



УКРАЇНА

(19) UA (11) 62655 (13) U  
(51) МПК (2011.01)  
A61K 35/00  
A61P 1/00

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

## ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ СТРЕС-ІНДУКОВАНИХ ПОШКОДЖЕНЬ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПРОКСИМАЛЬНОГО ВІДДІЛУ ТРАВНОГО ТРАКТУ В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН**

1

2

(21) u201101205

(22) 03.02.2011

(24) 12.09.2011

(46) 12.09.2011, Бюл.№ 17, 2011 р.

(72) ПШИК-ТІТКО ІРЕНА ОЛЕГІВНА, ЗАЯЧКІВСЬКА ОКСАНА СТАНІСЛАВІВНА, ГЖЕГОЦЬКИЙ МЕЧИСЛАВ РОМАНОВИЧ

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

(57) Спосіб корекції стрес-індукованих пошкоджень слизової оболонки проксимального відділу травного тракту, що включає використання цитопротекторних засобів, який **відрізняється** тим, що в умовах експериментального моделювання стресу експериментальним тваринам (щурам) вводять як цитопротекторний засіб препарат кавбузол (екстракт насіння кавбуза) per os в дозі 0,5 мл на 200 г/добу.

Корисна модель належить до медицини, а власне до способів, які сприяють посиленню цитопротекторних та регенераторних властивостей слизової оболонки стравоходу (СОС) та ротової порожнини (СОПР), і може бути використана для профілактики і лікування езофагальних захворювань та екстраезофагальних проявів у ротовій порожнині кислотоасоційованих захворювань.

В Україні, як і у всьому світі, зростає захворюваність на хронічні кислотоасоційовані захворювання, до яких відносять гастроезофагальну рефлюксну хворобу (ГЕРХ) та неерозивну рефлюксну хворобу (НЕРХ), диспепсію та виразкову хворобу. Бар'єрна функція проксимального відділу травного тракту - це багатофакторний процес, в якому провідна роль належить ендогенним клітинним та субклітинним молекулярним механізмам, що забезпечують природну реституцію.

Відомий спосіб [1] лікування пошкоджень слизової оболонки проксимального відділу травного тракту із застосуванням антагоністів гістамінових рецепторів типу 2 та інгібіторів протонної помпи часто є малоефективним, про що свідчить збільшення поширеності захворюваності, атипова симптоматика клінічної картини, розвиток ускладнень, а також рефрактерності до лікування.

Все це вимагає пошуку нових способів лікування із застосуванням ефективніших цитопротекторних засобів, зокрема, особлива увага надається засобам рослинного походження.

В основу корисної моделі поставлено задачу створення способу корекції виразково-ерозивних пошкоджень слизової оболонки проксимального відділу травного тракту із застосуванням препарату рослинного походження, що дозволить підвищити ефективність цитопротекції та загоєння неерозивних уражень слизової оболонки ротової порожнини і стравоходу.

Поставлена задача вирішується тим, що у способі корекції стрес-індукованих пошкоджень слизової оболонки проксимального відділу травного тракту, що включає використання цитопротекторних засобів, згідно з корисною моделлю, в умовах експериментального моделювання стресу експериментальним тваринам (щурам) вводять як цитопротекторний засіб препарат кавбузол (екстракт насіння кавбуза) per os в дозі 0,5 мл на 200 г/добу.

Препарат кавбузол є екстрактом з насіння кавбуза (КЗ) - однієї з нових культурних рослин-гібридів, отриманих оригінальним способом за допомогою біотехнологій через взаємодію препаратів нуклеїнових кислот кавуна і гарбуза [2]. Відомо про протипухлинну, радіопротекторну, антиоксидантну, антиатеросклеротичну, гіпоглікемічну, регенераторну, протизапальну дію кавбуза. Він займає одне з перших місць серед культур-джерел каротину, а також містить понад 15 % цукрів, переважно фруктози, а також сахарозу і глюкозу, клітковину, пектин, білки, фітин, фосфорні сполу-

(13) U

(11) 62655

(19) UA

ки, ферменти, вітаміни А, В, С, В2, РР, г, мінеральні речовини (калій, кальцій, магній, залізо, кобальт) [2]. Цитопротекторні властивості кавбуза зумовлені наявністю карозину, проте недостатньо вивчені в гастроентерології.

Запропонована корисна модель ілюструється рисунками:

Фіг. 1 - мікрофото слизової оболонки стравоходу щура інтактної групи,

Фіг. 2 - мікрофото стравоходу щура з групи, де тваринам вводили мерказоліл (запалення II ступеня: виражений нерівномірний набряк підслизової та інфільтрація),

Фіг. 3 - мікрофото слизової оболонки щура з групи, в якій тваринам вводили мерказоліл з кавбузолом (пошкодження I ступеня: розволокнення рогового шару).

Спосіб корекції стрес-індукованих пошкоджень слизової оболонки проксимального відділу травного тракту здійснюють таким чином.

В умовах експериментального моделювання стресу експериментальним тваринам (щурам) вводять як цитопротекторний засіб препарат кавбузол (екстракт насіння кавбуза) *per os* в дозі 0,5 мл на 200 г/добу.

Вплив олії кавбуза на процеси загоювання неерозивних уражень СОС було вивчено шляхом оцінки структурно-функціональної реорганізації слизової оболонки ясен та стравоходу щурів в умовах експериментального моделювання стресу та в різні терміни загоювання.

Модельні дослідження проводили на нелінійних самцях щурів масою 180-220 г з дотриманням нормативів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей та дозволу університетського Комітету з біоетики. Серії експериментів включали індукування протягом 28 днів гіпотиреозу за методикою Детюк Є.С., співавт. [3], вводячи тваринам мерказоліл (МР) в дозі 16 мг/кг/добу досередини, гіпергастринемії - за методикою Берегової Т.В. і співавт., [4] тварини отримували омепразол (ОМ) в дозі 18 мг/кг/добу, внутрішньоочередово та поєднання гіпотиреозу з гіпергастринемією - введенням ОМ і МР. Для контролю за приростом маси тіла тварин щотижнево зважували. Для індукції стрес-індукованих пошкоджень у проксимальному відділі травної системи використано загальноживану модель водно-імобілізаційного стресу (ВІС) за Takagi et al. [5], попередньо застосовуючи 24-годинну харчову депривацію з необмеженим доступом до води.

Схема експерименту передбачала розділення щурів, які отримували плацебо (фізрозчин 1,0 мл) і КЗ (0,5 мл на 200 г/добу) на групи (n=6-8): 1 - контролю, що склали інтактні тварини, 2 - тварини, що зазнали евтаназії відразу після індукції стресу, 3 - тварини, що зазнали евтаназії через 24 год після індукції ВІС, 4 - тварини, що зазнали евтаназії через 48 год після індукції ВІС [6]. Після завершення експерименту у наркотизованих тварин робили забір слизової оболонки ясен, язика, шлунку, щитоподібної залози та нижньої третини стравоходу для морфо-функціонального аналізу шляхом проведення матеріалу за загальноприйнятою методи-

кою з фарбуванням гематоксиліном та еозином (ГЕ).

Вивчення препаратів проведено за допомогою мікроскопа Olympus BX 41 з цифровою камерою Olympus C4040Z із програмним забезпеченням Olympus DP-Soft [Olympus, США]. Для аналізу змін СОРП і СОС застосовували напівкількісну візуально-аналогову шкалу (ВАШ) для визначення ступеня (ст.) пошкодження: - розволокнення рогового шару (I ст.), вогнищева базофілія мас кератину (II ст.), десквамація рогових мас, вакуолізація клітин базального шару, везикулярні ядра (III ст.); запалення - дифузний набряк підслизової (I ст.), виражений нерівномірний набряк підслизової та незначна інфільтрація (II ст.), виражений набряк та десквамація підслизової, периваскулярні або субепітеліальні інфільтрати (III ст.); гіперплазія - поодинокі гіперхромні ядра у базальних епітеліоцитах (I ст.), помірна кількість мітозів (II ст.), потовщення епітеліального шару (III ст.).

Морфо-функціональна оцінка впливу КЗ на загоєння ознак езофагіту та гінгівіту стресового походження включала вивчення стану рогового шару, представленого масами кератину, багатшарового плоского епітелію, базального шару та підслизової оболонки разом з мікроциркуляторним руслом з диференціюванням ступеня пошкодження, запалення, гіперплазії (як прояв загоєння) у СОС і СОРП.

У групі інтактних тварин у СОРП і СОС не було виявлено жодних ознак пошкодження, прояви запалення та гіперплазії не спостерігались. У тварин, яким вводили МЗ, простежено збільшення маси тіла; морфологічні дослідження щитоподібної залози виявили тиреоцити, заповнені колоїдом та інфільтровані сполучною тканиною, що підтверджує індукцію гіпотиреозу. Характерною ознакою слизової оболонки шлунку тварин, які отримували ОМ, були гіперплазія ендокриноцитів та парієтальних клітин шлунку на тлі збільшення товщини слизової оболонки, що є характерними ознаками дисплазії, індукованої гіпергастринемією. Характерними ознаками неерозивного езофагіту та гінгівіту на 48 год після індукції ВІС на тлі гіпотиреозу були ознаки пошкодження II ст. - базофілія рогових мас та, місцями, базальні епітеліоцити з вакуолізованою цитоплазмою (Табл. 1). Прояви запалення теж були помірно вираженими - переважав набряк підслизового шару з незначною, нерівномірною інфільтрацією. Ознаки загоєння були помірно виражені - підвищена кількість фігур мітозів у клітинах базального шару епітелію стравоходу і ясен, що підтверджує генералізований характер ушкоджень. При введенні КЗ ознаки пошкодження СОС і СОРП через 48 год були відсутні; прояви судинно-стромальної реакції були I ст., утримувався нерівномірно виражений набряк підслизової з поодинокими скупченнями лейкоцитів, гіперемія мікроциркуляторного русла (Табл. 1). Найбільш вираженими були прояви гіперплазії ясен: вогнищеве потовщення епітеліального шару та ознаки підвищеної мітотичної активності епітеліоцитів базальних відділів; тоді як у СОС виявлялись окремі групи клітин базального шару з гіперхромними, збільшеними ядрами.

Таблиця 1

Прояви альтерації, запалення та гіперплазії на 48 год після індукції водно-імобілізаційного стресу

Вид змін	Ступені пошкодження		
	I	II	III
Пошкодження (ясна)	M3+OM+K3	M3+OM	
Пошкодження (стравохід)	M3+K3	M3	
	M3+OM+K3	M3+OM	
Запалення (ясна)	M3+OM+K3	M3+OM	
Запалення (стравохід)	M3+K3	M3	
	M3+OM+K3	M3+OM	
Гіперплазія (ясна)	M3+K3	M3	
Гіперплазія (стравохід)	M3+K3	M3	

У тварин з гіпергастринемією через 24 год прояви пошкоджень СОРП і СОС, індуковані ВІС, та запалення були виражені мінімально - вогнищеве розволокнення мас кератину, місцями - з ознаками базофілії, та нерівномірний набряк підслизової. Ознаки загоєння теж незначно виражені (Табл 2). Місцями спостерігалось сплюснення епітеліоцитів, вогнищеве витончення рогових мас та зменшення рядності епітеліального шару, які можна розцінювати як початкові прояви атрофії. При введенні К3 прояви альтерації та реакція мікроциркуляторного русла практично не виявлялись: епі-

теліальний шар, підслизовий - з мінімальними ознаками набряку. Мітотична активність базальних епітеліоцитів не виражена. В слизовій стравоходу та ясен виявлялись однотипні зміни, але ступінь вираженості був більш значним у стравоході. Процеси загоєння індукованих ВІС уражень на тлі поєднання гіпотиреозу та гіпергастринемії через 24 год проявлялись пошкодженнями III таб. (Табл. 2) і через 48 год - II таб. За ВАШ (Табл 1), попереднє введення К3 покращувало регенерацію та зменшувало прояви запалення.

Таблиця 2

Прояви альтерації, запалення та гіперплазії на 24 год. після індукції водно-імобілізаційного стресу

Вид змін	Ступені пошкодження		
	I	II	III
Пошкодження (ясна)	OM M3+OM+K3		M3+OM
Пошкодження (стравохід)	OM		M3+OM
	M3+OM+K3		
Запалення (ясна)	OM+K3	OM	M3+OM
	M3+OM+K3		
Запалення (стравохід)	OM+K3	OM	M3+OM
	M3+OM+K3		
Гіперплазія (ясна)	OM		
Гіперплазія (стравохід)	OM		

На 1 год після стресу ураження проявлялись пошкодження II і III ст. за ВАШ (Табл 3).

Таблиця 3

Прояви альтерації, запалення та гіперплазії на 1 год після індукції водно-імобілізаційного стресу

Вид змін	Ступені пошкодження		
	I	II	III
Пошкодження (ясна)	M3+OM+K3 OM+K3	OM	M3+OM
Пошкодження (стравохід)	M3+OM+K3 OM+K3	OM	M3+OM
Запалення (ясна)	OM+K3 M3+OM+K3		M3+OM OM
Запалення (стравохід)	OM+K3 M3+OM+K3		M3+OM OM
Гіперплазія (ясна)	OM+K3	OM	
Гіперплазія (стравохід)	OM+K3	OM	

Таким чином, виявлена динаміка загоєння стрес-індукованих уражень стравоходу і ротової порожнини вказує, що застосування кавбузолу сприяло пришвидшенню репарації та приводило до практично інтенсифікації процесів реституції на тлі зміни природних захисних реакцій під час гіпергастринемії і гіпотиреозу. Застосування цього препарату є перспективним противиразковим способом корекції стрес-індукованих пошкоджень слизової оболонки проксимального відділу травного тракту.

Джерела інформації:

1. Заячківська О.С., Гжегоцький М.Р., Слівовський З. Модельні дослідження участі оксиду азоту, простаноїдів та глікокон'югатів епітеліального бар'єру стравоходу в езофагопротекції // Лікарська справа - 2006 - № 7 - с. 35-41.

2. Потопальський А.І. Кавбуз - найбільша у світі цілюща ягода / А.І. Потопальський, Л.Н. Юркович, І.І. Воробйова - Вінниця: Нова книга, 2004 - 80 с.

3. Луцик А.Д. Лектины в гистохимии. / А.Д. Луцик, Е.С. Детюк, М.Д. Луцик - Львов: Вища школа, 1989 - 109 с.

4. Цирюк О.І., Берегова Т.В. Вплив омепразол-викликанної гіпергастринемії на базальну шлункову секрецію у щурів // Вісн. Пробл. біології і медицини - 2001 - Вип 3 – с. 38-41.

5. Takagi K., Kasuya Y., Watanabe K. Studies on the drugs for peptic ulcer. A reliable method for producing stress ulcer in rats. Chem. Pharm. Bull. Tokyo 12:465-72 1964 індукованих уражень слизової оболонки ротової порожнини і стравоходу // Експерим. фізіологія та біохімія - 2010 – с. 49-54.

6. Пшик-Тітко І.О., Заячківська О.С., Гаврилюк О.М., Гжегоцький М.Р. Експериментальне визначення впливу екстракту насіння кавбуза на загоєння стрес-індукованих уражень слизової оболонки ротової порожнини і стравоходу // Експерим. фізіологія та біохімія - 2010 - с. 49-54.



Фіг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3