

УДК 612.323+577.175.73

**ПЕРСПЕКТИВА ЗАСТОСУВАННЯ АГОНІСТІВ PPAR $\gamma$  МЕЛАНІНУ ТА ПІОГЛІТАЗОНУ ПРИ ТРИВАЛІЙ ГІПОАЦИДНОСТІ ШЛУНКА****О. І. Цирюк<sup>1</sup>, Т. В. Берегова<sup>1</sup>***Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, Київ 01601, Україна, e-mail: tsyryuk@mail.ru*

**Реферат.** У роботі досліджено вплив агоністів ядерних рецепторів активаторів проліферації пероксисом типу гамма (PPAR $\gamma$ ) меланіну та піоглітазону на секреторну функцію шлунка у щурів в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку, викликаній 28-денним введенням блокатора H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази омепразолом. У результаті проведених досліджень було встановлено, що введення протягом 28 днів блокатора H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази призводить до зростання секреції гідрохлоридної кислоти шлунком внаслідок розвитку гіпергастринемії. Активация (PPAR $\gamma$ ) піоглітазоном та меланіном в умовах розвитку експериментальної гіпергастринемії запобігає виникненню гіпертрофії слизової оболонки шлунка та знижує дебіт базальної шлукової секреції у щурів.

**Перспектива применение агонистов PPAR $\gamma$  меланина и пиоглитазона при длительной гипоацидности желудка.**

О. И. Цирюк, Т. В. Береговая

**Реферат.** В работе исследовано влияние агонистов ядерных рецепторов активаторов пролиферации пероксисом типа гамма (PPAR $\gamma$ ) меланина и пиоглитазона на секреторную функцию желудка у крыс в условиях длительной гипоацидности желудочного сока, вызванной введением на протяжении 28 дней блокатора H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФазы омепразолом. В результате проведенных исследований было установлено, что введение в течение 28 дней блокатора H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФазы приводит к увеличению секреции гидрохлоридной кислоты желудком, в результате развития гипергастринемии. Активация (PPAR $\gamma$ ) пиоглитазоном и меланином в условиях развития экспериментальной гипергастринемии предотвращает развитие гипертрофии слизистой оболочки желудка и снижает дебит базальной желудочной секреции у крыс.

**Perspective of usage of PPAR $\gamma$  agonists melanin and pioglitazone under the prolonged gastric hypoacidity.**

O. I. Tsyryuk, T. V. Bereгова

**Abstract.** It was investigated the effects of agonists of nuclear receptors peroxisome proliferator-activated receptors gamma (PPAR $\gamma$ ) melanin and pioglitazone on the secretory function of the stomach in rats under long hypoacidity of gastric juices caused by the introduction of H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase blocker omeprazole during 28 days. As a result of studies it was found that administration of omeprazole for 28 days leads to increase of hydrochloric acid secretion of stomach, resulting in the development of hypergastrinemia. Activation of PPAR $\gamma$  by pioglitazone and melanin in the conditions of the development of experimental hypergastrinemia prevents the hypertrophy of the gastric mucosa and decreases debit of the basal gastric acid secretion in rats.

**Key words:** gastric secretion, gastrin, pioglitazone, melanin.

## Вступ

Останім часом все більше уваги науковці приділяють проблемі функціонування органів травного тракту за умов тривалої гіпоацидності шлункового соку, що призводить до явища гіпергастринемії. Негативним наслідком тривалого підвищення концентрації гастрину в крові може стати розвиток неопластичних змін в шлунку та інших органах травної системи.

Крім того, тривала гіпоацидність шлунка не тільки призводить до гіпергастринемії, а і сприяє посиленню колонізації шлунка різноманітними мікроорганізмами, тому що гідрохлоридна кислота є найголовнішим фактором захисту проти бактеріальної колонізації.

Як тривала гіпергастринемія, так і дисбактеріоз можуть посилювати розвиток хронічного запального процесу у різних біотопах травного тракту, якому належить визначальна роль у розвитку пухлин.

Нині вже добре відомо, що синтез та регуляція більшості прозапальних цитокінів регулюються 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) (Sertznig, 2007). Транскрипційна активність та експресія PPAR запускається при взаємодії ліпополісахаридів бактерій з TLR4 епітеліальних клітин, що пригнічує активність транскрипційних факторів (NF- $\kappa$ B, c-Jun) (Yang et al., 2000), продукцію прозапальних цитокінів (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ ), хемокінів, проліферацію запальних клітин (Harris et al., 2001). Дослідниками ідентифіковано три ізоформи цих рецепторів, що кодуються окремими генами (PPAR $\alpha$ , PPAR $\beta/\delta$  і PPAR $\gamma$ ). У свою чергу, найкраще охарактеризовану ізоформу PPAR $\gamma$  поділяють 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 (Konturek et al., 2003) – один із лікарських препаратів із групи тіазолідиндіонів та інша природня поліфенольна сполука – меланін, яка за даними літератури (Plonska et al., 2006) також є агоністом PPAR $\gamma$ . Продукентом меланіну, що використовувався в наших дослідженнях, були чорні дріжджі *Nadsoniella nigra* штам X-1, висіяні із зразків вертикальних скель о. Галіндез (Українська Антарктична станція «Академік Вернадський»). Раніше дослідженнями, проведеними Чижанською та ін. (2005), було показано, що введення блокатору PPAR $\gamma$  GW9662 усувало захисну дію меланіну на утворення виразок та масивних крововиливів у 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 метою нашої роботи.

## 2. Матеріал і методи дослідження

Дослідження проведені на білих нелінійних щурах, самцях вагою 180–220 г, згідно з етичними принципами, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики, міжнародними угодами та національним законодавством у цій галузі (Мурзін, 2004).

На початку експерименту тварин було поділено на 4 групи. Перша група щурів слугувала контролем, їм упродовж 28 днів вводили 0,2 мл фізрозчину, другій групі щурів упродовж 28 днів вводили інгібітором H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATФази омепразол (SigmaChemichalCo, St. Louis, USA) (14 мг/кг, внутрішньочеревинно (в/о), розчиненого в 0,2 мл фізрозчину), третій групі тварин упродовж 28 днів одночасно вводили омепразол та піоглітазон («МікроЛабсЛімітед», 30 мг/кг, peros), червертій групі — омепразол та меланін (0,1 мг/кг peros),

Через добу після останнього введення досліджуваних речовин або фізрозчину проводили експеримент, в якому визначали рівень базальної секреції кислоти в шлунку методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем та Шільдом (Ghosh et al., 1958) під уретановим знечуленням (SigmaChemichalCo, St. Louis, USA) (1,15 г/кг, в/о). Гастрин в плазмі крові визначали радіоімунним методом із використанням аналітичного набору фірми «MP Biomedicals, LLC» (USA).

Одержані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Вілка. Оскільки наші дані виявилися нормально розподілені, порівняння вибірок проводилося за допомогою t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок. Розраховували середнє значення (M), стандартне відхилення (SD). Для наших даних ми приймали рівень значущості  $p < 0,05$  (Гланц С., 1998)

### 3. Результати та їх обговорення

В результаті проведених досліджень було встановлено, що 28-денне введення шурам омепразолу призводило до зростання дебіту гідрохлоридної кислоти на 284,6 % ( $p < 0,001$ ) з  $40,4 \pm 21,0$  мкмоль/120 хв ( $n = 26$ ) до  $155,0 \pm 55,8$  мкмоль/120 хв ( $n = 8$ ) (рис.1). Разом зі збільшенням кислотоутворення в шлунку у цієї групи щурів зростала і концентрація гастрину в плазмі крові на 189,3 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 2).

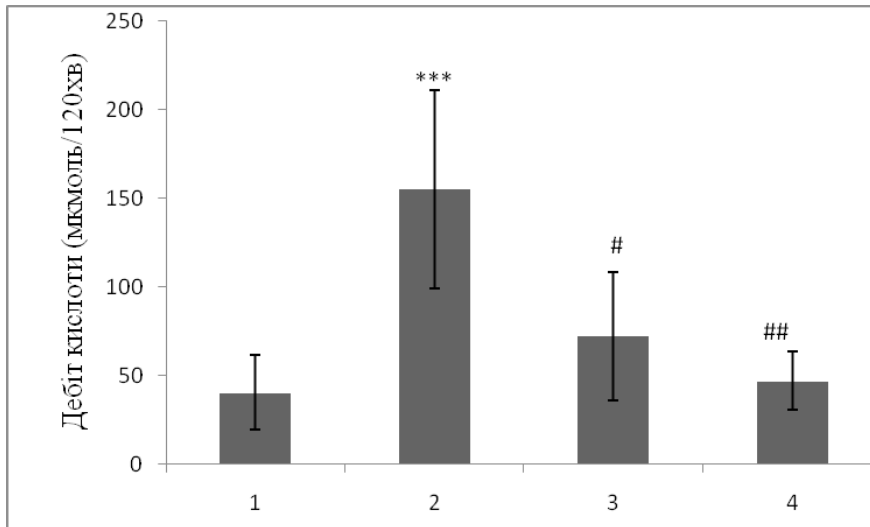


Рис. 1. Вплив омепразолу (14 мг/кг, внутрішньоочеревинно) та меланіну (0,1 мг/кг, перорально) на базальну шлункову секрецію у щурів,  $M \pm SD$ : 1 — контроль; 2 — омепразол; 3 — омепразол + піоглітазон; 4 — омепразол + меланін; \*\*\*-  $p < 0,001$  у порівнянні з контролем, #-  $p < 0,05$ , ##- $p < 0,01$  у порівнянні з омепразолом.

Отриманий ефект підтверджується даними літератури та проведеними раніше нашими дослідженнями, за якими гіпергастринемія у щурів, що виникає внаслідок введення як  $H_2$ -блокаторів гістамінових рецепторів (Johnson et al., 1996), так і блокатора  $H^+K^+$ -АТФази омепразолу, призводить до морфологічних змін в слизовій оболонці шлунка (Jalving et al., 2006; Jianu et al., 2012; Берегова Т. В. та ін., 2008), що відображається на секреторному процесі. Підвищення виділення кислоти шлунком виникає внаслідок розвитку гіперплазії та гіпертрофії enteroхромафіноподібних та паріетальних клітин у відповідь на гіпергастринемію.

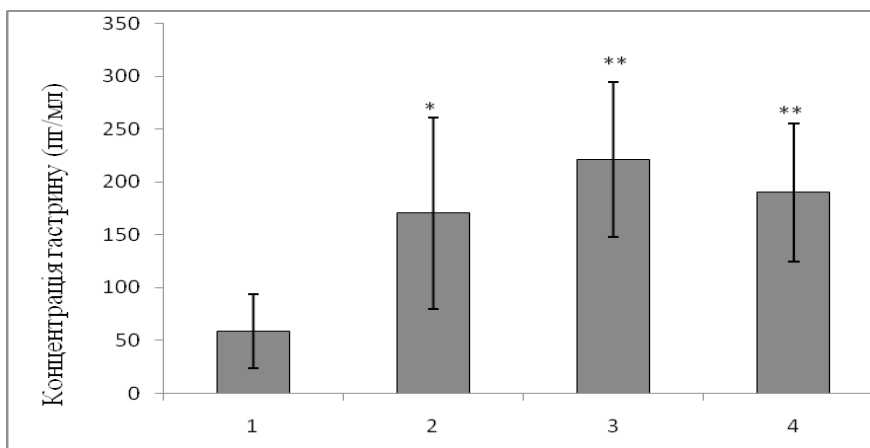


Рис. 2. Концентрація гастрину в плазмі крові, ( $M \pm SD$ ): 1 — контроль; 2 — омепразол; 3 — омепразол + піоглітазон; 4 — омепразол + меланін ; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$  у порівнянні з контролем.

Однчасне 28-денне введення з омепразолом агоністу PPAR $\gamma$  піоглітазону призводило до зниження дебіту базальної шлункової секреції на 53,3 % ( $p < 0,05$ ) до  $72,3 \pm 36,2$  мкмоль/120 хв ( $n = 10$ ) в порівнянні з групою шурів, що отримувала лише омепразол, при цьому показники секреції кислоти статистично значущо не відрізнялись від контролю (рис. 1).

У групи шурів, які одночасно з омепразолом протягом 28 днів отримували інший природний агоніст PPAR $\gamma$  меланін, дебіт базальної секреції гідрохлоридної кислоти був ще більше наблизений до показників контрольної групи і становив  $47,0 \pm 16,4$  мкмоль/120 хв ( $n = 10$ ). При цьому спостігалось зменшення кислотоутворення на 69,7 % ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з групою з 28-денним введенням омепразолу (рис. 1). Отже, меланін знімав стимулюючий вплив омепразолу на базальну секрецію кислоти шлунком. З отриманих даних видно, що природний агоніст PPAR $\gamma$  меланін виявився більш ефективними, ніж синтетичний піоглітазон.

Слід відмітити, що зниження шлункової секреції при введенні обох агоністів PPAR $\gamma$  (піоглітазону і меланіну) відбувалося на фоні вираженої гіпергастринемії (рис. 2). Зважаючи на те, що секреція кислоти в шлунку залежить від маси парієтальних клітин, ми припустили, що за умов однчасного введення агоністів PPAR $\gamma$  та омепразолу гіперпластичні процеси були менш вираженим або відсутніми.

#### 4. Висновки

1. Введення протягом 28 днів блокатору H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATФази омепразолу призводить до зростання секреції гідрохлоридної кислоти шлунком внаслідок розвитку гіперпластичних процесів.

2. Активація ядерних рецепторів активаторів проліферації пероксисом типу гамма піоглітазоном та меланіном в умовах розвитку експериментальної гіпергастринемії запобігає розвитку гіпертрофії слизової оболонки шлунку та знижує дебіт базальної шлункової секреції у шурів.

#### Список літератури

1. **Берегова Т. В.**, Цирюк О. І., Вороніна О. К. та ін. Структурно-функціональні зміни в шлунку, викликані тривалою гіпергастринемією, та пошук методів їх профілактики // Тези доповідей ІУ Міжнародної конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології», присвяченої 90-річчю від дня народження П. Г. Богача. — 2008. — С. 43 — 44.
2. **Гланц С.** Медико-біологическая статистика / С. Гланц. — М. : Практика, 1998. — 459 с.
3. **Європейська** конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей // В кн. : Мурзін О. Б. Посібник до практичних занять з фізіології людини. — Д. : Видавництво Дніпропетровського університету, 2004. — С. 135 — 148.
4. **Чижанська Н. В.**, Берегова Т. В., Цирюк О. І. Про участь оксиду азоту в цитопротективній дії меланіну на слизову оболонку шлунку // Вісник проблем біології і медицини. — 2005. — № 3. — С. 56 — 59.
5. **Ghosh M. N.**, Shild H. O. Continuous recording of acid gastric secretion in the rat // Br. J. Pharmacol. — 1958. — P. 13 — 14.
6. **Harris S. G.**, Phipps R. P. The nuclear receptor PPAR gamma is expressed by mouse T lymphocytes and PPAR gamma agonists induce apoptosis. // Eur J Immunol. — 2001. — P. 1098 — 1105.
7. **Jalving M.**, Koornstra J. J., Wesseling J. et al. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2006. — V. 24, № 9. — P. 1341 — 1348
8. **Jianu C. S.**, Fossmark R., Viset T. et al. Gastric carcinoids after long-term use of a proton pump inhibitor // Aliment Pharmacol Ther. — 2012. V. 36, № 7. — P. 644 — 649.
9. **Johnson AG**, Jick SS, Perera DR et al. Histamine-2 receptor antagonists and gastric cancer Epidemiology. — 1996. — V. 7, № 4. — P. 434 — 6.
10. **Konturek P. C.**, Brzozowski T., Kania J. Pioglitazone, a specific ligand of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, accelerates gastric ulcer healing in rat. // Eur J Pharmacol. — 2003. — № 3. — P. 213 — 220.
11. **Plonska P.**, Grabacka M. Melanin synthesis in microorganisms — biotechnological and medical aspects // Acta Biochimica Polonica. — 2006. — V. 53, № 3. — P. 429 — 443.
12. **Sertznig P.** Present concepts and future outlook: Function of peroxisome proliferators-activated receptors (PPARs) for pathogenesis, progression, and therapy of cancer // J Cell Biology. — 2007. — V. 212, — P. 1 — 12.
13. **Yang XY.**, Wang LH., Chen T. et al. Activation of human T lymphocytes is inhibited by peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPARgamma) agonists. PPARgamma coassociation with transcription factor NFAT // J Biol Chem.. — 2000. — V. 275. — P. 4541 — 4544