

УДК 616.33 – 002:615.015: 542.943:612.398 (076.5)

©Н.Г. Черноіван, Г.І. Степанюк, І.Ф. Беленічев, Н.В. Бухтіярова, С.В. Павлов
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
Запорізький державний медичний університет

ВПЛИВ ГАСТРОПРОТЕКТОРНИХ ЗАСОБІВ НА ОКИСНЮВАЛЬНУ МОДИФІКАЦІЮ БІЛКІВ ПРИ ІНІЦІЮВАННІ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В ДОСЛІДАХ IN VITRO

ВПЛИВ ГАСТРОПРОТЕКТОРНИХ ЗАСОБІВ НА ОКИСНЮВАЛЬНУ МОДИФІКАЦІЮ БІЛКІВ ПРИ ІНІЦІЮВАННІ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ В ДОСЛІДАХ IN VITRO – Досліджено антиоксидантну активність гастропротекторних препаратів завдяки їх впливу на окиснювальну модифікацію білків в умовах моделювання *in vitro* оксидативного стресу в гомогенатах слизово оболонки шлунка щурів. Встановлено, що вказана активність найбільшою мірою притаманна кверцетину, вінборону та тіотриазоліну, які краще за інші препарати пригнічували утворення маркерів окиснювальної деструкції білків у модельних системах. Найнижчу антиоксидантну активність виявлено в омепразолу та фамотидину. Проміжне місце посіли ксантинолу нікотинат, бензофуракаїн та де-нол.

ВЛИЯНИЕ ГАСТРОПРОТЕКТОРНЫХ СРЕДСТВ НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ ПРИ ИНИЦИИРОВАНИИ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ОПЫТАХ IN VITRO – Исследовано антиоксидантную активность у гастропротекторных препаратов по их влиянию на окислительную модификацию белков в условиях *in vitro* оксидативного стресса в гомогенатах слизистой оболочки желудка крыс. Установлено, что указанная активность в наибольшей мере присуща кверцетину, винборону и тиотриазолину, которые лучше других препаратов угнетали образование маркеров окислительной модификации в модельных системах. Самую низкую антиоксидантную активность выявлено у омепразола и фамотидина. Промежуточное место занимают ксантинолу никотинат, бензофуракаин и де-нол.

INFLUENCE OF GASTROPROTECTIVE MEDICINE ON THE OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN THE INITIATION OF FREE RADICAL OXIDATION IN EXPERIMENTS IN VITRO – It has been investigated antioxidant activity of a gastroprotective drugs for their effect on the oxidative modification of proteins *in vitro* in a model of oxidative stress in homogenates of gastric mucosa of rats. It has been established that this activity is the most characteristic for quercetine, vinborone and thiotiazoline, which better than another drugs inhibits the formation of markers of proteins oxidative modification in model systems. The lowest antioxidant activity has been detected in omeprazole and famotidine. Intermediate place have ksantinoole nicotinate, benzofurokain and de-nol.

Ключові слова: окиснювальна модифікація білків, кверцетин, вінборон, тіотриазолін.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, кверцетин, винборон, тиотриазолин.

Key words: oxidative modification of proteins, quercetine, vinborone, thiotiazoline.

ВСТУП Відомо, що в патогенезі більшості захворювань велику роль відіграє не лише активація ПОЛ, але й перекисне окиснення білків, або окиснювальна модифікація білків (ОМБ). Вважається, що у стані окиснювального стресу, атаці активних молекул кисню підпадають, в першу чергу, білки плазматичних мембран, а не ліпіди. Тому окиснювальна деструкція білків є одним із ранніх індикаторів пошкодження тканин, що зумовлює вивчення продуктів ОМБ при різних патологічних станах організму [3, 11].

На думку багатьох дослідників [2, 4], одним із ключових механізмів дії багатьох антиоксидантів є їх спро-

можність гальмувати, в першу чергу, процеси ОМБ. Саме це стало підставою для проведення даного дослідження для з'ясування питання, яким чином різняться сучасні гастропротекторні засоби за їх впливом на ОМБ. Тобто, які лікувальні засоби найбільшою мірою здатні профілактувати виникнення, або послаблювати прояви деструкції білків при ерозивно-виразкових пошкодженнях слизово оболонки шлунково-кишкового тракту (СО ШКТ).

Для дослідження взято препарати, які сьогодні найчастіше використовують в якості гастропротекторів – омепразол, фамотидин, де-нол, кверцетин, ксантинолу нікотинат, а також нові лікарські засоби (вінборон, тіотриазолін, бензофуракаїн), яким також притаманна захисна дія на СО ШКТ. Вказані лікарські засоби спроможні пригнічувати процеси ліпопероксидації. Про їх вплив на ОМБ даних в літературі немає.

Мета дослідження: охарактеризувати ступінь антиоксидантного ефекту вказаних гастропротекторів за їх впливом на ОМБ при ініціюванні вільнорадикального окиснення *in vitro*.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Окиснювальну модифікацію білків *in vitro* проводили у гомогенаті слизово оболонки шлунка (СОШ) щурів лінії Вістар, за методом, описаним В. Halliwell [14]. Цей метод ґрунтується на реакції взаємодії окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів. При цьому у гомогенаті СОШ визначали рівень (у. о. на 1 г білка) ранніх – альдегідфенілгідразонів (АФГ) та пізніх – кетонфенілгідразонів (КФГ) маркерів ОМБ [11].

Антиоксидантну активність препаратів (10⁻⁶ М), що досліджували, оцінювали за ступенем гальмування ОМБ (у %) в умовах оксидативного стресу *in vitro*. Оксидативний стрес ініціювали у гомогенаті СОШ за допомогою реактиву Фентона.

У досліджах використано наступні реагенти: 0,5 М фосфатний буфер; 2,8 % розчин заліза (II) сульфату та 4 % розчин перекису водню (реактив Фентона); 25 % трихлороцтова кислота; 0,9 % розчин натрію хлориду; 2,2 % розчин 2,4-динітрофенілгідразину, приготований на 7 % розчині соляно кислоти; етилацетат; 50 % розчин сечовини.

Цифровий матеріал обробляли методом варіаційно статистики з визначенням t-критерію Стюдента. Зміни показників вважали вірогідними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Із даних, наведених у таблицях 1 та 2, видно, що активація вільнорадикального окиснення в гомогенатах СОШ щурів *in vitro* викликає посилення ОМБ. Це проявляється в контролі вірогідним зростанням вмісту основних маркерів ОМБ: рівень АФГ збільшився у 4,8 раза, а КФГ – у 8,1 раза відносно інтакту.

Введення у гомогенат СОШ досліджуваних гастропротекторів на тлі ініціювання ОМБ викликало різне

Таблиця 1. Вплив досліджуваних препаратів на вміст альдегідфенілгідразонів (АФГ) при моделюванні окиснювально модифікації білків *in vitro* ($M \pm m$, $n=5$)

№ серії дослідів	Препарати	Концентрація АФГ (у.о./ г білка)	Динаміка відносно контролю (%)
1	Інтакт	0,20±0,012	-
2	Контроль	0,96±0,027*	+380
3	Кверцетин	0,58±0,006*1,2, 4-10	-39,6
4	Вінборон	0,62±0,007*1,2,6-10	-35,4
5	Тіотриазолін	0,63±0,007*1-5,7-10	-34,4
6	Ксантинолу нікотинат	0,66±0,007*1-5,7-10	-31,2
7	Бензофурака н	0,73±0,008*1-6	-24,0
8	Де-нол	0,83±0,010*1-7,9	-13,5
9	Омепразол	0,94±0,014*1-8,10	-2,1
10	Фамотидин	0,85±0,011*1-7,9	-11,4

Примітки: тут і в подальшому 1. * – статистично вірогідний результат при $p \leq 0,05$. 2. Цифри біля зірочки позначають номери серій дослідів, з якими проводили порівняння.

Таблиця 2. Вплив досліджуваних препаратів на вміст кетонфенілгідразонів (КФГ) при моделюванні окиснювально модифікації білків *in vitro* ($M \pm m$, $n=5$)

№ серії дослідів	Препарати	Концентрація КФГ (у.о./ г білка)	Динаміка відносно контролю (%)
1	Інтакт	0,092±0,002	-
2	Контроль	0,750±0,007*1	+715
3	Кверцетин	0,400±0,007*1,2,4-10	-46,7
4	Вінборон	0,460±0,010*1-3,6-10	-38,7
5	Ксантинолу нікотинат	0,480±0,007*1-3,7-10	-36,0
6	Тіотриазолін	0,470±0,008*1-4,7-10	-37,3
7	Бензофурака н	0,660±0,012*1-6,10	-12,0
8	Де-нол	0,680±0,011*1-6	-9,3
9	Фамотидин	0,680±0,011*1-6	-9,3
10	Омепразол	0,700±0,011*1-6	-6,7

за величиною зниження вмісту продуктів ОМБ – альдегідфенілгідразонів та кетонфенілгідразонів відносно до контрольного показника. Це вказує на наявність у досліджуваних лікарських засобів антиоксидантно ді. При цьому препарати суттєво різнились за величиною антиоксидантного ефекту.

За спроможністю гальмувати утворення АФТ – раннього маркера ОМБ, досліджувані лікарські засоби можна розташувати у такій послідовності: кверцетин > вінборон > тіотриазолін > ксантинолу нікотинат > де-нол > фамотидин > омепразол. За ступенем гальмівного впливу препаратів на рівень КФГ – пізнього маркера ОМБ, лідерами були: кверцетин, вінборон та тіотриазолін. Замикають цей ряд, як і у попередньому дослідженні, де-нол, фамотидин та омепразол. Проміжне місце в обох дослідженнях посідають ксантинолу-нікотинат та бензофурака н.

Характеризуючи результати проведеного дослідження, можна зазначити, що виявлений нами у кверцетині, вінбороні та тіотриазоліні високий ступінь гальмівно ді на утворення основних маркерів ОМБ, корелює з х достатньо виразною захисною дією на слизову оболонку при виразковій хворобі шлунка та НПЗЗ-гастропатіях як у експериментальних, так і клінічних умовах [1, 9, 12, 13].

Виразна лікувально-профілактична дія кверцетину, вінборону та тіотриазоліну при зазначених патологічних станах, ймовірно, пов'язана з наявністю у них поліфункціональних фармакологічних ефектів (в т.ч і антиоксидантного), які добре співставляються з патогенезом ерозивно- виразкових пошкоджень СО ШКТ.

Спроможність кверцетину, вінборону та тіотриазо-

ліну найбільшою мірою серед досліджуваних препаратів гальмувати ОМБ може бути підставою для використання, в першу чергу, саме цих гастропротекторів у профілактиці та комплексній терапії ерозивно-виразкових пошкоджень СО ШКТ, особливо при НПЗЗ-гастропатіях. Це узгоджується з точкою зору дослідників [1, 7] про доцільність поєднання кверцетину з диклофенаком натрію при лікуванні хворих на остеоартроз, оскільки при цьому разом з виразним послабленням ульцерогенності не стероидного антифлогістика має місце посилення його протизапально ді на тлі вказаного біофлавоно да. Аналогічна картина взаємодії препаратів спостерігалась при поєднанні вінборону з індометацином у хворих на ревматоидний артрит [10].

Низький рівень антиоксидантно активності омепразолу та фамотидину в даному дослідженні може вказувати на те, що х гастропротекторний ефект зумовлений, головним чином, антисекреторними властивостями і меншою мірою, антиоксидантно дією. Найбільший за величиною антиоксидантний ефект кверцетину в заданих умовах експерименту цілком узгоджується з точкою зору дослідників [5] про те, що висока антирадикальна активність цього біофлавоноду зумовлена наявністю у його структурі п'яти гідроксильних радикалів та сполучених подвійних зв'язків, завдяки цьому він переважає в антиоксидантній активності аскорбінолу та сечової кислоти, глутатіону, вітаміну Е та рутину.

Враховуючи те, що гальмівна дія тіотриазоліну на ОМБ в наших дослідженнях співставляється з його високим ступенем антиоксидантного ефекту при ініціюванні ОМБ у гомогенатах тканин головного моз-

ку [6], можна припустити, що механізм захисно ді цього лікарського засобу, як і кверцетину та вінборону на ішемізований мозок [8, 9] певною мірою зумовлений антиоксидантними властивостями цих препаратів.

ВИСНОВКИ Сучасним гастропротекторним засобам притаманний різний за величиною антиоксидантний ефект в умовах моделювання окиснювально модифікації білків.

Антиоксидантна активність найбільшою мірою притаманна кверцетину, вінборону та тіотриазоліну, які краще за інші препарати гальмують в модельних системах утворення маркерів окиснювально деструкції білків альдегідфенілгідрозонів та кетонфенілгідрозонів.

Омепразол та фамотидин проявляють найнижчу антиоксидантну активність в заданих умовах експерименту. При цьому ксантинолу нікотинат, бензофуракан та де-нол посідають проміжне місце.

Оскільки при оксидативному стресі має місце активація вільнорадикального окиснення субстратів, в подальшому доцільно охарактеризувати антирадикальні властивості досліджуваних препаратів в модельних системах.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Загородний М.І. Обґрунтування ефективності комбіновано терапії гастропатій, викликаних диклофенаком натрію у хворих на остеоартроз (експериментально-клінічне дослідження): Автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14.01.02 – внутрішні хвороби / М.І. Загородний. – К., 2003. – 21 с.
2. Косолапов В.А. Антиоксиданты: современное состояние проблемы. Создание на их основе церебропротекторных средств / В.А. Косолапов, А.В. Степанов, А.А. Спасов // Тез. Докл. II съезда Росс. научн. общ. фармакологов. – М., 2003. – Ч. 1 – С. 263.
3. Ласкова И.Л. Окислительный стресс / И.Л. Ласкова, А.И. Конопля, Л.Г. Прокопенко. – Курск: Издание Курского госмедуниверситета, 1998. – 66 с.
4. Мазур И.А. Тиотриазолин – фармакологические аспекты и клиническое применение / И.А. Мазур, Н.А. Волошин, И.С. Чекман [и др.]. – Запорожье, Львов, 2005. – 145 с.
5. Макарова М.Н. Антирадикальная активность флавоноидов и их комбинаций с другими антиоксидантами / М.Н. Макарова, В.Г. Макаров, И.Г. Зенкевич // Фармация. – 2004. – №2. – С. 30-32.
6. Моргунцова С.А. Влияние похідного тіохіназоліну NC-224, тіотриазоліну, N-N-нітро-L-аргініну на вміст продуктів окислювально модифікації білка у головному мозку щурів з експериментальним порушенням мозкового кровообігу / С.А. Моргунцова // Актуальні питання біології, екології та хімії: електронне наукове видання / Запорізький національний університет. – 2009. – № 2. – С. 85-90.
7. Свінціцький А.С. Влияние диклофенаку натрия, кверцетину та х комбинацій на ліпопероксидацію при експериментальному остеоартрозі / А.С. Свінціцький, М.І. Загородний, Н.М. Юрженко // Ліки. – 2003. – № 1-2. – С. 100-103.
8. Слесарчук В.Ю. Антиоксидантна активність препаратів кверцетину реалізує х церебропротекторну дію / В.Ю. Слесарчук, В.Й. Мамчур // Досягнення біології та медицини. – 2007. – № 2. – С. 55-57.
9. Степанюк Г.І. Вінборон – лікарський засіб з політропними фармакологічними ефектами (монографія) / Г.І. Степанюк, О.О. Пентюк, Р.П. Піскун // Вінниця: Континент-Прим, 2007. – 243 с.
10. Степанюк Н.Г. Влияние вінборону на перебіг гастропатій, викликаних індометацином у хворих на ревматоїдний артрит / Н.Г. Степанюк, М.А. Станіславчук, С.В. Шевчук // Експериментальна і клінічна медицина – 2001. – № 4. – С. 48-51.
11. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев, Е.Л. Левицкий [и др.] // Современные проблемы токсикологии. – 2005. – № 3. – С. 20-26.
12. Характеристика гастропротекторно ді корвітину на моделі аспіринової гастропатії / Н.Г. Степанюк, А.В. Томашевський, А.Г. Степанюк, В.С. Коваль // Експериментальна і клінічна медицина. – 2006. – № 1. – С. 70-73.
13. Шевчук О.К. Ефективність тіотриазоліну порівняно з деякими лікарськими препаратами при експериментальній індометациновій гастропатії / О.К. Шевчук, Г.І. Степанюк // Ліки. – 2002. – № 3-4. – С. 72-75.
14. Halliwell B. Free radical in Biology and Medicine / B. Halliwell, M.C. Yutteridze. – Oxford: Clarendon Press, 1999. – 320 p.

Отримано 25.08.10