

УДК 001.68:616.33-002.004.4:615.015:530.132:547.96:616.074

Н.Г. Черноіван

МОДУЛЯЦІЯ ГАСТРОПРОТЕКТОРНИМИ І АНТИСЕКРЕТОРНИМИ ПРЕПАРАТАМИ АНТИОКСИДАНТНОЇ ДІЇ ДИКЛОФЕНАКУ НАТРІЮ НА МОДЕЛІ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ IN VITRO

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Резюме. Встановлено, що кверцетин, вінборон, тіотриазолін і ксантинолу нікотинат (10^{-6} М) ліпше, ніж інші досліджувані гастропротектори, потенціюють антиоксидантну активність диклофенаку в умовах моделювання in vitro оксидативного стресу в гомогенатах слизової оболонки шлунка шурів. Це проявлялося збільшенням показника пригнічення маркерів окиснювальної модифікації білків відносно дії самого диклофе-

нау. Найнижчу ефективність виявлено в бензофуурокаїну, де-нолу, омепразолу і фамотидину, які посилювали антиоксидантну активність нестероїдного антифлогістика тільки на ранніх стадіях окиснювальної деструкції білків.

Ключові слова: окиснювальна модифікація білків, антиоксидантна активність, диклофенак, кверцетин, вінборон, тіотриазолін.

Вступ. Серед сучасних нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ) диклофенак натрій є одним із найбільш уживаних лікарських засобів завдяки поєднанню достатньо виразного протизапального та знеболювального ефектів із помірною ульцерогенністю [1]. Серед різних підходів до послаблення гастротоксичності НПЗЗ, у т. ч. і диклофенаку, привабливе поєднання препаратів цієї групи з антиоксидантами (токоферолу ацетатом, аевітом, кверцетином, вінбороном, тіотриазоліном, селеном та ін.). При цьому досить важливо, що антиоксиданти разом із послабленням ульцерогенності НПЗЗ посилюють їх протизапальну та знеболювальну дію, що вказує на спроможність антиоксидантів модулювати фармакологічні ефекти нестероїдних антифлогістиків [3, 4, 6, 7].

У попередніх дослідженнях нами встановлено, що препарати, які широко використовуються з метою послаблення гастротоксичності НПЗЗ [7, 8], різною мірою гальмують окиснювальну модифікацію білків (ОМБ), яка моделювалася на тлі ініціювання вільнорадикального окиснення в гомогенатах слизової оболонки шлунка (СОШ) шурів. Це свідчило про наявність у сучасних гастропротекторів антиоксидантного ефекту [10]. При цьому найбільшу за величиною активність виявлено у кверцетину, вінборону та тіотриазоліну, які за своєю ефективністю значно перевершували омепразол та фамотидин.

Підґрунтям для проведення цього дослідження слугували такі чинники. Із літератури відомо, що сучасним НПЗЗ також притаманні антиоксидантні властивості, однак, тривале їх уведення в організм супроводжується активацією вільнорадикального окиснення, тобто виникненням окиснювального стресу [4, 5]. Це викликає окиснювальну деструкцію, у першу чергу мембранних білків, що спонукає до вивчення продуктів ОМБ при різних патологічних станах організму, як одного із ранніх індикаторів пошкодження тканин [9].

У зв'язку з цим необхідно з'ясувати питання: в якій мірі сучасні гастропротектори спроможні модулювати антиоксидантну активність диклофенаку за їх впливом на ОМБ, як можливого механізму їх захисної дії при НПЗЗ-гастропатіях.

Для дослідження взято лікарські засоби, які сьогодні найчастіше використовуються в лікуванні та профілактиці НПЗЗ-гастропатій – омепразол, фамотидин, де-нол, кверцетин, ксантинолу нікотинат, а також нові препарати (вінборон, тіотриазолін, бензофуурокаїн), яким також притаманна захисна дія на СОШ.

Мета дослідження. Охарактеризувати вплив зазначених гастропротекторів на величину антиоксидантного ефекту диклофенаку натрію за їх впливом на ОМБ при моделюванні окиснювального стресу в СОШ in vitro.

Матеріал і методи. Окиснювальну модифікацію білків in vitro моделювали в гомогенатах СОШ шурів лінії Вістар за методом, описаним В. Halliwell (1999) [11]. Цей метод ґрунтується на реакції взаємодії окиснених амінокислотних залишків із 2,4-динітрофенілгідразином з утворенням 2,4-динітрофенілгідразонів. При цьому у гомогенаті СОШ визначали рівень (у. о. на 1 г білка) ранніх – альдегідфенілгідразони (АФГ) та пізніх – кетонфенілгідразони (КФГ) маркерів ОМБ (Губский и др., 2005).

Антиоксидантну активність препаратів (10^{-6} М), що досліджувались, оцінювали за ступенем гальмування ОМБ (у %) в умовах окиснювального стресу in vitro. Окиснювальний стрес ініціювали в гомогенаті СОШ за допомогою реактиву Фентона.

У досліджах використано такі 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 соляної кислоти; етилацетат; 50 % розчин сечовини.

Цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента. Зміни показників вважали вірогідними при $p \leq 0,05$. Отримані дані представлені в табл. 1 та 2.

Результати дослідження та їх обговорення. Із даних, наведених у табл. 1 та 2, видно, що активація вільнорадикального окиснення в гомогенатах СОШ шурів in vitro викликає посилення ОМБ. Це проявлялось у контролі вірогідним зростанням вмісту основних маркерів ОМБ: рівень

Таблиця 1

Вплив диклофенаку натрію та його поєднання з гастропротекторними препаратами на вміст альдегідфенілгідразонів (АФГ) при моделюванні окиснювальної модифікації білків in vitro (M±m, n=5)

№ серій дослідів	Умови дослідів	Концентрація АФГ (у.о./г білка)	Динаміка, %
1.	Інтакт	0,20±0,012	-
2.	Контроль	0,96±0,027 ^{*1}	+380 ⁱ
3.	Диклофенак	0,89±0,016 ^{*1,2}	-7,3 ^к
4.	Кверцетин + диклофенак	0,60±0,010 ^{*2,3,6-11}	-37,5 ^к
5.	Вінборон + диклофенак	0,61±0,007 ^{*2,3,8-11}	-36,5 ^к
6.	Тіотриазолін + диклофенак	0,63±0,008 ^{*2,4,7-11}	-34,4 ^к
7.	Ксантинолу нікотинат+диклофенак	0,68±0,010 ^{*2,3,7-11}	-29,2 ^к
8.	Бензофуракаїн + диклофенак	0,70±0,008 ^{*2,6,9-11}	-27,1 ^к
9.	Де-нол + диклофенак	0,80±0,012 ^{*2,8,10,11}	-16,7 ^к
10.	Омепразол + фамотидин	0,81±0,010 ^{*2,8,11}	-15,6 ^к
11.	Фамотидин + диклофенак	0,79±0,010 ^{*2-8}	-17,7 ^к

Примітки. 1) У табл. 1 та 2 зірочкою позначено статистично вірогідні результати при $p \leq 0,05$. Цифри біля зірочки означають номери серій дослідів, з якими проводилося порівняння; 2) ⁱ – динаміка відносно інтакту; 3) ^к – динаміка відносно контролю

Таблиця 2

Вплив диклофенаку натрію та його поєднання з гастропротекторними препаратами на вміст кетонфенілгідразонів (КФГ) при моделюванні окиснювальної модифікації білків in vitro (M±m, n=5)

№ серій дослідів	Умови дослідів	Концентрація КФГ (у.о./г білка)	Динаміка, %
1.	Інтакт	0,092±0,002	-
2.	Контроль	0,750±0,007 ^{*1}	+715 ⁱ
3.	Диклофенак	0,600±0,010 ^{*1,2}	-20,0 ^к
4.	Кверцетин + диклофенак	0,400±0,007 ^{*2,3,5-11}	-46,7 ^к
5.	Вінборон + диклофенак	0,470±0,008 ^{*2,4,8-11}	-37,3 ^к
6.	Тіотриазолін + диклофенак	0,490±0,008 ^{*2,5,7-11}	-34,7 ^к
7.	Ксантинолу нікотинат+диклофенак	0,540±0,012 ^{*2,6,8-11}	-28,0 ^к
8.	Бензофуракаїн + диклофенак	0,600±0,010 ^{*2,7,9-11}	-20,0 ^к
9.	Де-нол + диклофенак	0,680±0,010 ^{*2-8}	-9,3 ^к
10.	Омепразол + фамотидин	0,700±0,010 ^{*2-8}	-6,7 ^к
11.	Фамотидин + диклофенак	0,700±0,008 ^{*2-8}	-6,7 ^к

Примітки див. до табл. 1.

АФГ збільшився в 4,8 раза, а КФГ – у 8,1 раза відносно інтакту.

Уведення в гомогенати СОШ диклофенаку на тлі ініціювання ОМБ гальмувало утворення АФГ та КФГ відповідно на 7,3 % та 20 % ($p < 0,05$), що вказує на наявність у зазначеного НПЗЗ (10^{-6} М) помірної антиоксидантної активності.

Поєднання в модельній системі диклофенаку з кожним із досліджуваних препаратів супроводжувалося більш інтенсивним, ніж на тлі одного НПЗЗ, зниженням рівнів АФГ – раннього маркера ОМБ. При цьому найбільше за величиною потенціювання антиоксидантної активності диклофенаку викликали кверцетин, вінборон та тіотри-

азолін, найменш ефективними були де-нол, омепразол та фамотидин. Проміжне місце посіли ксантинолу нікотинат та бензофуракаїн (табл. 1).

Дещо інша картина спостерігалася при рестрації динаміки антиоксидантного ефекту диклофенаку на тлі гастропротекторів за показником рівня КФГ – пізнього маркера ОМБ (табл. 2). Посилення антиоксидантної активності вказаного антифлогістика в модельній системі викликали лише кверцетин, вінборон, тіотриазолін та ксантинолу нікотинат. Бензофуракаїн виявився не ефективним, а де-нол, омепразол та фамотидин навіть дещо послабляли антиоксидантну дію диклофенаку ($p < 0,05$).

Оцінюючи отримані дані, можна зазначити, що досліджувані гастропротектори неоднаково впливають на антиоксидантну активність диклофенаку. Найбільше потенціюють вказану властивість НПЗЗ кверцетин > вінборон > тіотриазолін > ксантинолу нікотинат, що проявляється вірогідним гальмуванням утворення як ранніх (АФГ), так і пізніх (КФГ) маркерів ОМБ у гомогенатах СОШ при ініціюванні вільнорадикального окиснення. Дія бензофуракаїну, де-нолу, омепразолу та фамотидину проявляється лише на ранніх стадіях окиснювальної деструкції білків. На пізніх стадіях ОМБ, маркером яких є КФГ, де-нол, омепразол та фамотидин здатні погіршувати ступінь антиоксидантного ефекту диклофенаку, у той час як бензофуракаїн не впливає на нього.

Спроможність кверцетину, вінборону та тіотриазоліну найбільше посилювати антиоксидантний ефект диклофенаку може бути підставою для використання в клінічних умовах, у першу чергу, саме цих гастропротекторів у профілактиці та лікуванні диклофенак-індукованої гастропатії. На користь такого припущення свідчать дані літератури. У клінічних дослідженнях [3] доведено, що лікування хворих на остеоартроз комбінацією диклофенаку з кверцетином разом із значним послабленням ulcerогенності вказаного НПЗЗ спостерігалася посилення його протизапальної та знеболювальної дії. Аналогічна картина взаємодії препаратів мала місце при поєднанні вінборону з індометацином у хворих на ревматоїдний артрит [6].

На підставі результатів проведеного дослідження можна вважати, що достатньо виразна спроможність кверцетину, вінборону, тіотриазоліну, ксантинолу нікотинату, а також у певній мірі бензофуракаїну модифікувати антиоксидантну активність диклофенаку, ймовірно, зумовлює один із механізмів їх захисної дії на СОШ при гастропатіях, індукованих НПЗЗ.

У той же час низька спроможність омепразолу та фамотидину посилювати антиоксидантні властивості диклофенаку вказує на те, що гастропротекторна дія на СОШ цих лікарських засобів при ПНЗЗ-гастропатіях [2,7] пов'язана переважно з їх антиоксидантними властивостями і, в меншій мірі, з антиоксидантним ефектом.

Висновки

1. Сучасні гастропротекторні засоби (кверцетин, вінборон, тіотриазолін, ксантинолу нікотинат, бензофуракаїн, де-нол, омепразол та фамотидин) викликають різний за величиною модулюючий вплив на антиоксидантну активність диклофенаку натрію.

2. Кверцетин, вінборон та тіотриазолін (10^{-6} М) найбільшою мірою серед досліджуваних гастропротекторів посилюють антиоксидантну активність диклофенаку натрію в модельній системі ініціювання вільнорадикального окиснення, що проявляється більш інтенсивним, ніж на тлі одного антифлогістика, гальмуванням рівнів маркерів ОМБ альдегідгідрозонів та кетонфенілгідрозонів.

3. На пізніх стадіях окиснювальної деструкції білків де-нол, омепразол та фамотидин певною мірою погіршують антиоксидантну активність диклофенаку, а бензофуракаїн не впливає на неї.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому доцільно охарактеризувати антирадикальні властивості досліджуваних гастропротекторів, оскільки при запальних процесах у шлунково-кишковому тракті має місце активація вільнорадикального окиснення.

Література

1. Викторов А.П. Побочное действие современных нестероидных противовоспалительных препаратов: проблемы остаются? / А.П. Викторов // Укр. мед. часопис. – 2003. – Т. 33, № 1. – С. 79-89.
2. Дзяк Г.В. Роль і місце антисекреторних препаратів у лікуванні гастродуоденопатій, індукованих нестероїдними протизапальними засобами у хворих на ревматоїдний артрит / Г.В. Дзяк, І.І. Грищенко // Сучасна гастроентерологія та гепатологія. – 2000. – № 2. – С. 35-38.
3. Загородний М.І. Обґрунтування ефективності комбінованої терапії гастропатій, викликаних диклофенаком натрію у хворих на остеоартроз (експериментально-клінічне дослідження): автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14.01.02 – внутрішні хвороби. – К., 2003. – 21 с.
4. Остапчук О.І. Вплив антиоксидантів та омепразолу на протизапальну активність, побічну дію та фармакокінетику індометацину: автореф. дис. канд. мед. наук: спец. 14.03.05 – фармакологія. – К., 1999. – 17 с.
5. Подплетня Е.А. Антиоксидантний механізм реалізації фармакологічних ефектів нестероїдних противовоспалительных средств / Е.А. Подплетня, В.Й. Мамчур // Ж. Акад. мед. наук України. – 2004. – Т. 10, № 2. – С. 301-312.
6. Степанюк Н.Г. Вплив вінборону на перебіг гастропатій, викликаних індометацином у хворих на ревматоїдний артрит / Н.Г. Степанюк, М.А. Станіславчук, С.В. Шевчук // Експерим. і клініч. мед. – 2001. – № 4. – С. 48-51.

7. Степанюк Н.Г. Характеристика гастропротекторної дії корвітину на моделі аспіринової гастропатії / Н.Г. Степанюк, А.В. Томашевський, А.Г. Степанюк // Експерим. і клін. мед. – 2006. – № 1. – С. 70-73.
8. Степанюк Н.Г. Корекція омепразолом порушень кровотоку в шлунку, викликаних диклофенаком / Н.Г. Степанюк // Ліки. – 2006. – № 5-6. – С. 25-28.
9. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев, Е.Л. Левицкий [и др.] // Современ. пробл. токсикол. – 2005. – № 3. – С. 20-26.
10. Хомерики С.Г. Фамотидин против окислительного стресса при некоторых заболеваниях пищеварительной системы / С.Г. Хомерики, Н.М. Хомерики // Геден Рихтер в СНГ. – 2000. – № 3. – С. 19-23.
11. Halliwell B. Free radical in Biology and Medicine / B. Halliwell, M.C. Yutteridze. – Oxford: Clarendon Press, 1999. – 320p.

МОДУЛЯЦІЯ ГАСТРОПРОТЕКТОРНИМИ І АНТИСЕКРЕТОРНИМИ ПРЕПАРАТАМИ АНТИОКСИДАНТНОГО ДЕЙСТВИЯ ДИКЛОФЕНАКА НАТРІЯ НА МОДЕЛІ ОКСИДІЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БЕЛКІВ IN VITRO

Н.Г.Черноіван

Резюме. Установлено, що кверцетин, винборон, тиотриазолін і ксантинола нікотинат (10^{-6} М) краще, ніж інші досліджувані гастропротектори потенціюють антиоксидантну активність диклофенака в умовах моделювання *in vitro* окислювального стресу в гомогенатах слизової оболонки шлунка щівур. Це проявлялось збільшенням показателя угнетення маркерів окислювальної модифікації білків відносно дії самого диклофенака. Найнижча ефективність виявлена у бензофуорокаїна, де-нола, омепразола і фамотидина, котрі посилювали антиоксидантну активність нестероїдного антифлогістика тільки на ранніх стадіях окислювальної деструкції білків.

Ключові слова: окислювальна модифікація білків, антиоксидантна активність, диклофенак, кверцетин, винборон, тиотриазолін.

MODULATION BY GASTROPROTECTIVE AND ANTISECRETORY DRUGS OF THE ANTIOXIDANT ACTION OF DICLOFENAC SODIUM ON A MODEL OF AN OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEIN IN VITRO

N.H.Chernoivan

Abstract. Quercetine, vinborone, thiotriazolone and xantanol nicotinate (10^{-6} M) have been found to potentiate the antioxidant activity of diclofenac better than any other gastroprotectors under study under the conditions of simulating *in vitro* oxidative stress in homogenates of the rat gastric mucosa. It was manifested by an increase of the index of suppressing the markers of oxidative protein modification concerning the action of diclofenac itself. The lowest efficacy was revealed in benzofurokaine, denole, omeprazole and famotidine which enhanced the antioxidant activity of nonsteroid antiflogistic only at early stages of the oxidative degradation of proteins.

Key words: oxidative modification of proteins, antioxidant activity, diclofenac, quercetine, vinborone, thiotriazolone.

M.I. Pyrohov National Medical University (Vinnytsia)

Рецензент – проф. І.І.Заморський

Buk. Med. Herald. – 2010. – Vol. 14, № 4 (56). – P.129-132

Надійшла до редакції 10.06.2010 року