

## ВПЛИВ ВЕРАПАМІЛУ НА СЕКРЕТОРНУ ФУНКЦІЮ ШЛУНКА ЗА УМОВ ТРИВАЛОЇ ОМЕПРАЗОЛ-ІНДУКОВАНОЇ ГІПОХЛОРИДРІЇ

О. Цирюк, Ю. Головинська, Н. Скочко, Т. Берегова

*Навчально-науковий центр «Інститут біології»  
Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
пр. Академіка Глушкова, 2, Київ 03022, Україна  
e-mail: tsyryuk@mail.ru*

У роботі досліджували шлункову секрецію щурів після 28-денного ізольованого введення інгібітора  $H^+K^+$ -АТФ-ази омепразолу та сумісного його введення з блокаторм кальцій-чутливих рецепторів верапамілом, а також визначали рівень гастрину в сироватці крові.

Дослідження проведені на білих нелінійних щурах. На початку експерименту щурів було поділено на чотири групи. Контролем слугувала перша група, щурам якої протягом 28 днів вводили 0,2 мл води для ін'єкцій. Другій групі протягом 28 днів вводили омепразол (14 мг/кг) внутрішньочеревинно, розчинений в 0,2 мл води для ін'єкцій. Третій групі 28 днів перорально вводили верапаміл (0,5 мг/кг). Четверта група 28 днів одночасно отримувала омепразол і верапаміл. Через добу після останнього введення щурам води або препаратів в умовах гострого експерименту досліджували базальну шлункову секрецію гідрохлоридної кислоти методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем і Шільдом. У кінці експерименту проводили забір крові для визначення концентрації гастрину в сироватці крові.

У результаті проведених досліджень було встановлено, що одночасне введення омепразолу з верапамілом пригнічувало стимулюючий вплив на виділення гастрину G-клітинами шлунка, що відбувається внаслідок зростання рН після використання інгібітора  $H^+K^+$ -АТФ-ази. Крім того, блокада кальцій-чутливих рецепторів запобігала гіперплазії ентерохромофіноподібних (ECL) клітин, пригнічувала шлункову секрецію та не давала побачити ефекту гіперсекреції, який спостерігається через добу після тривалого використання кислотознижувальних препаратів.

*Ключові слова:* шлункова секреція, омепразол, верапаміл, гастрин.

Центральне місце в лікуванні хворих із кислотозалежною патологією займають антисекреторні препарати. На сьогодні найбільш ефективними серед них є препарати з групи інгібіторів протонної помпи [3]. Деякі захворювання (гастроезофагально-рефлюксна хвороба, синдром Золлінгера-Еллісона, панкреатит) потребують тривалого застосування антисекреторних препаратів [16, 24]. Проте, як відомо з літератури, тривале пригнічення шлункової секреції за механізмом зворотного зв'язку призводить до посилення виділення гастрину G-клітинами антрального відділу шлунка [12, 26, 33]. Як наслідок трофічної дії гастрину виникає гіперплазія слизової оболонки шлунка, що в подальшому може стати причиною розвитку метаплазії, карциноїдних пухлин і раку шлунка [18–20]. Тому актуальним є пошук лікарських засобів, які б запобігали виникненню даних патологій при терапії кислотозалежних захворювань. Отже, не випадковий інтерес викликають лікарські препарати, які могли би впливати на різні механізми регуляції шлункової секреції.

Наявність кальцій-чутливого рецептора (CaR), як безпосередньо на парієтальній клітині, так і на гастринпродукуючих G-клітинах, робить кальцій важливою ланкою у процесі кислотоутворення в шлунку. Експресія CaR на апікальній і базолатеральній мембра-

нах G-клітин шлунку і їх активація  $\text{Ca}^{2+}$ , амінокислотами і підвищенням рН дає змогу припустити, що CaR може функціонувати як фізіологічний датчик, що регулює виділення гастрину і секрецію кислоти [13].

Зважаючи на те, що тривале лікування інгібіторами  $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATФ}$ -ази призводить до підвищення рН у шлунку [9, 21, 28] та, відповідно, зростання надходження екстрацелюлярного кальцію в G-клітину [25] і, тим самим, до посилення виділення гастрину з неї [10, 13], перед нами стояло завдання уникнути явища гіпергастринемії та її негативних наслідків. Було зроблено припущення, що блокада рН-чутливого кальцієвого рецептора не дасть можливості G-клітині реагувати на збільшення рН у шлунку на тлі дії омепразолу та зростати концентрації гастрину. Для цього ми спробували використати антагоніст кальцій-чутливих 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 сигма [4, 11]. Основне значення має субодиниця альфа-1, вона є безпосередньо каналотворювальним білком, і на поверхні субодиниці є рецептори, з якими взаємодіє верапаміл [17, 29, 30].

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

#### Матеріали та методи

Дослідження проведені на 35 білих нелінійних щурах-самцях масою 180–230 г з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 р., Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі [5].

На початку експерименту щурів було поділено на чотири групи. Щурі 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 інгібітор  $\text{H}^+\text{-K}^+\text{-ATФ}$ -ази омепразол («Sigma», USA) в дозі 14 мг/кг внутрішньочеревинно (в/о) один раз на добу, який розчиняли в 0,2 мл води для ін'єкцій. Щурам третьої групи 28 днів перорально вводили блокатор кальцієвих каналів верапаміл (0,5 мг/кг). Щурі четвертої групи протягом 28 днів одночасно отримували омепразол і верапаміл.

Через добу після останнього введення щурам води або препаратів в умовах гострого експерименту досліджували базальну шлункову секрецію гідрохлоридної кислоти методом перфузії ізольованого шлунку за Гхошем і Шільдом [15]. Щурів наркотизували уретаном (Sigma Chemical Co, St. Louis, USA) в дозі 1,15 г/кг маси тіла (в/о). У зібраних 10-хвилинних пробах електротитриметрично визначали загальну кислотність перфузату за допомогою іономіра ЭВ-74 з використанням 0,01 N розчину гідроокису натрію (NaOH) [2]. Кількість NaOH, що йшла на титрування перфузату в 10-хвилинній пробі, дорівнювала дебіту гідрохлоридної кислоти, що виділялась у шлунку за даний період часу. Після цього обчислювали дебіт кислоти, що виділився впродовж досліду (120 хв) у мкмоль. У кінці експерименту проводили забір крові для визначення концентрації гастрину в сироватці крові. Гастрин визначали радіоімунологічним методом із використанням аналітичного набору фірми «MP Biomedicals, LLC» (USA). Після завершення дослідів щурів умертвляли за допомогою летальної дози уретану (3 г/кг, в/о).

Одержані результати досліджень перевіряли на нормальність розподілу за допомогою W тесту Шапіро-Вілка. Оскільки наші дані виявилися нормально розподілені, ми розраховували середнє значення (M), стандартне відхилення (SD). Порівняння вибірок проводили за допомогою t-критерію Стьюдента. Для наших даних ми приймали рівень значущості  $p < 0,05$  [1, 6].

### Результати і їхнє обговорення

Аналіз секреторної активності шлунка показав, що базальний рівень гідрохлоридної кислоти у щурів контрольної групи становив  $29,9 \pm 10,5$  мкмоль/120 хв ( $n=10$ ). Після 28-денного введення інгібітора  $H^+K^+$ -АТФ-ази омепразолу базальна секреція гідрохлоридної кислоти у шлунку збільшувалась на  $167 \pm 71\%$  і становила  $79,9 \pm 10,5$  мкмоль/120 хв ( $n=10$ ) ( $p < 0,001$ ) (рис. 1).

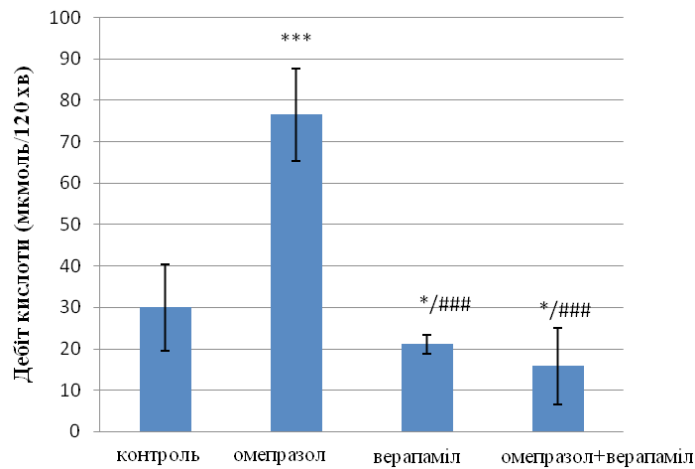


Рис. 1. Базальна шлункова секреція кислоти у щурів після 28-денного ізолюваного та сумісного введення омепразолу (14 мг/кг, в/о), (M±SD): контроль ( $n=10$ ), омепразол ( $n=10$ ), верапаміл (0,5 мг/кг, per os,  $n=7$ ), омепразол + верапаміл ( $n=8$ ): \* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з контрольною групою, ### –  $p < 0,001$  порівняно з групою омепразолу.

Отримане збільшення рівня базальної шлункової секреції є показником гіперплазії та гіпертрофії парієтальних клітин шлунка внаслідок трофічної дії гастрину, що виникає за механізмом зворотного зв'язку через тривале пригнічення виділення гідрохлоридної кислоти омепразолом [7, 31], що раніше нами було підтверджено морфологічно [8]. У нашому експерименті цей факт підтверджується показниками концентрації гастрину в сироватці крові щурів дослідної групи. Так, рівень гастрину в сироватці крові щурів, яким протягом 28 днів вводили омепразол, становив  $177 \pm 46,5$  пг/мл ( $n=10$ ), що було на  $239 \pm 83\%$  ( $p < 0,01$ ) вище ніж у щурів контрольної групи, де це значення становило  $52,5 \pm 21,3$  пг/мл ( $n=10$ ) (рис. 2).

Оскільки для уникнення розвитку гіпергастринемії нами було запропоновано сумісне введення з омепразолом антагоніста кальцієвих рецепторів верапамілу, то виникла необхідність також дослідити вплив ізолюваного 28-денного введення 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  $29,5 \pm 8,1\%$  ( $p < 0,05$ ) і становила  $21,1 \pm 2,3$  мкмоль/120 хв ( $n=7$ ) порівняно з контрольними тваринами, яким 28 днів вводили воду (рис. 1). Одержані дані узгоджуються

з даними літератури, де дослідники вивчали вплив блокаторів кальцій-чутливих рецепторів як на базальну, так і на стимульовану секреторну активність шлунка [27, 23]. На основі отриманих результатів автори підкреслювали важливість участі позаклітинного кальцію у процесі секреції гідрохлоридної кислоти шлунком.

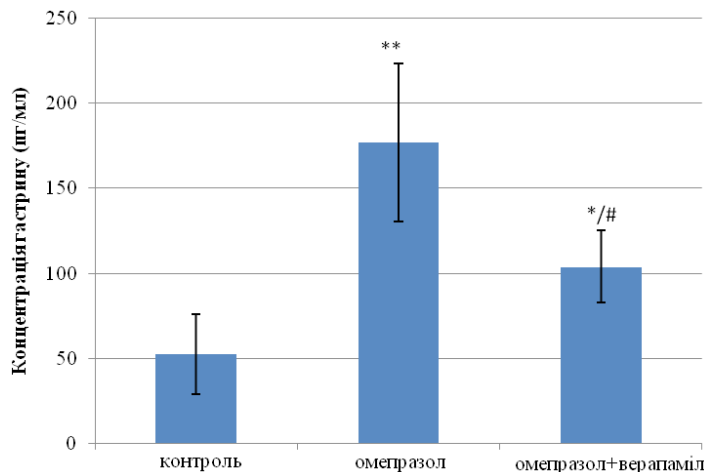


Рис. 2. Концентрація гастрину в сироватці крові щурів після 28-денного ізолюваного та сумісного з верапамілом введення омепразолу, (M±SD): \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  порівняно з контрольною групою, # –  $p < 0,05$  порівняно з групою омепразолу.

Аналіз наступної експериментальної групи тварин показав, що після 28-денного сумісного введення шурам омепразолу та верапамілу дебіт базальної шлункової секреції становив  $15,8 \pm 9,2$  мкмоль/120 хв, що було на  $80 \pm 39\%$  менше ( $p < 0,001$ ) ( $n=8$ ) порівняно з дебітом базальної шлункової секреції у щурів після 28-денного ізолюваного введення омепразолу (рис. 1). Таке зниження шлункової секреції пояснюється отриманими результатами концентрації гастрину в плазмі крові щурів даної групи, де ми спостерігали зниження до  $104 \pm 21,3$  пг/мл ( $n=8$ ) (рис. 2), тоді як у щурів з омепразолом результат був  $177 \pm 46,5$  пг/мл.

Тобто одночасне введення блокатора кальцій-чутливих рецепторів пригнічувало стимулюючий вплив на виділення гастрину G-клітинами шлунка спричинене зростанням рН унаслідок дії омепразолу. Крім того, блокада кальцій-чутливих рецепторів, що розташовані на парієтальних та ECL клітинах, запобігала їх гіперплазії, пригнічувала шлункову секрецію та не давала побачити «ефекту відміни», який спостерігається через добу після закінчення прийому кислотознижувальних препаратів, які давали шурам тривалий час [3, 14, 22, 32].

Таким чином, верапаміл запобігав розвитку структурно-функціональних змін, що виникають на тлі тривалої гіпоацидності.

Отриманий ефект дії верапамілу дає нам підстави розраховувати на можливість його використання разом з інгібіторами  $H^+K^+$ -АТФ-ази у процесі довготривалого лікування кислотозалежних захворювань. Проте не слід забувати, що блокатори кальцій-чутливих рецепторів використовуються у клінічній практиці насамперед як кардіопрепарати з гіпотензивною й антиаритмічною дією. Отже, враховуючи індивідуальний підхід до кожного хворого, можна рекомендувати прийом верапамілу людям, у яких захворювання травного тракту, що потребують тривалого лікування інгібіторами  $H^+K^+$ -АТФ-ази, поєднані з артеріальною гіпертензією та ішемічною хворобою серця.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Гланц С. Медико-биологическая статистика. М.: Практика, 1998. 459 с.
2. Гройсман С. Д., Губкин В. А., Береговая Т. В. Полуавтоматическая электротитриметрическая установка для титрования желудочного сока // Лабораторное дело. 1988. № 9. С. 66–67.
3. Лапина Т. Л. Ингибиторы протонной помпы: несколько вопросов по теории и практике // Фарматека. 2006. №1. С. 1–4.
4. Мельников К. Н. Разнообразие и свойства кальциевых каналов возбудимых мембран // Психофармакология и биол. наркологию. 2006. Т. 6. № 1–2. С. 1139–1155.
5. Покровский В. И. Биомедицинская этика. М.: Медицина, 1997. 224 с.
6. Філімонова Н. Б., Філь І. О., Михайлова Т. С. Статистичний аналіз даних відповідно до засад науково обгрунтованої медицини. Первинний аналіз кількісних даних, подання результатів експерименту // Медицина залізничного транспорту України. 2004. № 4. С. 85–93.
7. Цирюк О. І., Берегова Т. В. Вплив омепразол-викликаної гіпергастринемії на базальну шлункову секрецію у шурів // Вісн. проблем біології і медицини. 2007. № 3. С. 38–43.
8. Цирюк О. І., Вороніна О. К., Овчарик Т. В. та ін. Вплив гіпергастринемії різної тривалості на структурно-функціональний стан слизової оболонки шлунка у шурів // Механізми функціонування фізіологічних систем: матеріали міжнар. наук. конф., приуроченої до 60-ліття новоствореної кафедри фізіології людини і тварин ЛНУ імені Івана Франка. Львів, 2006. С. 152–153.
9. Bavishi C., DuPont H. L. The use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection // Aliment Pharmacol Ther. 2011. Vol. 34. N 11. P. 1269–1281.
10. Buchan A. M., Squires P. E., Ring M. Mechanism of action of the calcium-sensing receptor in human antral gastrin // Gastroenterol. 2001. Vol. 120. N 5. P. 1128–1139.
11. Catterall W. A. Structure and function of voltage-sensitive ion channel // Sci. 1988. Vol. 242. P. 50–60.
12. Cui G., Waldum H. Physiological and clinical significance of enterochromaffin-like cell activation in the regulation of gastric acid secretion // World J. Gastroenterol. 2007. Vol. 13. N 4. P. 493–496.
13. Feng J., Petersen C., Coy D. et al. Calciumsensing receptor is a physiologic multimodal chemosensor regulating gastric G-cell growth and gastrin secretion // Proc. Natl. Acad Sci USA. 2010. Vol. 107. P. 17791–17796.
14. Fossmark R., Johnsen G., Johanessen E. et al. Rebound acid hypersecretion after long-term inhibition of gastric acid secretion // Aliment. Pharmacol. Ther. 2005. Vol. 21. N 2. P. 149–154.
15. Ghosh M. N., Schild H. O. Continuous recording of acid gastric secretion in the rat // Br. J. Pharmacol. 1958. P. 13–14.
16. Giannini E. G., Zentilin P., Dulbecco P. et al. Management strategy for patients with gastroesophageal reflux disease: a comparison between empirical treatment with esomeprazole and endoscopy-oriented treatment // Am. J. Gastroenterol. 2008. Vol. 103. N 2. P. 267–275.
17. Glossmann H., Striessnig J. Molecular properties of calcium channels // Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 1990. Vol. 114. P. 1–105.
18. Graham D. Y., Genta R. M. Long term proton pump inhibitor use and gastrointestinal cancer // Current gastroenterology reports. 2008. Vol. 10. N 6. P. 543–547.
19. Jianu C. S., Fossmark R., Viset T. et al. Gastric carcinoids after long-term use of a proton pump inhibitor // Aliment. Pharmacol. Ther. 2012. Vol. 36. N 7. P. 644–649.

20. *Jianu C. S., Lange O. J., Viset T.* et al. Gastric neuroendocrine carcinoma after long-term use of proton pump inhibitor // *Scand. J. Gastroenterol.* 2012. Vol. 47. N 1. P. 64–70.
21. *Johnson D. A., Stacy T., Ryan M.* et al. A comparison of esomeprazole and lansoprazole for control of intragastric pH in patients with symptoms of gastroesophageal reflux disease // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2005. Vol. 22. P. 129–134.
22. *Lerotić I., Baršić N., Stojsavljević S.* et al. Acid inhibition and the acid rebound effect // *Dig. Dis.* 2011. Vol. 29. N 5. P. 482–486.
23. *McColl K. E., Buchanan N. M., Laferla G.* et al. Effects of nifedipine on gastric acid secretion and gastrin release in man // *Gut.* 1987. Vol. 28. N 4. P. 455–459.
24. *Nieto Jo., Pisegna Jo. R.* The role of proton pump inhibitors in the treatment of Zollinger–Ellison syndrome // *Expert Opin. Pharmacol.* 2006. Vol. 7. N 2. P. 169–175.
25. *Ray J. M., Squires P.E., Curtis S. B.* et al. Expression of the calcium-sensing receptor on human antral gastrin cells in culture // *J. Clin. Invest.* 1997. Vol. 99. N 10. P. 2328–2333.
26. *Sachs G., Prinz C., Loo D.* et al. Gastric acid secretion: activation and inhibition // *Yale J. Biol. Med.* 1994. Vol. 67. N 34. P. 81–95.
27. *Sewing K. F., Hannemann H.* Calcium Channel antagonists verapamil and gallopamil are powerful inhibitors of acid secretion in isolated and enriched guinea pig parietal cells // *Pharmacol.* 1983. Vol. 27. P. 9–14.
28. *Sharma V. K.* Comparison of 24-hour intragastric pH using four liquid formulations of lansoprazole and omeprazole // *Am. J. Health. Syst. Pharm.* 1999. Vol. 56. (23 Suppl 4). P. 18–21.
29. *Striessnig J.* Pharmacology, structure and function of cardiac L-type calcium channels // *Cell Physiol Biochem.* 1999. Vol. 9. P. 242–269.
30. *Tanabe T., Takeshima H., Mikami A.* Primary structure of the receptor for calcium channel blockers from skeletal muscle // *Nature.* 1987. Vol. 328. P. 313–318.
31. *Tsyryuk O. I.* Correction of negative influence of long-term hypergastrinemia on gastric acid secretion // *Fiziolohichniy zhurnal.* 2011. Vol. 57. N 1. P. 66–71.
32. *Waldum H. L., Qvigstad G., Fossmark R.* et al. Rebound acid hypersecretion from a physiological, pathophysiological and clinical viewpoint // *Scand. J. Gastroenterol.* 2010. Vol. 45. N 4. P. 389–394.
33. *Walsh J. H.* Gastrointestinal hormones and peptides. In: Johnson L.R., ed. *Physiology of the Gastrointestinal Tract.* 2nd ed. New York: Raven Press, 1987. P. 181–252.

*Стаття: надійшла до редакції 30.03.15*

*доопрацьована 07.10.15*

*прийнята до друку 20.10.15*

## **VERAPAMIL INFLUENCE ON SECRETORY FUNCTION OF STOMACH IN CASE OF LONG-TERM OMEPRAZOLE-INDUCED HYPOCHLORHYDRIA**

**O. Tsyryuk, Y. Golovinska, N. Skochko, T. Beregova**

*Educational and Scientific Centre “Institute of Biology”*

*Taras Shevchenko National University of Kyiv*

*2, Academician Glushkov Ave., Kyiv 03022, Ukraine*

*e-mail: tsyryuk@mail.ru*

In this work gastric secretion in rats was investigated after long-term separate injection of H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase blocker(omeprazole) and its simultaneous administration with cal-

cium receptor blocker (verapamil). Also gastrin level in plasma was measured. The study was carried out on white nonlinear rats. Rats were divided into 4 groups. The 1<sup>st</sup> group was the control, rats were injected by water (0.2 ml). Omeprazole (14 mg/kg) was administered intraperitoneal to the rats of 2<sup>nd</sup> group. Verapamil was administrated orally to the rats of 3<sup>rd</sup> group. Animals of 4<sup>th</sup> group was simultaneous administrated with omeprazole and verapamil. All drugs were administered for 28 days long. In 24 hours period after last injection gastric basal acid output was measured in acute experiments by method of perfusion of isolated stomach by Ghosh and Shild. At the end of experiments blood samples were collected to determine gastrin concentration in blood plasma. It was established that simultaneous administration of omeprazole and verapamil suppressed the stimulated gastrin secretion by G-cells of the stomach, due to the increase of pH after H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase blocker usage. Besides calcium receptors blockade prevented hyperplasia of ECL cells, inhibited gastric secretion and prevented hypersecretion that was observed one day after prolonged injection of acid reducing drugs.

*Keywords:* gastric secretion, omeprazole, verapamil, gastrin.

## ВЛИЯНИЕ ВЕРАПАМИЛА НА СЕКРЕТОРНУЮ ФУНКЦИЮ ЖЕЛУДКА ПРИ ДЛИТЕЛЬНОЙ ОМЕПРАЗОЛ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГИПОХЛОРГИДРИИ

Е. Цирюк, Ю. Головинская, Н. Скочко, Т. Береговая

*Учебно-научный центр «Институт биологии»  
Киевского национального университета имени Тараса Шевченко  
пр. Академика Глушкова, 2, Киев 03022, Украина  
e-mail: tsyryuk@mail.ru*

В работе исследовали желудочную секрецию у крыс, после 28-дневного изолированного введения ингибитора H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФ-азы омепразола и совместного его введения с блокатором кальциевых рецепторов верапамилом, а также определяли уровень гастрин в плазме крови.

Исследования проведены на белых нелинейных крысах. В начале эксперимента крысы были разделены на четыре группы. Контролем служила первая группа, крысам которой в течение 28 дней вводили 0,2 мл воды для инъекций. Второй группе в течение 28 дней вводили омепразол (14 мг/кг) внутривентриально, растворенный в 0,2 мл воды для инъекций. Третьей группе 28 дней перорально вводили верапамил (0,5 мг/кг). Четвертая группа 28 дней одновременно получала омепразол и верапамил. Через сутки после последнего введения крысам воды или препаратов в условиях острого эксперимента исследовали базальную желудочную секрецию гидрохлоридной кислоты методом перфузии изолированного желудка по Гхошу и Шильду. В конце эксперимента проводили забор крови для определения концентрации гастрин в сыворотке крови.

В результате проведенных исследований было установлено, что одновременное введение омепразола с верапамилом подавляло стимулирующее влияние на выделение гастрин G-клетками желудка, которое происходит вследствие повышения pH после использования ингибитора H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФ-азы. Кроме того, блокада кальциевых рецепторов предотвращала гиперплазию ECL-клеток, уменьшала желудочную секрецию и не позволяла увидеть эффект гиперсекреции, который наблюдается через сутки после длительного использования кислотоснижающих препаратов.

*Ключевые слова:* желудочная секреция, омепразол, верапамил, гастрин.