

# Пропіонова кислота відновлює секрецію муцину у шлунку при експериментальному цукровому діабеті

Т.Р. Керімов<sup>1</sup>, С.І.Савосько<sup>2</sup>, С.М.Смірнов<sup>1</sup>, Л.В.Натрус<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Луганський державний медичний університет, Рівне;

<sup>2</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ; e-mail: Lnatrus777@gmail.com

*Цукровий діабет 2-го типу (ЦД2) супроводжується низкою ускладнень, зокрема дисфункцією шлунково-кишкового тракту. Порушення секреції муцину слизовою оболонкою шлунка у щурів з ЦД2 потенційно впливає на абсорбцію лікарських засобів у шлунка і може пояснювати низьку ефективність лікування і корекції стану. Метою нашої роботи було вивчення зміни секреції муцину слизовою оболонкою дна шлунка у щурів із ЦД2, яким вводили метформін у комбінації із пропіонатом. ЦД2 моделювали високожировим харчовим навантаженням впродовж 3 міс із однократним введенням стрептозотоцину (25 мг/кг). Фармакологічну корекцію проводили протягом 14 днів внутрішньошлунковим введенням метформіну (60 мг/кг), пропіонату (60 мг/кг) та комбінованим їх введенням. Структурні зміни слизової оболонки шлунка і активність секреції мукополісахаридів досліджували гістохімічно. Проводили вестерн-блот-аналіз експресії білка муцину 5AC (MUC5AC). Встановлено достовірне зменшення продукції муцину у дні шлунка щурів, що асоційовано зі зменшенням щільності активно продукуючих кислі мукополісахариди клітин. Введення тваринам із ЦД2 метформіну не призводило до відновлення продукції муцину у дні шлунка, а пропіонату – сприяло збільшенню секреції кислот мукополісахаридів. На тлі ЦД2 виявлено підвищення нейтрального компонента слизу і MUC5AC. Комбінована дія метформіну і пропіонату сприяла зменшенню вмісту цього муцину. Виявлені морфологічні зміни у дні шлунка потребують подальших досліджень і їх слід враховувати при застосуванні оральних гіпоглікемічних препаратів, оскільки втрата бар'єрного шару муцину може позначитися на стані слизової оболонки шлунка та на абсорбції лікарських засобів. Ключові слова: цукровий діабет; шлунок; муцин; метформін; пропіонат; MUC5AC; нейтральний та кислотний компоненти слизу.*

## ВСТУП

Цукровий діабет (ЦД) – це хронічне захворювання, яке супроводжується різними ускладненнями з боку систем і органів. Доволі частим порушенням є дисфункція шлунково-кишкового тракту із локалізацією від стравоходу до аноректальної ділянки [1]. У хворих з ЦД 1-го та 2-го типів описано дисфазію, розлади моторики, затримку спорожнення шлунка, раннє відчуття насичення, рефлюкс, закрепи, біль у животі, нудоту, блювання та діарею [2, 3]. Спостерігалися структурні зміни, такі як атрофія або збільшення товщини слизової оболонки шлунка, зниження жорсткості і еластичності стінки, розлади кислотності і атонії, збільшений

поліморфізм слизової оболонки тонкої кишки (зміни рельєфу, мікросудин ворсинок, проліферація та гіпертрофія ентероцитів) [4–6]. Ці зміни описані у пацієнтів або на тваринних моделях, проте остаточно не визначена їхня етіологія та механізми. Також недостатньо вивчені структурні зміни клітин шлунково-кишкового тракту на тлі ЦД2. Залишається нез'ясованою активність секреції муцину, який впливає на абсорбцію лікарських засобів у шлунку (зокрема оральних гіпоглікемічних препаратів) [7].

Нещодавні дослідження продемонстрували успішність комбінованого введення метформіну, якій є «золотим стандартом» лікування ЦД2, із харчовими добавками, зокрема

коротколанцюговими жирними кислотами. Пропіонова кислота є продуктом бактеріального бродіння і має низку прямих впливів на фізіологію шлунково-кишкового тракту: зменшує перистальтику шлунка, збільшує скорочення гладеньких м'язів товстої кишки, розширює артерії товстої кишки, активує тучні клітини та збільшує вивільнення серотоніну з клітин кишечника [9]. Описаний позитивний вплив комбінованого введення метформіну та пропіонату (натрієвої солі пропіонової кислоти) на стан нейронів головного мозку, які зазнали ушкодження на тлі ЦД2 [9]. Успішність корекції, ймовірно, зумовлена ефективним фармакологічним впливом на кишкову мікробіоту та вісь мозок–кишечник, що зараз активно вивчається для корекції діабетичної енцефалопатії [10].

Метою нашої роботи було вивчення зміни секреції муцину слизовою оболонкою дна шлунка у щурів із ЦД2 на тлі фармакологічної корекції метформіном у комбінації із пропіонатом.

## МЕТОДИКА

Експерименти проведено на 30 білих щурах масою 160–180 г, яких утримували у віварії Національного медичного університету імені О.О. Богомольця. Тварин рандомно розділили на 5 груп по 6 тварин: 1-ша – інтактні щури (контрольна група), які отримували стандартний корм, 2-га – щури з ЦД2 без лікування, 3-тя – щури з ЦД2, які отримували метформін (GLUKOFAGE, «Merck Sante», Франція), 4-та – щури з ЦД2, які отримували натрієву сіль пропіонової кислоти (PROPICUM®, «Flexopharm Brain GmbH & Co», Німеччина), 5-та – щури з ЦД2, які отримували метформін та пропіонат у вищевказаних дозах. Препарати, розчинені у воді для ін'єкцій, вводили у дозі 60 мг/кг маси тіла, внутрішньошлунково впродовж 14 днів.

ЦД2 моделювали 3-місячним харчовим навантаженням: свинячий жир (45%), фруктоза (20%), медична жовч (1%), стандарт-

ний гранульований зерновий корм (34%), з розрахунку 30 г суміші на добу із вільним доступом до води. Для додаткового ушкодження інсулінпродукуючих клітин однократно вводили стрептозотцин у дозі 25 мг/кг внутрішньоочеревино і через 2 тиж вимірювали параметри тіла тварин, біохімічні показники, робили тести толерантності до інсуліну і доводили адекватність моделі. Тварин виводили із експерименту миттєвою декапітацією гільйотиною після введення летальної дози тіопенталу натрію (200 мг/кг) внутрішньоочеревино.

Усі маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до положень біоетичних норм «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986); «Загальних етичних принципів проведення експериментів на тваринах» (Україна, 2001 р.), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3447-IV (Україна, 2006), засідання Комісії з Біоетики НМУ ім. О.О. Богомольця, протокол № 123 від 26.09.2022 р.

Шлунок тварин було відібрано для гістологічного дослідження. Для цього його промивали фізіологічним розчином і фіксували у 10%-му забуференому охолодженому розчині параформальдегіду (рН 7,4, 4°C, 24 год). Зразки зневоднювали у розчинах етанолу зростаючої концентрації та ущільнювали в парапласт (Leica-Paraplast Regular, 39601006, «Leica Biosystems Inc.», США). З отриманих блоків виготовляли гістологічні зрізи товщиною 4 мкм за допомогою мікротома Microm HM360 («Microm International GmbH», Німеччина), які депарафінували в ксилолі, у низхідних концентраціях етанолу та промивали у 2 порціях дистильованої води. Вміст муцину визначали гістохімічним методом. Кислий компонент виявляли альціановим синім при рН 2,5 («BioGnost Ltd.», Хорватія), нейтральний – за результатами ШИК-реакції («BioGnost Ltd.», Хорватія). З кожного зразка одержували мікропрепарати, забарвлені мо-

нокомпонентно та комбінацією гістохімічних реакцій. Ядра дофарбовували гематоксилином Gill III. Мікропрепарати досліджували на мікроскопі Olympus BX51. Тактика вимірювання оптичної щільності позитивної гістохімічної реакції полягала у ранжуванні оцінки на оцінюваний регіон (у масштабі мікрофотографії 2272×1704 пікселів, при збільшенні у 400 разів) та у ізольованих мукоцитах залоз [11]. Для цього за допомогою програмного забезпечення Image J («Wayne Rasband (NIH)», США) виділяли позитивно забарвлені ділянки у мікрофотографіях (при збільшенні у 400 разів) і одержували варіаційні ряди, як рівень оптичної щільності реакції на оцінюваний регіон. Аналогічно оптичну щільність вимірювали у окремих клітинах (критерій включення в оцінку – межі мембрани мукоцита, наявність ядра і секрету в апікальному полюсі клітини). На мікрофотографіях з дофарбованими ядрами клітин підраховували кількість клітин з позитивною гістохімічною реакцією у перерахунку на довжину залози в 1 мм.

Для вестерн-блотингу зразки тканин шлунка розтирали у порцеляновому тиглі у рідкому азоті до гомогенного стану, 100 мг гомогенізованої тканини змішували з буфером екстракції протеїнів RIPA (20 ммоль тріс-НСl, рН 7,5, 1%-й тритон X-100, 150 ммоль NaCl, 1 ммоль ЕДТА, 1%-й дезоксихолат натрію) у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм) та сумішшю інгібіторів протеїназ і фосфатаз (PIC), інкубували на льоду протягом 20 хв та піддавали ультразвуковій дезінтеграції за допомогою приладу Sonoplus mini 20 («Vandelin Electronic GmbH», Німеччина). Після центрифугування (16 000g, 4°C) протягом 40 хв відбирали надосадову рідину, концентрацію загального протеїну вимірювали на напівавтоматичному біохімічному аналізаторі BS-3000M (Китай) із використанням біохімічного набору «DiagnosisZrt» (Угорщина). Протеїнові екстракти змішували з буфером Лемлі (150 ммоль тріс-НСl, рН 6,8, 1%-й додецилсульфат натрію, 0,3%-й

бромфеноловий синій, 20%-й гліцерил) та прогрівали 5 хв при 95°C для подальшого зберігання. Протеїни розділяли за допомогою електрофорезу у поліакриламідному гелі, вносили 70 мкг лізату у лунки гелю. Для ідентифікації молекулярних мас протеїнів використовували суміш забарвлених протеїнових маркерів PageRuler («ThermoFisher Scientific», США). Переносили протеїни з гелю на нітроцелюлозні мембрани з діаметром пор 0,45 мкм у трансфер-буфері (рН 8,3) протягом 60 хв. Мембрани відмивали у 50 ммоль фосфатно-сольовому буфері з 0,05%-м твін-20, рН 7,4 (на забуференому фосфатному фізіологічному розчині). Блокування місць неспецифічної сорбції антитіл проводили у 5%-му розчині знежиреного сухого молока «Carnation» (США) у забуференому фосфатному фізіологічному розчині протягом 60 хв при кімнатній температурі. Мембрани інкубували зі специфічними антитілами проти MUC5AC (1:1000, #PA5-79705 «Invitrogen», США) впродовж ночі при 4°C. Після відмивання у буфері їх інкубували 2 год при кімнатній температурі з HRP-кон'югованими вторинними антикролячими антитілами (1:10000, #31460, «Sigma-Aldrich», США). Детекцію комплексів антиген–антитіло проводили за допомогою методу підсиленої хемілюмінесценції, використовуючи розчин люмінолу та кумарової кислоти. Візуалізацію специфічного забарвлення здійснювали на рентгенівських плівках «Konica Minolta» (Японія). Відносний вміст MUC5A був нормалізований β-актином і визначений кількісно в умовних одиницях оптичної густини, використовуючи програмне забезпечення Gel-Pro Analyzer32, v3.1 («Media Cybernetics, L.P.», США), результати представлені як кратність змін порівняно з контролем.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою ліцензованого (користувач – НМУ імені О.О. Богомольця) статистичного пакета IBM SPSS Statistics, версія 23.0 («SPSS Inc.», США). Для перевірки розподілу на нормальність використано кри-

терій Шапіро-Уїлка. Статистичні відмінності між групами аналізували тестом ANOVA з урахуванням поправки Бонфероні. Різниця між групами вважалася достовірною при  $P < 0,05$ . Результати представлено як середнє значення  $\pm$  похибка середнього.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За результатами гістологічних досліджень явних ознак структурних порушень слизової оболонки не було. Водночас спостерігалась істотна відмінність гістохімічного забарвлення компонентів муцину, локалізації та синтезу залозами дна шлунка. Нейтральний (ШИК-позитивний) компонент муцину у сегменті трубчастих залоз виявлявся ближче до поверхні слизової оболонки, а кислий компонент (позитивний до альціанового синього) переважно у середньому сегменті і ближче до дна залоз. У щурів 1-ї контрольної групи секрецію кислого компонента муцину було виявлено у зоні поверхні слизової оболонки (рис. 1, I а, б, в). У щурів 2-ї групи істотно зменшувалася продукція кислого компонента секрету (див. рис. 1, II а, б). У глибоких відділах залоз його продукти майже не виявляли, невеликі їх осередки зустрічалися у просвіті залоз поблизу поверхні. Водночас встановлено інтенсивну ШИК-позитивну реакцію у мукоцитах власних залоз, у межах верхньої третини (див. рис. 1, II в). Тобто при ЦД2 змінювався склад компонентів муцину. У щурів 3-ї групи спостерігалася слабка реакція до альціанового синього. Інтенсивність ШИК-реакції в залозах шлунка була меншою порівняно зі значеннями 2-ї групи (див. рис. 1: III а, б, в). У щурів 4-ї групи суттєво збільшилася щільність клітин, які активно продукували обидва компоненти муцину (див. рис. 1, IV а, б, в). Дуже подібну картину виявили і у щурів 5-ї групи (див. рис. 1, V а, б, в). Позитивні реакції щодо кислого та нейтрального компонентів муцину спостерігали як у поверхневих сегментах залоз, так і у клітинах ближче до дна залоз. Нагромадження мукополісахаридів

в епітеліоцитах, зокрема і у глибоких відділах власних залоз шлунка, вказує на покращення синтезу продуктів муцину.

Кількісну оцінку гістохімічних реакцій (рис. 2; 3) проводили як у перерахунку на регіони слизової оболонки, так і на окремі мукоцити. Виявили достовірно меншу оптичну щільність позитивних гістохімічних реакцій щодо кислого компонента муцину у залозах при ЦД2 (див. рис. 2). Це пояснюється зменшенням кількості клітин, які продукують кислі мукополісахариди (рис. 4). Лікування метформіном не покращувало синтез гландулоцитами кислої складової. Проте пропіонат суттєво збільшив активність продукції кислої складової муцину, що відобразилось у більших значеннях оптичної щільності гістохімічних реакцій та кількості клітин з позитивним забарвленням. Комбіноване введення метформіну із пропіонатом також ефективно збільшувало продукцію кислого компонента муцину в фундальному відділі шлунка порівняно із монотерапією метформіном.

За результатами кількісного аналізу ШИК-реакції виявлено, що вміст нейтрального компонента муцину на тлі ЦД2 достовірно збільшувався. Прийом метформіну сприяв зменшенню нейтрального компонента. Пропіонат призводив до збільшення секреції клітинами ШИК-позитивного продукту, проте комбінований вплив метформіну і пропіонату повертав секрецію муцину до рівнів монотерапії метформіном. Разом з тим між групами не виявлено переконливих відмінностей у щільності розподілу клітин ШИК<sup>+</sup>-реакцією у залозах. Тобто на тлі ЦД2 спостерігався перерозподіл синтезу компонентів муцину з кислих до нейтральних мукополісахаридів.

За результатами вестерн-блот-аналізу незначне, але достовірне підвищення вмісту MUC5AC ми виявили у 2, 3 та 4-й групах (рис. 5). Комбіноване введення метформіну з пропіонатом у 5-й групі сприяло зменшенню його вмісту. Ймовірно, секреція гландулоцитами

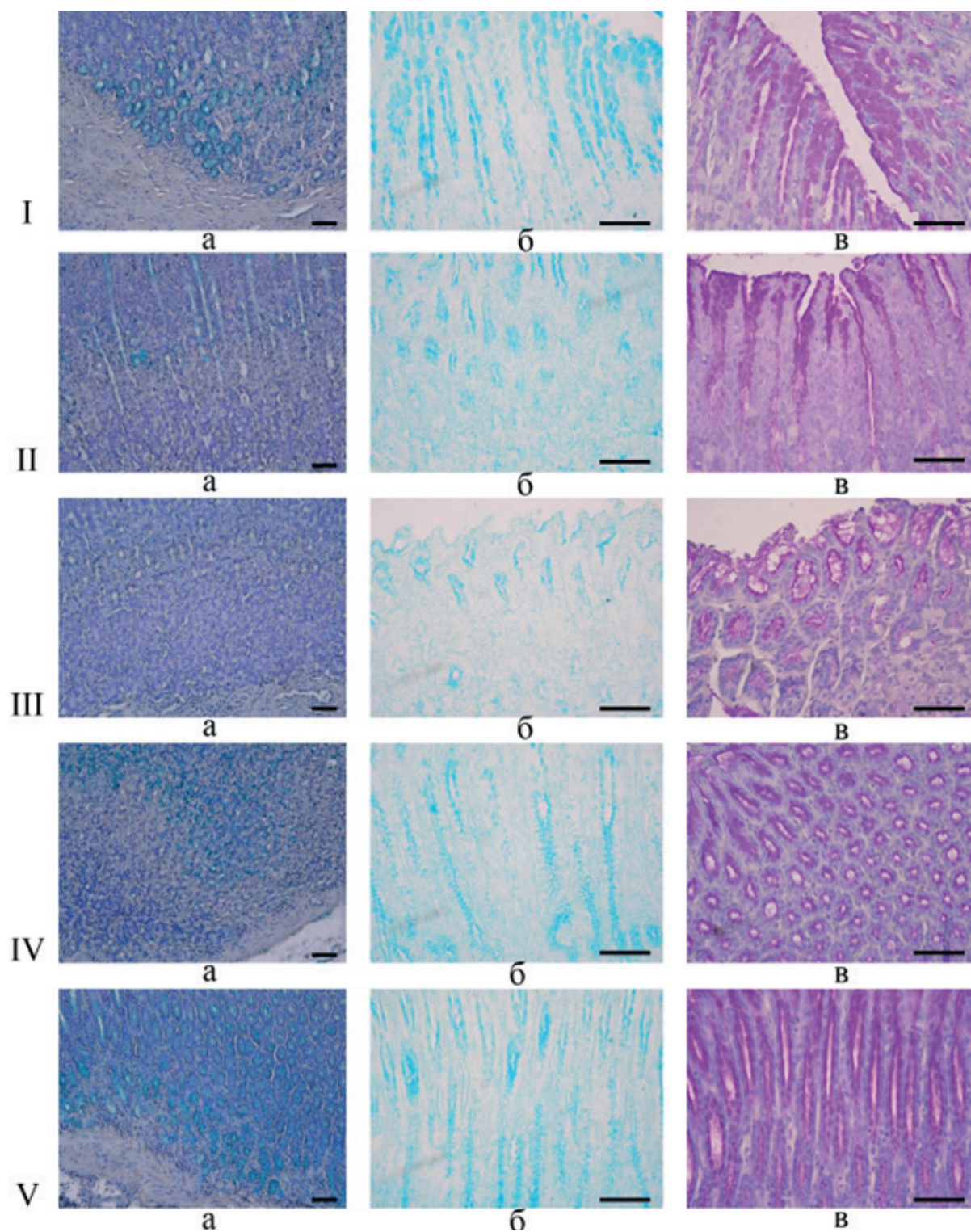


Рис. 1. Дно шлунку щурів I - щури контрольної групи; II - із ЦД2; III - із ЦД2 та метформіном; IV - із ЦД2 та пропіонатом; V - із ЦД2 та комбінованим уведенням метформіну та пропіонату: (а) – альціановий синій, гематоксилін; (б) – альціановий синій; (в) – ШИК-реакція, гематоксилін; шкала 100 мкм.

протеїну MUC5AC асоційована із нейтральним компонентом муцину, тому коливання вмісту досліджуваних компонентів було аналогічне тому, що виявили за допомогою ШИК-реакції.

Муцин необхідний для створення бар'єра між кислим середовищем і слизовою оболонкою. Зменшення вмісту муцину або секреції його компонентів у шлунку відіграють пато-

генну роль у формуванні ураження цього органа [12]. Ослаблений слизовий бар'єр може стати причиною ушкодження стінки шлунка. Нині зустрічається невелика кількість повідомлень про зміни секреції муцину у шлунку при ЦД. Так, у щурів із стрептозотоциніндукованим діабетом, тривале голодування викликало геморагічне пошкодження шлунка, тоді як короткочасне голодування (менш ніж 24 год) знижувало вміст глюкози в крові, але не вплинуло на морфологію шлунка інтакт-

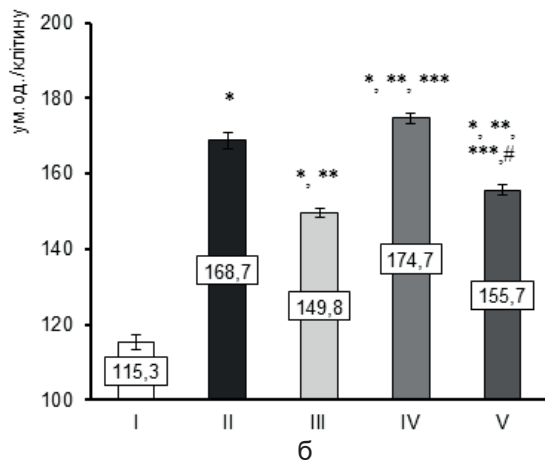
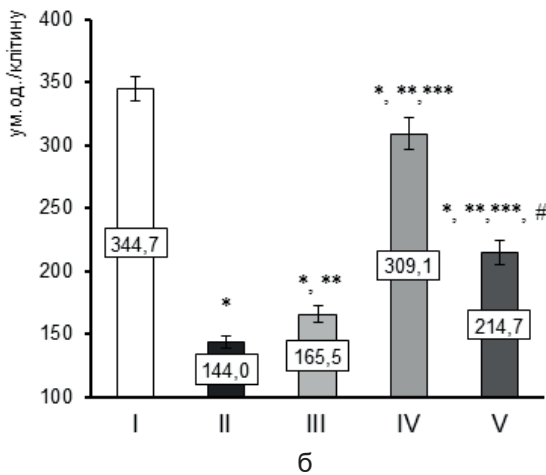
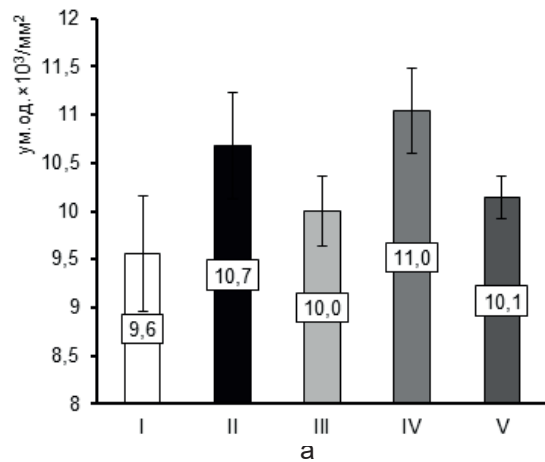
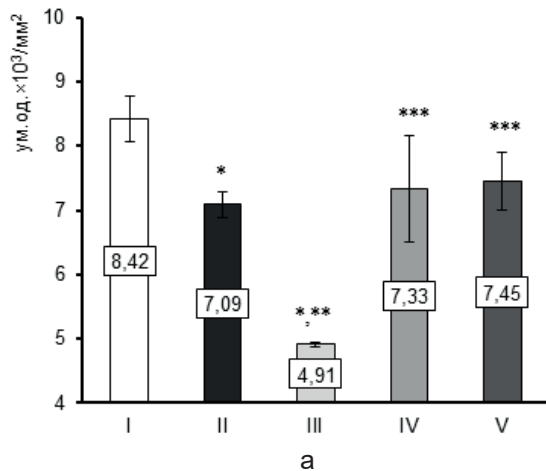


Рис. 2. Зміни кислих компонентів муцину у дні шлунка, одержані на основі вимірювання оптичної щільності гістохімічної реакції з альціановим синім (АС): I - щурів контрольної групи; II - із ЦД2; III - із ЦД2 та метформіном; IV - із ЦД2 та пропіонатом; V - із ЦД2 та комбінованим введенням метформіну з пропіонатом. а - тотальна АС+реакція у слизовій оболонці дна шлунка, б - АС+реакція у мукоцитах слизової оболонки дна шлунка. \*P <0,05 порівняно з контролем, \*\*P <0,05 з ЦД2, \*\*\*P <0,05 з введенням метформіну, #P <0,05 з введенням пропіонату

Рис. 3. Зміни нейтральних компонентів муцину у дні шлунка щурів, одержані на основі вимірювання оптичної щільності гістохімічної ШИК-реакції: I - контроль; II - ЦД2; III - ЦД2 і метформін; IV - із ЦД2 і пропіонат; V - ЦД2 і метформін з пропіонатом; а - тотальна ШИК+реакція у слизовій оболонці дна шлунка, б - ШИК+реакція у мукоцитах слизової оболонки дна шлунка. \*P <0,05 порівняно з контролем, \*\*P <0,05 - з ЦД2, \*\*\*P <0,05 - із введенням метформіну, #P <0,05 - із введенням пропіонату

них тварин [13]. Давно відомо про зв'язок між вмістом глюкози та продукцією муцину у шлунку, а додавання глюкози на тлі депривації їжі зменшувало ulcerогенний ефект аспірину [14].

В експериментальних дослідженнях на моделі діабету 1-го та 2-го типу встановлено редукцію келихоподібних клітин у кишечнику тварин, які продукують слизовий секрет [15]. Механізм пригнічення загальної секреції на тлі ЦД може пояснюватися «біохімічною гіпореактивністю», яку описали у щурів з стрептозотоциніндукованим діабетом при вивченні системних патобіохімічних по-

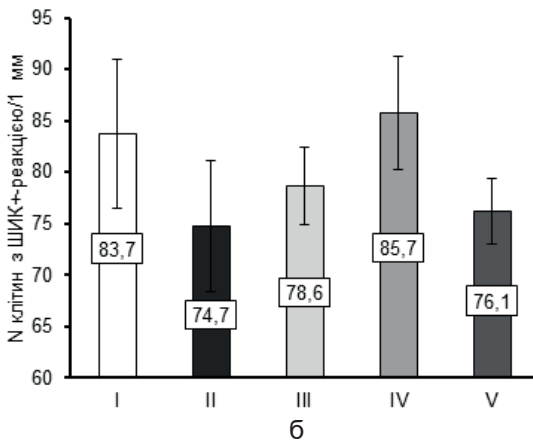
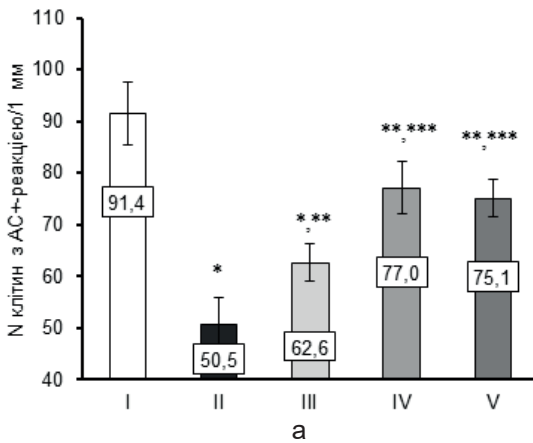


Рис. 4. Зміна кількості клітин з позитивною гістохімічною реакцією на довжину залози: I - контроль; II - ЦД2; III - ЦД2 і метформін; IV - ЦД2 і пропіонат; V - ЦД2 і метформін з пропіонатом; а - реакція до кислого компоненту муцину, б - до нейтрального компоненту муцину; \*P < 0,05 порівняно з контролем, \*\*P < 0,05 - з ЦД2, \*\*\*P < 0,05 - із введенням метформіну

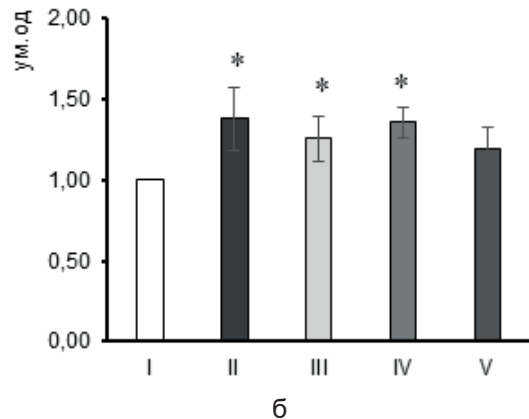
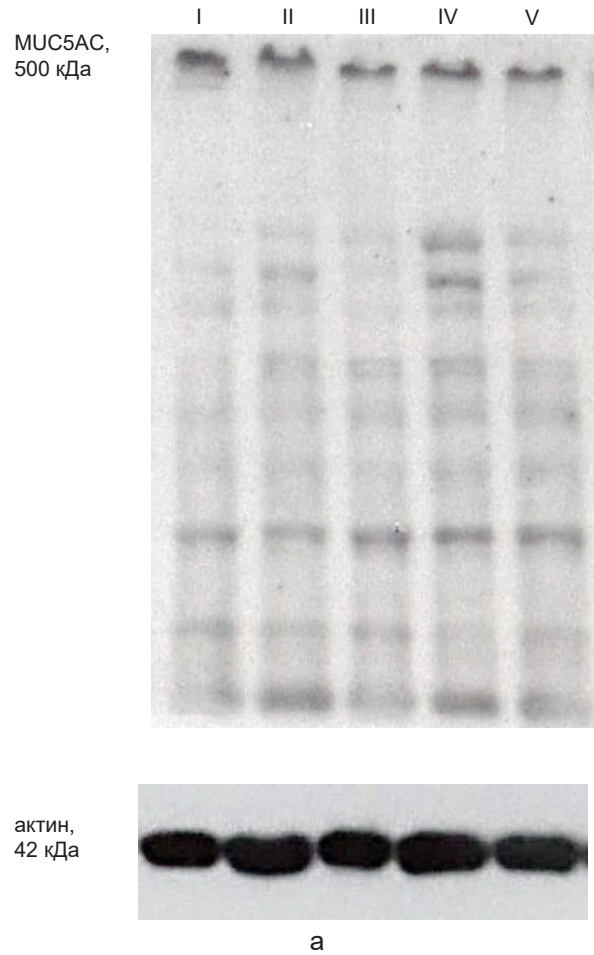


Рис. 5. Зміна експресії MUC5AC у дні шлунка щурів: I - контроль; II - ЦД2; III - ЦД2 і метформін; IV - ЦД2 і пропіонат; V - ЦД2 і метформін з пропіонатом: а - репрезентативні імуноблоти, б - кількісно визначений вміст протеїну в лізатах шлунка відносно експресії актину. \* P < 0,05 порівняно з контролем

казників у відповідь на ішемію-реперфузію головного мозку. Автори пояснюють такий стан виснаженням функціональних резервів організму та тлі діабету [16]. Втрата муцину виникає внаслідок пригнічення синтетичної активності в епітеліальних клітинах і вироблення глікопротеїнів слизу. Його дефіцит може стати передумовою запалення та ураження епітелію [17]. При цьому даних про стан шлунка на тлі лікування діабету недостатньо, щоб оцінити динаміку розладів.

У нашій роботі було з'ясовано зміни секреції муцину у дні шлунка і при введенні метформіну і пропіонової кислоти. Встановлено зміни секреції його кислого та нейтрального компонентів. Вміст муцину шлунка визначається за рівнем експресії протеїнів MUC5AC і MUC6 та має деякі топографічні особливості продукції у відділах шлунка [18]. Виявлено, що продукція нейтрального компоненту муцину зростала із збільшенням експресії MUC5AC, тоді як продукція кислого компоненту клітинами зменшувалася. Розуміння закономірностей секреції муцинів може допомогти у лікуванні та профілактиці захворювань, які пов'язані з травленням і зокрема всмоктуванням у шлунку пероральних засобів [19].

Метформін розглядається як основний препарат, що впливає на вміст глюкози і інсулінорезистентність при лікуванні ЦД2, оскільки він має потенційні плейропотентні ефекти [20]. В одних спостереженнях метформін знижував ризик раку шлунка у хворих на ЦД2 [21], а у інших не показав такого ефекту [22]. Виявлено зв'язок між вживанням метформіну при діабеті і збільшенням кишкової мікробіоти, яка деградує муцин [23]. Існує припущення, що зміна мікробіому у шлунку може збільшити вироблення коротколанцюгових жирних кислот бутирату та пропіонату і тим самим вплинути на глікемію, покращити гомеостаз глюкози [24]. Індол-3-пропіонова кислота знижувала вміст глюкози в крові та покращувала резистентність до інсуліну [25]. Пропіонова кислота стимулювала вироблен-

ня оксиду азоту і мікроциркуляцію у мозку, пригнічувала окисний стрес і зменшувала ураження нейронів у гіпокампі [26] та гіпоталамусі [9] на моделі ЦД2.

Наші дослідження переконливо доводять, що введення пропіонату може бути корисним при лікуванні ЦД2, оскільки покращувалася секреція муцину. Передбачається, що комбіноване введення метформіну з пропіонатом позитивно впливає на синтез мукополісахаридів, тоді як монотерапія метформіном не чинила такої дії на відновлення продукції муцину у дні шлунка. При цьому підвищення нейтрального компоненту слизу, яке виникає на тлі ЦД2, зменшується при введенні комбінації цих препаратів. Отримані результати обґрунтовують необхідність дослідження уражень кишково-шлункового тракту у пацієнтів з ЦД та подальшої корекції стану.

## ВИСНОВКИ

1. На експериментальній моделі ЦД2 встановлено достовірне зменшення продукції кислого компоненту муцину у дні шлунка щурів щодо збільшення продукції нейтрального компоненту клітинами залоз шлунка.

2. Ведення тваринам із ЦД2 метформіну не призводило до відновлення продукції муцину у дні шлунка, тоді як пропіонат сприяв збільшенню секреції кислих мукополісахаридів. Схожий ефект спостерігався при комбінованому введенні метформіну з пропіонатом.

3. На тлі ЦД2 зросло утворення нейтрального компоненту слизу і експресії MUC5AC. Дія пропіонату не впливала на вміст муцину, а у комбінації з метформіном сприяла зменшенню вмісту MUC5AC.

*Стаття є фрагментом фундаментальної науково-дослідної роботи на замовлення Міністерства охорони здоров'я «Молекулярні механізми активації аутофагії, апоптозу та відгуку неструктурованих протеїнів в органах шлунково-кишкового тракту щурів*



*із цукровим діабетом 2 типу на тлі фармакологічного впливу» (№ держреєстрації 0122U001442).*

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**T.R. Kerimov<sup>1</sup>, S.I. Savosko<sup>2</sup>, S.M. Smirnov<sup>1</sup>  
L.V. Natrus<sup>2</sup>**

### **PROPIONIC ACID RESTORES MUCIN SECRETION IN THE GASTRIC FUNDUS IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF TYPE 2 DIABETES**

<sup>1</sup>Luhansk State Medical University, Rivne;

<sup>2</sup>Bogomolets National Medical University, Kyiv;  
e-mail: Lnatus777@gmail.com

Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is associated with a number of complications, in particular, gastrointestinal tract dysfunction. Impaired mucin secretion by the gastric mucosa in rats with T2DM may affect the absorption of drugs in the stomach and may explain the poor efficacy of treatment and correction of the condition. The aim of our work was to study changes in mucin secretion by the mucous membrane of the gastric fundus in rats with T2DM and the administration of metformin in combination with propionate. T2DM was modelled in rats by a high-fat diet for 3 months with a single administration of streptozotocin (25 mg/kg). Pharmacological correction was performed by intragastric administration of metformin (60 mg/kg), propionate (60 mg/kg), and combined administration of the mentioned drugs for 14 days. Structural changes in the gastric mucosa and mucopolysaccharide secretion activity were assessed by histochemistry. Western blot analysis of MUC5AC expression was performed. A significant decrease in mucin production was observed in the lower stomach of rats, which was associated with a decrease in the density of cells actively producing acidic mucopolysaccharides. Metformin administration to animals with T2DM did not restore mucin production in the gastric fundus, whereas propionate administration increased acid mucopolysaccharide secretion. An increase in the neutral component of mucus and MUC5AC was found in T2DM. The combined administration of metformin and propionate helped to reduce the content of this mucin. The identified morphofunctional changes in the gastric fundus require further research and should be taken into account when using oral hypoglycaemic drugs because the loss of the mucin barrier layer may affect the state of the gastric mucosa and the absorption of drugs.

**Key words:** diabetes; stomach; mucin; metformin; propionate; MUC5AC; neutral and acidic mucus components.

### **REFERENCES**

1. Pellegrini S, Sordi V, Bolla AM, Saita D, et al. duodenal mucosa of patients with type 1 diabetes shows distinctive inflammatory profile and microbiota. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(5):1468-77.
2. Li WZ, Stirling K, Yang JJ, Zhang L. Gut microbiota and diabetes: From correlation to causality and mechanism. *World J Diabet.* 2020;11(7):293-308.
3. Concepción Zavaleta MJ, González Yovera JG, Moreno Marreros DM, et al. Diabetic gastroenteropathy: An underdiagnosed complication. *World J Diabet.* 2021;12(6):794-809.
4. Krishnan B, Babu S, Walker J, Walker AB, Pappachan JM. Gastrointestinal complications of diabetes mellitus. *World J Diabet.* 2013;4(3):51-63.
5. Bharucha AE, Locke GR, Murray JA. Gastrointestinal Manifestations of Diabetes. In: Cowie CC, Casagrande SS, Menke A, et al., editors. *Diabetes in America*. 3rd ed. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US); 2018 Aug. CHAPTER 27. PMID: 33651548.
6. Farmer AD, Bruckner-Holt C, Schwartz S, Sadler E, Kadiramanthan S. Diabetic gastroparesis: Perspectives from a patient and health care providers. *J Patient Cent Res Rev.* 2019;6(2):148-57.
7. Falavigna M, Stein PC, Flaten GE, di Cagno MP. Impact of Mucin on drug diffusion: development of a straightforward in vitro method for the determination of drug diffusivity in the presence of mucin. *Pharmaceutics.* 2020;12(2):168.
8. Nankova BB, Agarwal R, MacFabe DF, La Gamma EF. Enteric bacterial metabolites propionic and butyric acid modulate gene expression, including CREB-dependent catecholaminergic neurotransmission, in PC12 cells—possible relevance to autism spectrum disorders. *PLoS One.* 2014;9(8):e103740.
9. Natrus LV, Osadchuk YS, Lisakovska OO, Labudzynskyi DO, Klys YG, Chaikovsky YB. Effect of propionic acid on diabetes-induced impairment of unfolded protein response signaling and astrocyte/microglia crosstalk in rat ventromedial nucleus of the hypothalamus. *Neural Plast.* 2022; 22:6404964.
10. Kasarello K, Cudnoch-Jedrzejewska A, Czarzasta K. Communication of gut microbiota and brain via immune and neuroendocrine signaling. *Front Microbiol.* 2023; 25;14:1118529.
11. Grabovoy AN, Yaremenko LM. Method of quantitative assessment of immunohistochemical reactions. Utility model patent 147216, G01N 33/48 (2006.01), G01N 33/53 (2006.01) <http://ir.librarynmu.com/handle/123456789/5372>. [Ukrainian]
12. Kang Y, Park H, Choe BH, Kang B. The role and function of mucins and its relationship to inflammatory bowel

- disease. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:848344.
13. Takeuchi K, Ueshima K, Ohuchi T, Okabe S. Induction of gastric lesions and hypoglycemic response by food deprivation in streptozotocin-diabetic rats. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 626-34.
  14. MacDonald A, Dekanski JB, Gottfried S, Parke DV, Sacra P. Effects of blood glucose levels on aspirin-induced gastric mucosal damage. *Am J Dig Dis*. 1977;22(10):909-14.
  15. Miranda MCG, Oliveira RP, Torres L, Aguiar SLF, Pinheiro-Rosa N, Lemos L, Guimarães MA, Reis D, Silveira T, Ferreira Ê, Moreira TG, Cara DC, Maioli TU, Kelsall BL, Carlos D, Faria AMC. Frontline science: Abnormalities in the gut mucosa of non-obese diabetic mice precede the onset of type 1 diabetes. *J Leukoc Biol*. 2019;106(3):513-29.
  16. Tkachuk OV, Tkachuk SS, Povar MA, Anokhina SI, Yasiniska OV, Vadziuk SN. Peculiarities of systemic patho-biochemical reactions to brain ischemia-reperfusion in rats with diabetes mellitus. *Fiziol Zh*. 2022; 68(4): 40-7.
  17. Daft JG, Lorenz RG. Role of the gastrointestinal ecosystem in the development of type 1 diabetes. *Pediatr Diabet*. 2015;16(6):407-18.
  18. Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut*. 2020; 69(12):2232-43.
  19. Benson KK, Sheel A, Rahman S, Esnakula A, Manne A. Understanding the clinical significance of MUC5AC in biliary tract cancers. *Cancers*. 2023; 15(2):433.
  20. Saraei P, Asadi I, Kakar MA, Moradi-Kor N. The beneficial effects of metformin on cancer prevention and therapy: a comprehensive review of recent advances. *Cancer Manag Res*. 2019;11:3295-313.
  21. Zhang K; Bai P, Dai H, Deng Z. Metformin and risk of cancer among patients with type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Prim Care Diabet* 2021, 15, 52-8.
  22. Zheng, J, Xie SH, Santoni G, Lagergren J. Metformin use and risk of gastric adenocarcinoma in a Swedish population-based cohort study. *Br J Cancer*. 2019, 121, 877-82.
  23. de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Corrales-Agudelo V, et al. Metformin Is associated with higher relative abundance of mucin-degrading *Akkermansia muciniphila* and several short-chain fatty acid-producing microbiota in the gut. *Diabet Care*. 2017;40(1):54-62.
  24. Forslund K, Hildebrand F, Nielsen T, et al. Disentangling type 2 diabetes and metformin treatment signatures in the human gut microbiota. *Nature*. 2015;528(7581):262-66.
  25. Du L, Li Q, Yi H, Kuang T, Tang Y, Fan G. Gut microbiota-derived metabolites as key actors in type 2 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 2022;149:112839.
  26. Wu Q, Dong J, Bai X, Jiang Y, Li J, Fan S, Cheng Y, Jiang G. Propionate ameliorates diabetes-induced neurological dysfunction through regulating the PI3K/Akt/eNOS signaling pathway. *Eur J Pharmacol*. 2022;925:174974.

*Матеріал надійшов  
до редакції 09.05.2023*