T. V. Beregova // *Annales universitatis Mariae Curie-Sklodowska*. — 2009. — Vol. 2, No. 18. — P. 125–128.

668. Chen A. Activation of PPAR gamma by curcumin inhibits moser cell growth and mediates suppression of gene expression of cyclin D1 and EGFR / A. Chen, J. Xu // *American journal of physiology. Gastrointestinal and liver physiology.* — 2005. — Vol. 288, No. 3. — P. G447- G456.
669. Apoptosis induced by activation of peroxisome-proliferator activated receptor-gamma is associated with BCL-2 and NF-kappaB in human colon cancer / G. G. Chen, J. F. Y. Lee, S. H. Wang [et al.] // *Life sciences.* — 2002. — Vol. 70, No. 22. — P. 2631–2646.
670. Fucoxanthin induces apoptosis and enhances the antiproliferative effect of the PPARgamma ligand, troglitazone, on colon cancer cells / M. Hosokawa, M. Kudo, H. Maeda [et al.] // *Biochimica et biophysica acta.* — 2004. — Vol. 1675, No. 1–3. — P. 113–119.