УДК 612.323:612.351.5

ЕФЕКТИ КОРВІТИНУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКА ЩУРА, УРАЖЕНУ 80% ЕТАНОЛОМ, ЗА РІЗНИХ ДОЗ ПРЕПАРАТУ

- [1] **Л. Я. Штанова, к. біол. н., ст. н. с. від. заг. фізіол.**
  [1] **Т. М. Говоруха, к. біол. н., ст. н. с. від. заг. фізіол.**
  [1] **Т. В. Вовкун, інж. ІІ кат. від. фізіол. кровооб.**
  [1] **В. А. Барановський, провід. інж., від. фізіол. кровооб.**
  [1] **В. М. Бабан, інж. І кат. від. заг. фізіол.**
  [1] **П. І. Янчук, д. біол. н., ст. н. с., зав. від. фізіол. кровооб.**
  [1] **С. П. Весельський, д. біол. н., ст. н. с. від. заг. фізіол.**
  [2] **К. В. Гарник, к. мед. н., в. о доц. каф. фітотер., гомеоп. та біоенергоінформ. мед.**

- *[1] Київський національний університет імені Т. Шевченка*
  [2] Київський медичний університет Української асоціації народної медицини

Флавоноїди - це велика група сполук рослинного походження, які людина споживає разом з рослинною їжею. Часто користь фруктів чи овочів для здоров'я людини пов'язана саме з високим вмістом у них такого типу сполук [42]. Одним з найхарактерніших представників флавоноїдів нашого звичного харчового раціону є кверцетин (3,5,7,3',4'-пентагідроксифлавон), який міститься у різноманітних овочах та фруктах, постійно вживаних людиною. Регулярне споживання продуктів, які містять кверцетин, знижує ризик хронічних захворювань, у тому числі хвороб кардіоваскулярної системи, деяких видів раку та виразки шлунка [20, 39].

Виразкова хвороба шлунка - досить поширене захворювання, причини виникнення якої, незважаючи на численні проведені дослідження, до кінця не розкриті. В нашій роботі ми використали етанолову модель індукції ушкоджень слизової оболонки шлунка (СОШ), оскільки вона забезпечує швидке ураження тканин, яке проявляється пошкодженням ендотелію судин, утворенням набряків, застоєм крові, крововиливами, некрозом тканин. Однією з причин цих негативних змін є утворення під дією етанолу вільних радикалів та посилення перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканині СОШ [10]. Традиційне лікування гастродуоденальних виразок за допомогою H_2-антагоністів чи інгібіторів протонної помпи дає 80-100% заживлення виразок впродовж 1 року. Проте, після припинення лікування досить частими є рецидиви хвороби, а згадані синтетичні препарати викликають в організмі низку небажаних ефектів. Через це пошуки нових методів лікування хвороби, які базувались би на використанні натуральних, нетоксичних для організму сполук без шкідливих побічних ефектів є актуальними.

Цитопротекторна дія кверцетину відносно шлунка зумовлена, в першу чергу, його антиоксидантними властивостями [2, 24], що забезпечується присутніми в його молекулі ароматичними гідроксильними групами. Наразі відомо, що існують й інші клітинні ефекти флавоноїдів, які можуть проявлятися як одночасно з антиоксидантними, так і абсолютно окремо від них. Зокрема, кверцетин взаємодіє з багатьма біохімічними сигнальними механізмами, як у фізіологічних, так і в патологічних умовах. З одного боку він може пригнічувати синтез ендотеліну-1 у судинній стінці, а з іншого - збільшувати продукцію NO [44]. Оперуючи за такою схемою, дана сполука посилює кровотік у СОШ, продукцію простагландинів і слизу клітинами шлункового епітелію [28].

Аналізуючи результати більшості досліджень з кверцетину in vitro та in vivo, що існують на даний момент, відмічають парадоксальну поведінку біофлавоноїду, яка полягає в суперечливості його біологічних ефектів [30]. Цю суперечливість пов'язують з його дозою і редокс-статусом клітини: низькі дози сполуки захищають клітини від оксидативних ушкоджень, тоді як більші - навпаки, індукують в них різні негативні явища. Зокрема, за таких умов кверцетин вступає в реакції редокс-циклу в клітинних системах, що надає йому прооксидантних властивостей [23]. Великі дози кверцетину проявлють мутагенний потенціал [25, 43].

Уведений в культуру клітин у малих кількостях, кверцетин стимулював їх розвиток, підвищував антиоксидантний статус, тоді як збільшення концентрації даної сполуки в середовищі викликало зменшення кількості тіолів, зниження активності ферментів, зокрема супероксиддисмутази, каталази і глютатіон^-трансферази в клітинах, а також зменшувало їх загальний антиоксидантний статус [30]. Є дані про те, що велика доза кверцетину (220 мкМ) пригнічує активність ендотелійної NO-синтази [17]. На цілому організмі доведено, що внаслідок застосування кверцетину в підвищених дозах у тканинах відбувається накопичення продуктів його аутооксидації. Останні мають хіноїдальну природу і можуть реагувати з глютатіоном, змінюючи структуру і зменшуючи кількість активних молекул останнього [18, 42]. Репетто відмічав, що низькі концентрації фенольних сполук стимулюють синтез про-

стагландинів, а високі навпаки, гальмують його [31]. Зокрема, це стосується і кверцетину [13].

Натуральні антиоксиданти дедалі більше використовуються не лише як ліки, а й як харчові добавки, і їх перелік постійно зростає. Надходження великої кількості фенольних сполук в організм у формі концентрованих харчових добавок не можна вважати безпечним, попередньо не оцінивши їх позитивного чи можливого негативного потенціалів in vivo. **У зв'язку з цим постають проблеми встановлення оптимальних норм їх споживання.** Вивчення дії на шлунок флавоноїдів, застосованих у різних дозах, допоможе визначити допустиму дозу препаратів і тим самим посилити їх безпечність для організму людини.

Кверцетин - це унікальний по своїй силі антиоксидант, однак широке його застосування гальмувалося низькою розчинністю у воді. Створення вітчизняними вченими розчинної форми кверцетину - препарату корвітин дозволило розширити межі його застосування. Корвітин є потужним інгібітором ферментів. Особливо активним він є у відношенні до фермента 5-ліпоксигенази - продуцента патогенних в умовах гіпоксії лейкотрієнів [5]. При цьому він малотоксичний (IV клас токсичності), таким, що немає протипоказань, тобто придатним для будь-кого. В нашій попередній роботі ми довели, що корвітин при внутрішньошлунковому введенні щурам у дозах 2,5 і 5,0 мг/кг захищав СОШ від гострих уражень 80% етанолом [1]. Такий захист базувався на активації препаратом антиоксидантних механізмів у СОШ, не торкаючись при цьому кислої шлункової секреції. Метою даної роботи було дослідження ефектів корвітину, використаного в дозах 10, 20 та 40 мг/кг, на слизову оболонку шлунка щура при дії на неї 80% етанолу та можливих механізмів, на яких ґрунтуються ці ефекти.

Матеріали та методи дослідження

Матеріали: 80% етанол, корвітин (ЗАТ Борщагівський хім.-фарм. завод), папір для хроматографії типу FN1, набори реактивів для визначення концентрації малондіальдегіду ^ДА) в тканині СОШ, екстракції та розділення вільних амінокислот шлункового соку. Захисну дію корвітину досліджували на етаноловій моделі виразки. Гострі досліди проводили на самках білих щурів масою 200-250 г. В усіх серіях експериментів тварин за 24 год. до початку досліджень поміщали в спеціальні клітки з піднятим сітчастим дном, відбирали їжу, залишаючи вільний доступ до водопровідної води. В кожній експериментальній групі перебувало від б до 8 щурів, кількість таких груп дорівнювала 5. Ураження СОШ етанолом проводили за методом Морімото з незначними модифікаціями [27]. Тваринам першої групи (норма) внутрішньошлунково вводили фізіологічний розчин (5 мл/кг). В інших групах щурі за 1 год до введення етанолу одержували фізіологічний розчин (контроль) чи корвітин, розчинений у фізіологічному розчині (2,5 мг/кг і 5,0 мг/кг, об'єм 5 мл/кг). Через 1 год після інстиляції в шлунок 80% етанолу (5 мл/кг) щурів виводили з досліду методом цервікальної дислокації, шлунки видаляли з черевної порожнини, розрізали вздовж великої кривизни, викладали на лід і промивали охолодженим фізіологічним розчином, після чого за допомогою лупи досліджували слизову оболонку, рахуючи індекс уражень (ІУ) для кожної тварини слідуючим чином:

ІУ = (кількість ушкоджень типу I) + (кількість ушкоджень типу II) + (кількість ушкоджень типу III), де:

ушкодження типу I - це присутність окремих крапкових крововиливів у підслизовому шарі;

ушкодження типу II - присутність масивних крововиливів;

ушкодження типу III - виразки та ерозії в слизовій оболонці [41].

Відразу ж після закінчення даної процедури залозисту частину СОШ ретельно зішкрібали для визначення вмісту ТБК-реактивних сполук [б]. Суть методу полягає в тому, що за високої температури в кислому середовищі малондіальдегід ^ДА) реагує з 2-тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений триметиновий комплекс із максимумом поглинання світла при довжині хвилі 532 нм. Концентрацію МДА у гомогенаті СОШ виражали в нмоль/г тканини.

Шлункову секрецію досліджували за Шеєм на щурах із перев'язаним пілорусом [35]. Щурів наркотизували тіопенталом натрію (3,5 мг/100 г, в/о). Відкривши черевну порожнину, на область пілородуоденальної зв'язки накладали лігатуру, після чого за допомогою металевої орогастральної трубки в шлунок уводили фізіологічний розчин (5 мл/кг, контроль) чи корвітин, розчинений у фізіологічному розчині (10, 20 чи 40 мг/кг, об'ємом 5 мл/кг). Після 4 год. перев'язки пілоруса тварин виводили з досліду шляхом цервікальної дислокації, шлунки видаляли, а їх вміст збирали в градуйовані конічні пробірки. У зібраних пробах шлункового соку визначали: загальний об'єм секрету (мл/щура), pH, дебіт хлористоводневої кислоти (ХК) (мкмоль/год), дебіт загального білка (мг/год), концентрацію гексозамінів (у розрахунку на глюкозамін) (ммоль/год) та вільної амінокислоти цистеїну (мкмоль/год). Для дослідження продукції загального білка, гексозамінів і цистеїну від кожної проби шлункового соку відбирали 0,2 мл, решту - центрифугували протягом 10 хв. при 3500 об/хв. Після закінчення процедури супернатант обережно переносили в хімічні стаканчики, додавали 5 мл дистильованої води, визначали pH (іономір марки "pH 150") і титрували розчином 0,01 N №OH до pH=7,0 щоб визначити дебіт ХК.

Загальну кількість білка визначали спектрофотометричним методом, за допомогою біуретового реактива [4]. В хімічну пробірку вносили певну кількість досліджуваного розчину, що містить 0,1-2,0 мг білка, додавали дистильовану воду до 2 мл, 2 мл б% розчину NaOH і 0,2 мл реактиву Бенедикта. Вміст пробірки перемішували і залишали при кімнатній температурі. Через 15 хв. зразки спектрофотометрували при 330 нм. Одночасно будували

калібрувальну криву, за допомогою якої в досліджуваному розчині розраховували кількість білка.

Якісний аналіз присутності гексозамінів та цистеїну в шлунковому соку проводили за допомогою хроматографічного методу на папері FN1. Схема досліду така: спочатку нейтралізували ХК шлункового соку розчином аміаку (23%), у співвідношенні 0,2:0,1. Вільні амінокислоти екстрагували сумішшю ацетон-етанолу (3:1). Екстракт концентрували в конусовидній пробірці досуха. Сухий залишок розчиняли в мікрокількостях (20-50 мкЛ) суміші етанол-вода (1:1) і невеликими порціями (5 мл) зразок наносили на хроматограму. Розділення вільних амінокислот проводили в системі розчинника, до складу якого входить: ізоаміловий спирт, бутанол, оцтова кислота, мурашина кислота і вода (9:5:5:1:5). Хроматограми фарбували 0,2% розчином нінгідрину в ацетоні. Кількісну оцінку проводили на приладі "Денситометр ДО-1М" із попередньою побудовою калібрувальної кривої [3].

Локальний кровотік у СОШ визначали на наркотизованих уретаном (1,1 г/кг) щурах методом кліренсу водню з електрохімічною генерацією його за допомогою модифікованих нами платинових електродів [8]. Після проведення лапаротомії діставали шлунок і промивали його фізіологічним розчином (^ = 37,0 ± 0,5 °С). У СОШ занурювали модифікований електрод, а робочий кінець індиферентного електроду розміщували під шкірою тварини у паховій області. Пасивний хлорсрібний електрод ланцюга генерації розташовували під шлунком. Рівень кровотоку в СОШ визначали за кривою падіння напруги водню в ній після припинення генерації останнього, в мл/хв. * 100 г тканини, до (вихідний рівень) і після (дослідний рівень) дії корвітину, який розводили у фізіологічному розчині і вводили одноразово внутрішньошлунково в дозах 10, 20 чи 40 мг/кг. Для статистичного аналізу одержаних даних залучали стандартні методи варіаційної статистики з використанням W-тесту Шапіро-Вілка та ^критерію Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

У 1-й групі тварин (норма, фізіологічний розчин) при макроскопічному обстеженні СОШ ушкоджень не виявили, тоді як в 2-й групі (контроль, 80% етанол) спостерігали набряки та різного роду крововиливи, як незначні крапкові, так і масивні, з великою площею. Виразки були поодинокі, та й то не в усіх щурів, тоді як ерозії були численними. Корвітин попередньо введений у дозі 10 мг/кг зменшував ІУ, порівняно з групою контролю, на 33,5 % ($p < 0,001$). У групі тварин, яким препарат уводили в дозі 20 мг/кг, ІУ не відрізнявся від такого контрольної групи. Коли ж корвітин застосовували в дозі 40 мг/кг, то спостерігали збільшення ІУ на 30,8% порівняно з контролем (Рис. 1).

Етанол викликає ушкодження СОШ через зниження локального кровотоку, обмеження продукції в ній слизу [36] та загального глютатіону - джерела SH-груп. Останні є ключовими хімічними сполуками у захисті СОШ від етанольних ушкоджень [12, 40], оскільки здійснюють у шлунку контроль продукції слизу і нейтралізують вільні радикали. Модифіковані вільними радикалами ліпіди мембран, що проявляються у вигляді МДА, реагують з тіобарбітуровою кислотою [16].

У даній роботі ми встановили, що після введення етанолу концентрація МДА в СОШ, проти показників нормальної групи, зросла на 96,4% ($p<0,001$). Уведення в шлунок корвітину в дозі 10 мг/кг зменшило кількість МДА в тканині, порівняно з контролем, на 35,5 % ($p<0,05$). При дозі корвітину 20 мг/кг даний показник був на рівні контрольного, а збільшення дози препарату до 40 мг/кг викликало

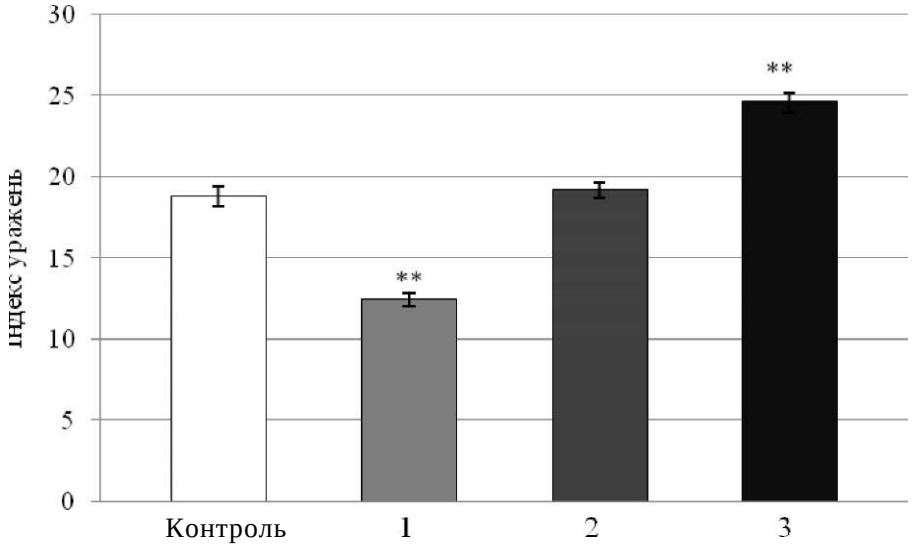

*Рис. 1. Зміни індексу уражень слизової оболонки шлунка щура, індукованих 80% етанолом, при попередньому введенні в шлунок корвітину. 1 - корвітин, 10 мг/кг; 2 - корвітин, 20 мг/кг; 3 - корвітин, 40 мг/кг. Кожен стовпчик представляєМ±8ЕМвід n = 6, рівень значущості ** - p < 0,01 порівняно з контролем (80% етанол).*

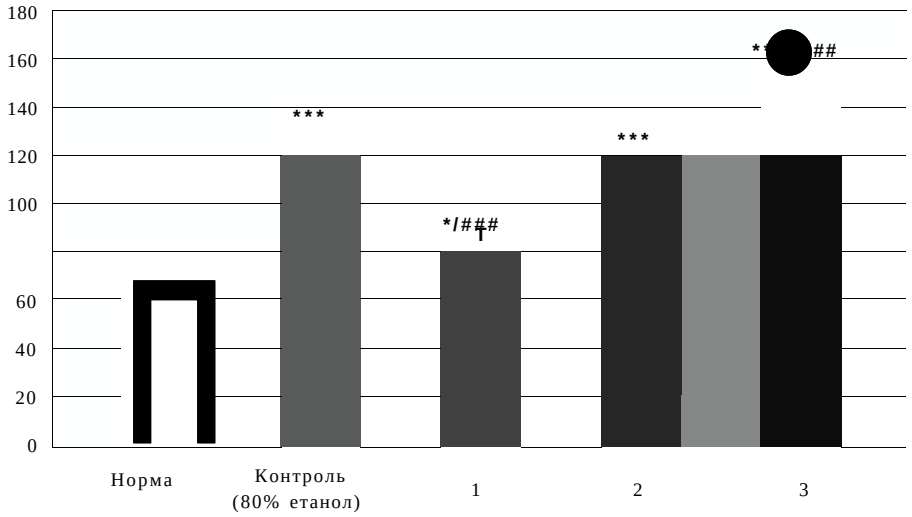

*Рис. 2. Вплив 80% етанолу на концентрацію малондіальдегіду в тканині слизової оболонки шлунка при попередньому введенні корвітину. 1 — корвітин, 10 мг/кг + 80% етанол; 2 — корвітин, 20 мг/кг + 80% етанол; 3 — корвітин, 40 мг/кг+80% етанол. * — p<0,05; *** — p<0,001 порівняно з нормою; ###- p<0,001 порівняно з контролем (80% етанол).*

зростання концентрації МДА *ом 20*,7%відрівня контрольних величин (рис.2).

Згідно даних літератури, уведення в шлунок щура абсолютного етанолу збільшур рівеньМДА ввдІОО до 300% [14, 19]. Ми викоуисаовували80% етанол, 0скількиі0бс01 лютний викликає сильне геморагічне і некротичне ураження СОШ, що ускладнює підрахунок виразок та ерозій на її поверхні. Сполуки, що зменшують ПОЛ, мають антиоксидантний потенціал. Зменшення показника ПОЛ корвітином в дозі 10 мг/кг свідчить про його антиоксидантну активність. Проте, після введення препарату в дозі 20 мг/кг концентрація МДА в СОШ була на рівні показника контролю. Збільшення дози до 40 мг/кг корвітину навіть викликалозворотній ефект-достовірне зростання даного показника відносно тоасого коьтуодьноїгрупи, що вказує на прооксидантну спрямованість дії вказаної більшої дози корьітину в даьомд конкретному випадку.Длятого, щоб виявити механізми, на ямдх іфунтується така дія препарату, ми дослідили перебіг секреторних процесів у шлунку та стан кровотоку в СОШ під впливом введення корвітину в тих самих дозах. Нами було визначено, що у щурів контрольної групи об'єм шлункового соку дорівнював 3,7+0,16 мл. Після введення корвітину в дозах 10, 20 та 40 мг/кг цей показник збільшився до 4,5+0,15 (p<0,01), 5,15+0,2 (p<0,001) та 8,1+0,3 мл (p<0,001) відповідно. У порівнянні з контролем дозозалежно зростала і загальна

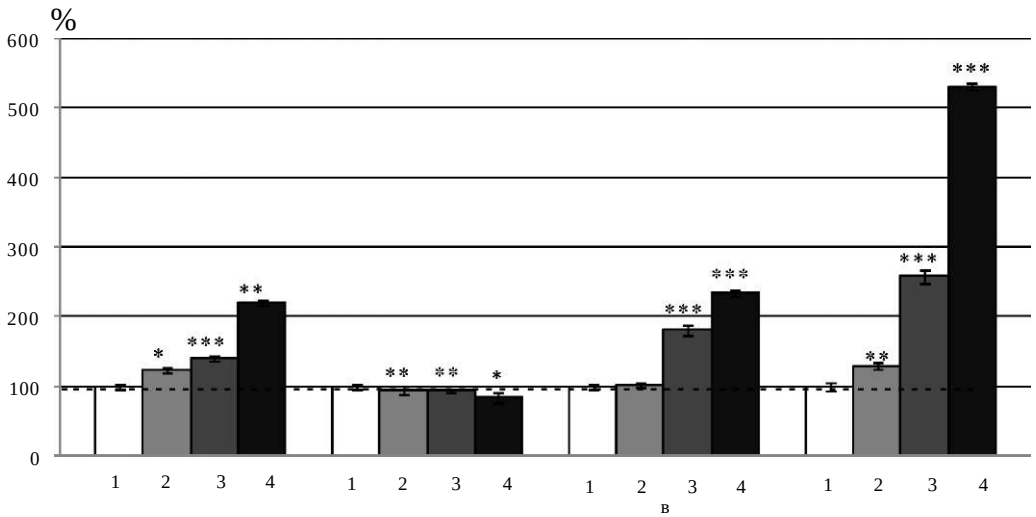

*Рис. 3. Зміни показників шлункової секреції у щурів з перев'язаним пілорусом після внутрішньошлункового введення корвітину: об'єм шлункового соку (а), pH шлункового соку (б), концентрація хлористоводневої кислоти (в), загальна продукція хлористоводневої кислоти (г); 1 — контроль (фізіологічний розчин), 2 — корвітин 10 мг/кг, 3 — корвітин 20 мг/кг, 4 — корвітин 40 мг/кг. За 100% прийняті значення в інтактній групі тварин (контроль). Рівеньзначущості * -p<0,05, **-£>< 0,01, *** — p<0,001 порівняно зі.*

продукція ХК: з 47,7+2,97 в контролі до 61,7+2,9 (p<0,01), 123,2+11,3 (p<0,001), та 253,2+12,2 мкмоль/год (p<0,001) відповідно вищевказаним дозам препарату. Концентрація ХК дозозалежно зростала від контрольного рівня, що дорівнював 12,9+1,7 мкмоль/мл, лише після введення щурам корвітину в кількості 20 і 40 мг/кг - до 23,9+3,2 мкмоль/мл (p<0,001) і 31,3+3,4 мкмоль/мл (p<0,001) відповідно, тоді як у дозі 10 мг/кг корвітин на даний показник не впливав. Значення pH в експериментальних групах тварин відносно таких групи контролю навпаки, зменшувалося з 2,78+0,03 до 2,65+0,03 (p<0,01), 2,59+0,05 (p< 0,01) та 2,33+0,03 (p<0,001) відповідно (рис. 3).

На рис. 4 наведено результати впливу корвітину, що вводився в шлунок щура в дозах 10, 20 та 40 мг/кг, на загальну продукцію білка, гексозамінів та вільного цистеїну. Як видно з рисунка, продукція білка дозозалежно зростала після введення корвітину в дозі 10 і 20 мг/кг, тоді як 40 мг/кг корвітину викликало протилежну реакцію - зменшення кількості протеїнів у шлунку до величини, що була нижчою за контрольну. Корвітин у дозі 10 мг/кг посилював, порівняно з контрольною групою, загальну продукцію глюкозаміну та цистеїну: глюкозаміну з 1,6+0,07 мкмоль/год до 2,38+0,02 мкмоль/год (p<0,01), цистеїну - з 0,16+0,01 мкмоль/год до 0,22+0,02 мкмоль/год (p<0,05). У відповідь на 20 і 40 мг/кг корвітину продукція як цистеїну, так і гексозамінів залишалася на рівні показників контрольної групи тварин.

Кров, що циркулює в мікросудинах СОШ, транспортує до клітин кисень і нутрієнти та видаляє токсичні метаболіти. Вся СОШ пронизана густою капілярною сіткою, особливо поблизу шлункових залоз та поверхневих клітин, що продукують слиз [22]. Від стану кровотоку залежить її нормальне функціонування, тому зрозуміло, що фактори, які можуть змінювати цей кровотік, будуть опосередковано впливати на всю слизову, визначаючи її резистентність.

У наших дослідженнях порівняння об'ємної швидкості кровотоку в СОШ до і після введення корвітину показало наступне: в дозі 10 мг/кг корвітин викликав збільшення даного показника з 47,8+2,7 до 77,75+6,26 мл/хв*100 г тканини (p<0,01), при дозі препарату 20 мг/кг вірогідних відмінностей не спостерігали: 41,9+3,4 проти 36,8+2,7 мл/хв*100 г тканини, проте коли препарат уводили у шлунок в дозі 40 мг/кг, об'ємна швидкість кровотоку в СОШ зменшувалася з 68,0+6,3 до 26,9+0,5 мл/хв*100 г тканини (p<0,001) (рис. 5).

Отже, корвітин застосований у дозі 10 мг/кг виступає як антиоксидант. Слід наголосити на тому, що цистеїн у відношенні до СОШ проявляє протекторні властивості при дії на неї різних шкідливих факторів [33]. Результати наших попередніх досліджень свідчать, що цистеїн та гексозаміни є важливими елементами в гастропротекторному механізмі корвітину, застосованого у дозах 2,5 та 5,0 мг/кг, від дії етанолу [7]. Клітини шлунка продукують декілька ендогенних антиоксидантів, серед яких - глютатіон, попередником якого є цистеїн. Глютатіон підтримує у клітині редокс-потенціал у рівноважному стані [9]. Разом з простагландинами і поліамінами, він є ендогенним протектором навіть при його мінімальній присутності в СОШ [40]. Ендогенні SH-групи беруть участь у формуванні дисульфідних містків у сполуках, що входять до складу пристінкового слизу. Коли ці зв'язки порушуються, слиз втрачає в'язкість, стає більш розчинним, що зумовлює підвищення чутливості СОШ до дії уражуючих факторів, як ендогенного, так і екзогенного походження [11].

Шлунковий слизовий бар'єр - це перша лінія захисту СОШ, яка зменшує механічний вплив на шлунковий

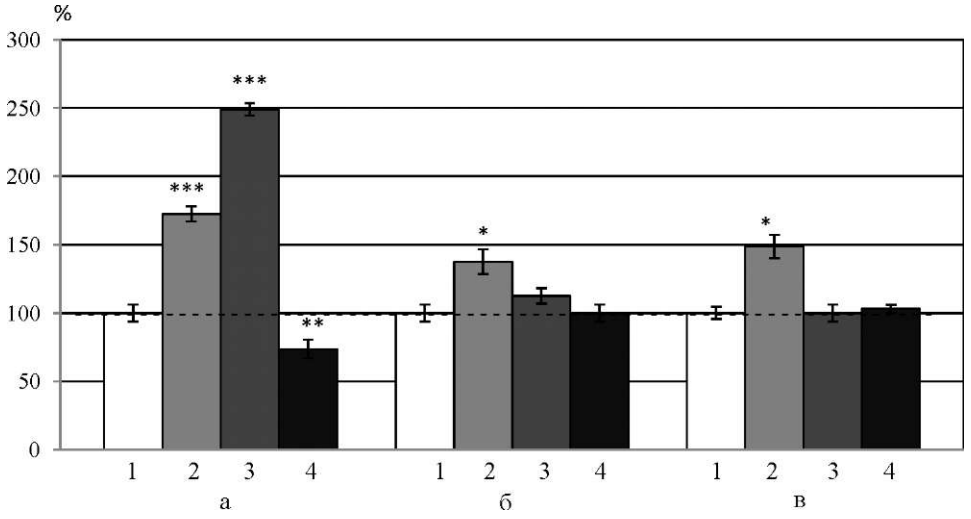

*Рис. 4. Вплив корвітину на продукцію загального білка (а), гексозамінів (у розрахунку на глюкозамін) (б) та вільного цистеїну (в) в шлунку щура з перев'язаним пілорусом: 1 - інтактна група тварин (контроль, фізіологічнийрозчин); 2-корвітин,10мг/кг; 3-корвітин, 20мг/кг; 4 -корвітин, 4 0мг/кг. Рівень значущості * - p<0,05; ** - p<0,01; *** - p<0,001 - порівняно з 1.*

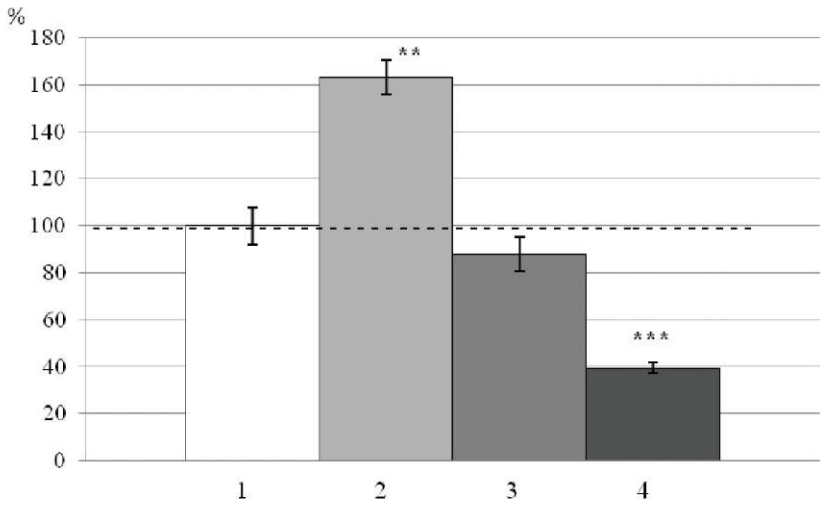

*Рис. 5. Зміни кровотоку в слизовій оболонці шлунку щурів після внутрішньошлункового введення корвітину (у відсотках): 1 — об'ємна швидкість кровотоку в СОШ до введення корвітину; 2 — корвітин, 10 мг/кг; 3- корвітин, 20 мг/кг;4- корвітин, 40мг/кг. ** —p<0,01, *** -p<0,001 порівнянозі.*

епітелій різних агресивнихфакторів [15] та згшобігає зворотній дифузіїH^+-іонів [іа]. Захисна дія гексозамінів у шлунку визначається тим, що вони, будучи важливими компонентами шлунковягя слизу, здатні вимивати вільні радикали, нормалізувати біосинтез білка, активність пепсину та кислотність шлункового соку. В експерименті вони навіть абсорбували травні ферменти [26, 29, 34]. Виходячи зі сказаного вище, зменшення у шлунку кількості слизу та сірковмісних сполук тягне за собою не лише підвищення вразливості СОШ до дії шкідливих агентів, але й порушення процесу травлення.

Модель перев'язування пілоруса дозволяє визначити на якому рівні - локальному чи системному експериментальні субстанції впливають на функціонування шлунка. Результати даної роботи свідчать, що при введенні корвітину в шлунок він впливає на місцеві секреторні процеси у першу чергу через локальну дію. У попередній роботі, де ми застосовували корвітин у дозах 2,5 і 5 мг/кг, у шлунку спостерігалося збільшення продукції слизу і не змінювалася секреція ХК. Частково це пояснює той факт, що шлунковий слиз може нейтралізувати секретовані парієтальними клітинами Н+-іони. У даній роботі зі збільшенням дози корвітину ми спостерігали зменшення продукції слизу і вільного цистеїну, одночасно зі зростанням індексу ураження слизової шлунка на тлі ослаблення кровотоку в СОШ. Оскільки кровотік у СОШ ми вимірювали протягом 1 год після введення корвітину, як і дію етанолу, а метод дослідження шлункової секреції вимагає 4-годинного відрізку часу, то ключовим фактором таких змін, як посилення процесів ПОЛ і збільшення ІУ слід все ж таки, вірогідно, вважати послаблення кровотоку. Погіршення кровопостачання слизової зазвичай посилює чутливість СОШ до дії шкідливих факторів, етанолу в тому числі [21], оскільки тягне за собою порушення синтезу важливих ендогенних факторів захисту. До таких факторів відносять N0 і простагландини, так як вони сщжяютьпосиленню кровотоку, збільшують продукцію слизуі бікарбонатів,гальмують проду юцію ХК тя см еншують об'єм шлункового соку [28, 38]. Причина зменшення кровотоку при дії великих доз корвітину нез'ясована, оскільки в попердніх дослідженнях ми спостерігали, що в малих кількостях корвітин значно покращував кровотік у СОШ (майже вдвічі збільшував об»ємну швидкість кровотоку) [1]. Можна припустити, що послаблення кровотоку в СОШ може відбутися внаслідок того, що в шлунку були активовані ендотелінові рецептори типу ЕТ1. Крім цього, ІП vitro було доведено, що великі дозі кверцетину (220 мкМ) пригнічують активність ендотелійної NO-синтази [17], а отже і продукцію NO. Але чи буде кверцетин діяти так само ІП vivo, невідомо. Для з'ясування більш глибоких механізмів необхідне проведення спеціальних досліджень із застосуванням певних блокаторів та регуляторів окремих фізіологічних процесів.

Висновки

Розчинна форма кверцетину - корвітин при введенні його в шлунок щура в дозі 10 мг/кг посилює кровотік у СОШ щура, зменшує ПОЛ та індекс ураження СОШ, зумовлені введенням 80% етанолу, збільшує продукцію вільного цистеїну та гексозамінів у порожнину шлунка.

Корвітин, уведений в шлунок щура в дозі 10 мг/кг, зменшує, проте не приводить показники ПОЛ до норми.

Застосування корвітину в дозах 20 та 40 мг/кг не сприяє захисту СОШ від уражуючої дії 80% етанолу.

Препарат корвітин, застосований в дозах 10, 20 і 40 мг/кг, дозозалежно збільшує об'єм шлункового соку та дебіт хлористоводневої кислоти в шлунку щура з перев'язаним пілорусом.

Концентрація хлористоводневої кислоти зростає у відповідь на введення в шлунок 20 і 40 мг/кг корвітину.

Література

1. Вовкун Т. В. Вплив корвітину на секреторні процеси та кровотік у слизовій оболонці шлунка щура / Т. В. Вовкун, П. І. Янчук, Л. Я. Штанова, С. П. Весельський, В. А. Барановський // Фізіол. журн. — 2013. — Т. 59, Ж1. - С. 40-47.

2. Макарчук М. Ю. Порівняльна характеристика гастропротекторної, антисекреторної і антиоксидантної дії кверцетину, омепразолу та ранітидину / М. Ю. Макарчук, Т. П. Гарник., Н. Ю. Таран, С. П. Весельський, Л. Я. Штанова, Т. М. Говоруха, А. М. Косян, Т. В. Вовкун, В. М. Бабан // 2010. — Фітотерапія. Часопис — Ж 4. — С. 8-15.

3. Коробейникова Э. М. Определение содержания свободных аминокислот в сыворотке крови и моче здоровых детей /Э. М. Коробейникова, Т. В. Мещеринова // Лаб. дело. - 1981. - Ж 4. - С. 221-224.

4. Кочетков Г. А. Практическое руководство по энзимологии / Г. А. Кочетков. — М.: Высшая школа, 1980. — 272 с.

5. Мойбенко А. А. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / под ред. А. А. Мойбенко, В. Е. Досенко, А. Н. Пархоменко. — Киев: Наук. Думка, 2008. — 520 с.

6. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили / В кн. «Современные методы в биохимии». — М: Медицина. — 1977. — С. 66-68.

7. Штанова Л. Я. Гастропротекторна дія корвітину проти ушкоджень слизової оболонки шлунка щура, індукованих 80% етанолом / Л. Я. Штанова, Т. М. Говоруха, Т. В. Вовкун та ін. // Фітотерапія. Часопис. - 2012. - Ж 4. - С. 17-23.

8. Янчук П. И. Модифицированный электрод для регистрации локального кровотока в слизистой оболочке желудка методом водородного клиренса /П. И. Янчук, Т. П. Палатный, Я. И. Русинчук //Рос. Физиол. Журнал. - 2005. - Т. 91, Ж 9. - С. 1108-1110.

9. Alcher R. G. Biosynthesis and antioxidant function on glutathione in plants / R. G. Alcher // Physiologia plantarum. — 1989. — Vol. 77. — P. 457-464.

10. Alqasoumi, S. Rocket "Eruca sativa": A salad herb with potential gastric anti-ulcer activity / S. Alqasoumi, M. Al-Sohaibani, T. Al-Howiriny, M. Al-Yahya, S. Rafatullah // World J. Gastroenterol. - 2009. - Vol. 15. - P. 1958-1965.

11. Avila J. R. Role of endogenous sulphydryls and neutrophil infiltration in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by piroxicam in rats / J. R. Avila, C. Alarc'on De La Lastra, M. J. Mart'in et al. // Inflammation Research. - 1996. - Vol. 45, Ж 2. - P. 83-88.

12. Bafna P. A. Anti-ulcer and antioxidant activity of DHC-1, a herbal formulation / P. A. Bafna, R. Balaraman // Journal of Ethnopharmacology. - 2004. - Vol. 90, Ж 1. - P. 123-127.

13. Banerjee N. Downregulation of COX-2 and iNOS by amentoflavone and quercetin in A549 human lung adenocarcinoma cell line / N. Banerjee, A. Van der Vliet A, V. A. Ziboh // Prostagland. Leukotr. Essent. Fatty Acids. - 2002. - Vol. 66, Suppl. 5. - P. 485-92.

14. Batran R. A. In vivo antioxidant and antiulcer activity of Parkia speciosa ethanolic leaf extract against ethanol-induced gastric ulcer in rats / R. A. Batran, F. A. Bayaty, M. M. Obaidi, A. M. Abdualkader, H. A. Hadi, H. M. Ali, M. A. Abdulla //PLoS ONE. - 2013. - Vol. 8, Ж 5. - P. e64751doi:10.1371/journal.pone.0064751.

15. Belley A. Intestinal mucins in colonization and host defense against pathogens / A. Belley, K. Keller, M. Goettke, K. Chadee // The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. — 1999. — Vol. 60, Ж 4. — P. 10-15.

16. Biswas K. A Novel Antioxidant and Antiapoptotic Role of Omeprazole to Block Gastric Ulcer through Scavenging of Hydroxyl Radical /K. Biswas, U. Bandyopadhyay, S. Chattopadhyay // The journal of biological chemistri. - 2003. - Vol. 278, Ж 13. - P. 10993-11001.

17. ^iesi M. Inhibition of constitutive endothelial NO-synthase activity by tannin and quercetin / M. Chiesi, R. Shwaller // Biochem Pharm. — 1995. - Vol. 49, Ж 4. - P. 495-501.

18. Gliszczynska-Swiglo A. The role of quinone reductase (NQO1) and quinone chemistry in quercetin cytotoxicity / A. Gliszczynska-Swiglo, L. de Haan, B. Tyrakowska, J. M. Aarts, I. M. Rietjens // Toxicol. In Vitro. - 2003. - Vol. 17. - P. 423-431.

19. Ismail I. F. Gastroprotective Activity of Polygonum chinense Aqueous Leaf Extract on Ethanol-Induced Hemorrhagic Mucosal Lesions in Rats /1. F. Ismail, Sh. Golbabapour, P. Hassandarvish et al. // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. - 2012, Article ID 404012, 9 pages.doi:10.1155/2012/404012.

20. Knekt P. Flavonoid intake and risk of chronic diseases / P. Knekt, J. Kumpulainen, R. Jarvinen et al. //Am. J. Clin. Nutr. - 2002. - Vol. 76. - P. 560-568.

21. Kwiechen S. Interaction between selective cyclooxygenase inhibitors and capsaicin-sensitive afferent sensory nerves in pathogenesis of stress-induced gastric lesions. Role of oxidative stress / S. Kwiechen, P. S. Konturek, Z. Sliwowsky et al. // J. Physiol. Pharmacol. - 2012. - Vol. 63, № 2. - P. 143-51.

22. Laine L. Gastric mucosal defence and cytoprotection: bench to bedside / L. Laine, K. Takeuchi, A. Tarnawsky // Gastroenterology. - 2008. - Vol. 135, № 1. - P. 41-60.

23. Maroziene A. Correlation between mammalian cell cytotoxicity of flavonoids and the redox potential of phenoxyl radical/phenol couple / A. Maroziene, A. Nemeikaite-Ceniene, R. Vidziunaite, N. Cenas // Acta Biochim. Pol. - 2012. - Vol. 59, № 2. - P. 299-305.

24. Martin M. J. Anti-oxidant mechanisms involved in gastroprotective effects of quercetin / M.J. Martin, C. La Casa, C. Alarcon-de-la-Lastra, J. Cabeza et al. // Z. Naturforforsch. - 1998. - Vol. 53, № 12. - P. 82-88.

25. Meng B. Quercetin reduces serum homocysteine level in rats fed a methionine-enriched diet / B. Meng, W. Gao, J. Wei, J. Yang, J. Wu et al. // Nutrition. - 2013. - Vol. 29, № 4. - P. 661-666.

26. Mogy M., Kitajima M., Kiuchi T., Kawakami H., Hirano H. Alteration of the gastric mucosal glycoprotein in stress / M. Mogy, M. Kitajima, T. Kiuchi, H. Kawakami, H. Hirano // Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi. - 1990. - Vol. 87, № 5. - P. 1131-1138.

27. Morimoto Y. Effects of the new anti-ulcer agent KB-5492 on experimental gastric mucosal lesions and gastric mucosal defensive factors, as compared to those of teprenone and cimetidine / Y. Morimoto, K. Shimohara, S. Oshima// Jpn. J. Pharmacol. - 1991. - Vol. 57. -P.495-505.

28. Petersson J. Dietary nitrate increases gastric mucosal blood flow and mucosal defense / J. Petersson, M. Phillipson, E. A. Jansson et al. //Amer. J. Physiol. - 2007. - Vol. 292, № 3. - P. G718-G724.

29. Qader S. W. Pharmacological mechanisms underlying gastroprotective activities of the fractions obtained from Polygonum minus in Sprague Dawley rats / S. W. Qader, M. A. Ameen, S. C. Lee, H. S. Mohd // International Journal of Molecular Scientes. - 2012. - Vol. 13. - P. 1481-1496.

30. Ranavat P. A new perspective on the quercetin paradox in male reproductive dysfunction / P. Ranavat, C. M. Pathak, K. L. Khanduja // Phytother. Res. - 2013. - Vol. 27, № 6. - P. 802-10.

31. Repetto M. G. Antioxidant properties of natural compounds used in popular medicine for gastric ulcers /M. G. Repetto, S. F. Llesuy // Brazil. J. Med. Biol. Res. - 2002. - Vol. 35, № 5. - P. 523-534.

32. Robaszkiewicz A. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells / A. Robaszkiewicz, A. Balcerczvk, G. Bartosz // Cell Biol. Int. - 2007. - Vol. 31, № 10. - P. 1245-50.

33. Salim A. S. Gastric mucosal cytoprotection in the rat by cysteine / A. S. Salim // J. Pharm. Pharmacol. - 1987. - Vol. 39, № 7. - P. 553-5.

34. Santhosh S. Protective effect of glucosamine against ibuprofen-induced peptic ulcer in rats / S. Santhosh, R. Anandan, T. K. Sini, P. T. Mathew // J. Gastroenterol. Hepatol. - 2007. - Vol. 22, № 6. - P. 949-53.

35. Shay H. A quantitative method for measuring spontaneous gastric secretion in the rat / H. Shay, D. C. Sun, M. Gruenstein // Gastroenterology. - 1954. - Vol. 26. - P. 906-913.

36. Siegmund S. S. Animal models in gastrointestinal alcohol research - a short appraisal of the different models and their results / S. Siegmund, S. Haas, A. Schneider, M. V. Singer // Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Gastroenterology. - 2003. - Vol. 17, № 4. - P. 519-542.

37. Stocklet J. C. Vascular protection by dietary polyphenols / J. C. Stocklet, T. Chataigneau, M. Ndiave, M. H. Oak, J. E. Bedoui, M. Chataigneau, V. B. Schtni-Kerth //Eur. J. Pharmacol. - 2004. - Vol. 500, № 1. - P. 299-313.

38. Suleiman H. Different mechanisms in formation and prevention of indomethacin-induced gastric ulcers / H. Suleiman, A. Albayrak, M. Bilici,

E. Cadirci, Z. Halici //Inflammation.- 2010. - Vol. 33, № 4. - P. 224-34.

39. Sumbul S. Role of phenolic compounds in peptic ulcer: An overview / S. Sumbul, M. A. Ahmad, A. Mohd // J. Pharm. Bioallied Sci. - 2011. - № 3. - P. 361-7.

40. Szabo S. Glutathione, protein sulfhydryls and cysteine proteases in gastric mucosal injury and protection / S. Szabo, L. Nagy, M. Plebani // Clin. Chim. Acta. - 1992. - Vol. 206, № 1. - P. 95-105.

41. Szelenyi I. Distention ulcer as a model for testing of drugs for ulcerogenic side effects /1. Szelenyi, K. Thiemer // Arch. Toxicol. - 1978. - Vol. 41. - P. 99-105.

42. Ullah M. F. Food as medicine: potential therapeutic tendencies of plant derived polyphenolic compounds / M. F. Ullah, M. W. Khan // Asian Pac. J. Cancer Prev. - 2008.-№ 9. - P. 187-195.

43. Venskutonis P. R. A preliminary assessment of singlet oxygen scavenging, cytotoxic and genotoxic properties of Geranium macrorrhizum extracts /P. R. Venskutonis, V. Dedonyte, J. Lazutka, G. Slapsyte et al. //Acta Biochim. Pol. - 2010. - Vol. 57, № 2. - P. 157-163.

44. Vizcanio P.-V. Andriantsitohaina R. Flavonols and cardiovascular disease /P.-V. Vizcanio, J. Duarte //Mol. Asp. Med. - 2010. - Vol. 31, № 6. - P. 478-494.

Надійшла до редакції 12.07.2013

УДК 612.323:612.351.5

Л. Я. Штанова, Т. М. Говоруха, Т. В. Вовкун, В. А. Барановський, В. М. Бабан, С. П. Весельський, П. І. Янчук, К. В. Гарник

ЕФЕКТИ КОРВІТИНУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКА ЩУРА, УРАЖЕНУ 80% ЕТАНОЛОМ, ЗА РІЗНИХ ДОЗ ПРЕПАРАТУ

Ключові слова: шлунок, корвітин, перекисне окиснення ліпідів, шлункова секреція, хлористоводнева кислота, загальний білок, гексозаміни, цистеїн, шлунковий кровотік.

У роботі досліджувалися ефекти різних доз корвітину (10, 20 і 40 мг/кг) на гострі ушкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) щура, викликані 80% етанолом. Згідно одержаних даних, корвітин зменшував індекс ураження СОШ і рівень перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в її тканині лише при введенні в шлунок у дозі 10 мг/кг. У більш високих дозах флаваноїд або не проявляв захисної дії, або навіть посилював ушкоджуючу дію етанолу. Дослідження біохімічних параметрів шлункового соку показало, що корвітин, паралельно зі збільшенням об'єму шлункового соку, провокував ріст загальної продукції хлористоводневої кислоти (XR). Продукція загального білка збільшувалась корвітином в дозах 10 і 20 мг/кг, проте зменшувалась до рівня нижче вихідного у відповідь на дозу 40 мг/кг препарату. Концентрація XR зростала лише при дозі препарату 20 і 40 мг/кг. Продукція гексозамінів і цистеїну виросла після введення 10 мг/кг корвітину, а при більш високих концентраціях препарату не змінювалась.

Л. Я. Штанова, Т. Н. Говоруха, Т. В. Вовкун, В. А. Барановский, В. Н. Бабан, С. П. Весельский, П. И. Янчук, К. В. Гарник

ЭФФЕКТЫ КОРВИТИНА НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ ЖЕЛУДКА КРЫСЫ, ПОРАЖЕННУЮ 80% ЭТАНОЛОМ, ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗАХ ПРЕПАРАТА

Ключевые слова: желудок, корвитин, перекисное окисление липидов, желудочная секреция, хлористоводородная кислота, белок, гексозамины, цистеин, кровоток.

В работе исследовались эффекты различных доз корвитина (10, 20 и 40 мг/кг) на острые повреждения слизистой оболочки желудка (СОЖ) крысы, вызванные введением в ее желудок 80% этанола. Согласно полученным результатам, корвитин уменьшал индекс поражения СОЖ и уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) в ее ткани лишь при введении его в желудок в дозе 10 мг/кг. В более высоких дозах препарат либо не оказывал защитного действия, либо даже усугублял повреждающее действие этанола. Исследование биохимических параметров желудочного сока показало, что данный флавоноид, параллельно с увеличением объема желудочного сока, провоцировал рост общей продукции хлористоводородной кислоты (ХК). Продукция общего белка увеличивалась корвитином в дозах 10 и 20 мг/кг, но уменьшалась до уровня ниже исходного в ответ на дозу 40 мг/кг препарата. Концентрация ХК возрастала только при дозе препарата 20 и 40 мг/кг. Продукция гексозаминов и цистеина выросла после введения 10 мг/кг корвитина, а при более высоких дозах препарата не изменялась.

L. Y. Shtanova, T. N. Govorukha, T. V. Vovkun, V. A. Baranovskyy, V. N. Baban, S. P. Veselskyy, P. I. Yanchuk, K. V. Garnyk

EFFECTS OF CORVITIN ON THE GASTRIC MUCOSA OF RAT AFFECTED BY 80% ETHANOL AT DIFFERENT DOSES OF DRUG

Key words: stomach, corvitin, lipid peroxidation, gastric secretion, hydrochloric acid, protein, hexosamines, cysteine, the blood flow.

In the study the effects of various doses of corvitin (10, 20 and 40 mg/kg) on acute damage of the rat's gastric mucosa (GM) induced by topical application of 80% ethanol were investigated. According to the obtained results, corvitin reduced the lesion index and the level of lipid peroxidation (LP) in GM only at dose of 10 mg/kg. At higher doses, the drug either not protected or even aggravated the damaging effects of ethanol. Study of biochemical parameters of gastric juice showed that this flavonoid at all above mentioned doses increased the volume of gastric juice, as well as the rate of total output of hydrochloric acid (HA). Total protein production increased with corvitin doses 10 and 20 mg/kg, but decreased below the initial level in response to 40 mg/kg. Concentration of HA increased only at doses of flavonoid 20 and 40 mg/kg. Hexosamines and cysteine output increased by injection of 10 mg/kg corvitin, while higher doses of flavonoid did not alter these parameters.

a