

обладают еще и периферическим ваголитическим свойством [3, 6]. Сочетание центрального и периферического механизмов действия создало возможность получения протекторного эффекта некоторых препаратов на экспериментально вызываемые повреждения слизистой оболочки желудка [4]. В этих экспериментах повреждения слизистой оболочки желудка вызвали иммобилизационно-холодовым стрессом или введением в желудок абсолютного спирта. Как известно, повреждения слизистой оболочки желудка, вызванные стрессом, обусловлены центральными и периферическими механизмами. Этаноловые повреждения, в основном, связаны с периферическими механизмами, наиболее существенными среди которых следует считать нарушение слизистого барьера, торможение активного транспорта, увеличение проницаемости для ионов водорода, натрия и хлора, что сопровождается уменьшением разности потенциалов, потерей слизи и уменьшением плотности цитоплазматического вещества [9]. Предварительное внутримышечное введение одного из психостимуляторов фенилалкилсиднониминного ряда — ОФ 743 — дозозависимо уменьшало размер повреждения. При относительно больших дозах, которые не только блокируют парасимпатические пути влияния, но и оказывают психостимулирующее влияние, примерно у половины животных слизистая оболочка желудка вообще не была повреждена, а у остальных — повреждения были незначительно выраженными.

Однако использование лишь двух указанных моделей процесса язвообразования недостаточно для оценки эффективности противоязвенных препаратов. Язвенные поражения желудка возникают при несоответствии между агрессивными и защитными механизмами слизистой оболочки желудка [1, 5, 7]. Увеличение агрессивных свойств желудочного сока может проявляться при возрастании секреции соляной кислоты и пепсина в результате повышения парасимпатической активности, гиперплазии обкладочных или гастрин-продуцирующих клеток или в результате увеличения освобождения гистамина [1, 7, 12, 13]. К снижению сопротивляемости слизистой оболочки приводит снижение интенсивности некоторых процессов: кровотока, синтеза простагландинов, слизиобразования, подавления выработки щелочного компонента желудочного сока, продукции глюкокортикоидов, регенерации [1, 7, 14—16].

В связи с этим представлялось важным исследовать влияние психостимулятора ОФ 743 на так называемые индометациновые язвы. Индометацин — блокатор синтеза простагландинов. Его повреждающее действие связано с торможением нормальных секреторных ответов и нарушением барьерной функции, что приводит к значительному подавлению продукции слизи и бикарбонатов, уменьшению разности потенциалов и, в результате, — к увеличению обратной диффузии ионов H^+ [9]. Не исключено также, что эти повреждающие влияния в значительной мере обусловлены уменьшением кровоснабжения слизистой оболочки [15]. Используя эту модель язвообразования, мы оценивали действие не только ОФ 743, но и другого фактора, влияющего на кровоснабжение и метаболические процессы, — природного генератора окиси азота аргинина [11, 16].

Методика

У крыс самцов массой 200—220 г повреждения слизистой оболочки желудка вызвали подкожным введением индометацина (25 мг/кг) [8] или введением в желудок абсолютного этанола из расчета 1 мл на 100 г массы [10]. За 24 ч до инъекции индометацина или введения этанола животных лишали пищи, а за 18 ч — воды. Одновременно проводили исследование на четырех группах животных: контрольных (одна группа) и опытных (три группы) — по 5 животных в каждой группе. За 24 ч и за 1 ч до использования индометацина или этанола внутри-

мышечно вводили 0,2 мл физиологического раствора животным контрольной группы и 0,2 мл препарата ОФ 743 (15 мг/кг), или 0,2 мл L-аргинина (100—300 мг/кг), или 0,2 мл комбинации L-аргинина и препарата ОФ 743 (в указанных дозах) животным опытных групп. Под бинокулярной лупой исследовали повреждения слизистой оболочки желудка (гиперемию, точечные и удлиненные кровоизлияния, эрозии, язвы). Для оценки кровоизлияний, эрозий и язв измеряли их длину в миллиметрах и с помощью соответствующей шкалы, исходя из трехбалльной модифицированной системы, переводили в баллы. Гиперемию и точечные кровоизлияния оценивали по 0,5 балла каждую из них. Использовали три показателя поражения: тяжесть поражения (ТП; усредненная по всей группе сумма всех видов поражений желудка одного животного, выраженная в баллах); частоту поражения (ЧП; отношение числа крыс с повреждениями к общему числу крыс в данной группе) и язвенный индекс (ЯИ; тяжесть поражения плюс удвоенная частота поражения). Для обобщения данных использовали непараметрические критерии математической статистики, в частности Вилкоксона—Манна—Уитни. Относительное уменьшение повреждения (%) рассчитывали по отношению к повреждению в контроле, принятому за 100 %.

Результаты и их обсуждение

Введение индометацина (25 мг/кг) вызывало повреждения слизистой оболочки в виде небольших эрозий и кровоизлияний. Как правило, индометациновые повреждения не очень значительны (0,5—1,0 балла). Лишь у отдельных животных ТП достигало 1,5 балла. Введение индометацина на фоне предварительной инъекции ОФ 743 приводило к эффекту, обратному тому, который был отмечен при использовании стрессорно-холодовой и этаноловой моделей язвообразования [4] — усилению повреждающего воздействия: язвенные поражения слизистой оболочки, обнаруживаемые у всех 70 крыс без исключения, в среднем оценивались 1,2 балла, а у отдельных животных — 2,3—2,5 балла.

Так как механизм ulcerогенного действия индометацина, вероятно, связан с ухудшением микроциркуляции, мы предположили, что в этом случае ОФ 743 целесообразно вводить с препаратом, обладающим вазодилататорным свойством, т. е. способствующим улучшению кровоснабжения слизистой оболочки желудка. Кроме того, местное высвобождение вазодилататоров является существенным фактором модуляции механизмов защиты слизистой оболочки. Эндогенная окись азота может быть одним из таких веществ наряду с кальцитонином. В эндогенном образовании окиси азота важнейшая роль принадлежит аргинину. Известно также, что введение крысам ингибитора образования окиси азота из аргинина на фоне предварительного введения капсацина вызывает дозозависимое повреждение слизистой оболочки [17]. Эти повреждения устранялись введением L-аргинина. Кроме того, есть данные, что аргинин увеличивает высвобождение соматостатина, который тормозит секрецию соляной кислоты, т. е. уменьшает агрессивные свойства желудочного сока и увеличивает продукцию слизи, что содействует усилению защитных механизмов. Именно поэтому мы решили испытать аргинин сам по себе и его комбинацию с ОФ 743.

Сам по себе аргинин (300 мг/кг) [17] не проявил значительных достоверных антиulcerогенных влияний: ТП и ЯИ составляли у контрольной группы 0,85 и 2,85 балла соответственно, у опытной группы, животным которой индометацин вводили на фоне действия аргинина, — 0,82 и 2,82.

Сопоставляя повреждения слизистой оболочки желудка, вызванные индометацином, у контрольной группы (80 животных) и у опытной (45 животных), которым вводили комбинацию ОФ 743 (15 мг/кг) с аргинином (300 мг/кг), обнаружили, что введение указанной комбина-

ции препаратов оказывает статистически достоверный антиульцерогенный эффект. У пяти крыс повреждений не было, у остальных — ТП в среднем снижалась с 0,8 до 0,5 балла, ЯИ — с 2,8 до 2,3 (рис. 1: I — тяжесть поражения, баллы; II — язвенный индекс, усл. ед.; III — частота поражения, усл. ед. Здесь и на рис. 2 звездочкой обозначен уровень достоверности при $P < 0,05$. Доза аргинина — 300 мг/кг, ОФ 743 — 15 мг/кг). Ингибирующий эффект комбинации аргинина с ОФ

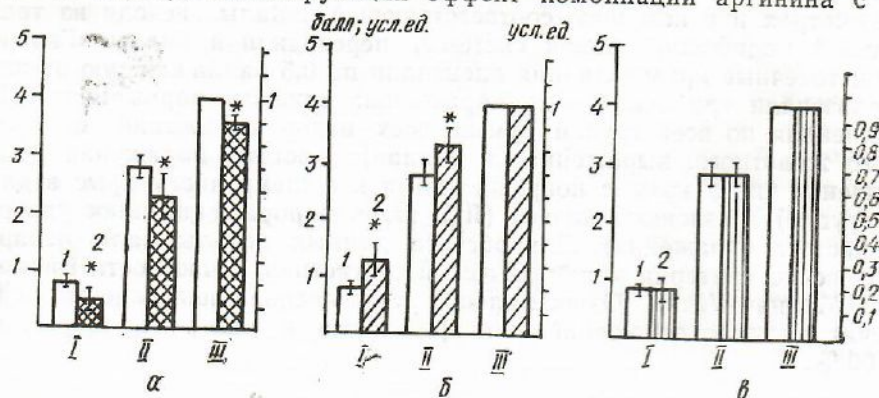


Рис. 1. Влияние комбинации ОФ 743 и аргинина (а), ОФ 743 (б) и аргинина (в) на некоторые показатели состояния слизистой оболочки желудка крыс после ее поражения индометацином (1 — контроль, 2 — опыт).



Рис. 2. Относительное (%) уменьшение поражения слизистой оболочки желудка крыс, вызванного индометацином, на фоне введения разных доз (мг/кг) аргинина (1) в комбинации с 15 мг/кг ОФ 743 (2).

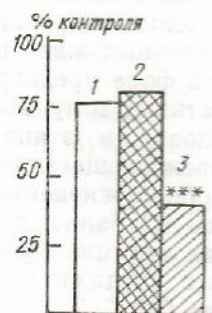


Рис. 3. Относительное (%) уменьшение повреждений слизистой оболочки, вызванных этанолом, при введении ОФ 743 (1), ОФ 743 в комплексе с аргинином (2) и аргинина (3). Незаштрихованный столбик — ОФ 743 (15 мг/кг); косая штриховка — аргинин (200 мг/кг); штриховка в клеточку — комбинация ОФ 743 с аргинином (15 и 200 мг/кг соответственно). Здесь звездочки — $P < 0,001$.

743 на индометациновые повреждения слизистой оболочки проявляется при разных дозах аргинина. Оказалось, что доза 300 мг/кг, рассчитанная по данным литературы [17], не является оптимальной для антиульцерогенного действия. Сопоставление влияний разных доз показало, что наибольшая антиульцерогенная активность комбинации аргинина с ОФ 743 проявляется при дозе аргинина 200 мг/кг (рис. 2). Следует отметить, что, если аргинин в дозах 100 и 300 мг/кг практически не влияет на индометациновые повреждения слизистой оболочки, то доза 200 мг/кг вызывает уменьшение язвообразования, которое, однако, менее значительное, чем при действии указанной комбинации препаратов.

Выявив положительную роль комбинации аргинина с ОФ 743 в отношении индометациновых повреждений слизистой оболочки желудка, мы стали изучать влияние этой комбинации на этаноловые повреждения. ОФ 743 сам по себе заметно уменьшает повреждения слизистой оболочки, вызванные этанолом, а его комбинация с аргинином

проявляет тенденцию к еще большему уменьшению этанолового язвеннообразования (рис. 3).

Таким образом, комбинация аргинина с ОФ 743 оказывает значительный антиульцерогенный эффект при разных видах экспериментально вызванных язв. Это происходит, возможно, за счет того, что антиульцерогенное действие применяемой комбинации препаратов сочетает различные механизмы: центральный, психокорректирующий; периферический, ваготонический, способствующий ослаблению влияния «агрессивных» факторов, т. е. секреции соляной кислоты и пепсина; потенцирующий защитные реакции, в частности увеличивающий кровоснабжение слизистой оболочки, улучшающий регенерацию и увеличивающий выработку слизи. Считаем, что комбинация аргинина с ОФ 743 заслуживает всестороннего изучения как перспективное профилактическое и лечебное средство при язвенных поражениях слизистой оболочки желудка.

G. E. Samonina, N. A. Natsvlishvili, I. P. Ashmarin

ANTIULCEROGENIC ACTION OF COMBINATION OF PSYCHOSTIMULATORS BELONGING TO PHENYLALKYLSYDNONIMINE DERIVATIVES AND ARGININE

It has been revealed that OF 743, one of the psychostimulators belonging to phenylalkylsydnonimine derivatives, exerts antiulcerogenic action in case of stress- and ethanol-induced damage of gastric mucosa in rats. However OF 743 was not effective in case of indomethacin-induced gastric mucosal damage. Complex administration of OF 743 and arginine was accompanied by a considerable decrease of indomethacin-induced gastric mucosal damage. That combination was more effective than OF 743 alone in case of ethanol-induced gastric mucosal damage.

M. V. Lomonosov State University, Moscow, USSR

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Василько В. Х., Гребенев А. Л., Шептулин А. А. Язвенная болезнь.— М.: Медицина, 1987.— 286 с.
2. Кричевская А. А., Шугалей В. С., Ананян А. А., Зигова И. Г. Оценка эффективности защитного действия аргинина в условиях холодового стресса // Вопр. мед. химии.— 1985.— 31, № 6.— С. 50—53.
3. Мандрико Е. В. Новые модуляторы парасимпатической регуляции ритма сердца: Автореф. канд. дис. ... канд. биол. наук.— М., 1990.— 21 с.
4. Нацвlishvili Н. А., Самонина Г. Е., Ашмарин И. П. Сопоставление тормозящего действия психостимулятора сиднониминового ряда на развитие стрессорных и этаноловых повреждений слизистой оболочки желудка у крыс // БЭБиМ, 1991.— 109, № 6.
5. Рысс Е. С., Фишзон-Рысс Ю. И. Современная фармакотерапия язвенной болезни // Клинич. медицина.— 1989.— 67, № 1.— С. 49—55.
6. Самонина Г. Е., Мандрико Е. В. Периферическое холинолитическое действие—один из эффектов сиднофена // БЭБиМ— 1989.— 107, № 4.— С. 449—451.
7. Фишзон—Рысс Ю. И., Рысс Е. С. Гастро-дуоденальные язвы.— Л.: Медицина, 1978.— 231 с.
8. Bates R. F., Buckley G., Strettle R. The action of salmon calcitonin on indomethacin-induced gastric ulceration in the mouse // Brit. J. Pharmacol.— 1979.— 66, 1.— P. 154—156.
9. Brooks F. P. The pathophysiology of peptic Ulcer: An overview // Contemporary issue in Gastroenterology.— v. 3: Peptic Ulcer Disease.— 1985.— P. 45—149.
10. Derelanko M., Long I. Carbenoxolone sodium protects rat gastric mucosa against ethanol-induced necrosis // Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.— 1981.— 166, N 3.— P. 394—397.
11. Marletta M. A. Nitric oxide: biosynthesis and biological significance // TIPS — 1989.— N 12.— P. 394—397.
12. Nagashima R., Samloff I. M. Aggressive factors II: Pepsin // Contemporary issue in Gastroenterology.— v. 3: Peptic Ulcer disease.— 1985.— P. 181—214.
13. Olbe L., Lundell L. Aggressive factors I: Hydrochlorid acid // Ibid.— P. 151—180.
14. Ritchie W. P. Resistance factors II: Cellular resistance // Ibid.— P. 233—260.
15. Tepperman B. L., Jacobson E. D. Circulatory factors in gastric ulcer // Ibid.— P. 261—278.

16. Turnberg L. A. Resistance factors I: «Mucus-Bicarbonate» barrier // Ibid.— P. 215—232.
17. Whittle B. J., Lopez-Belmonde J., Moncada S. Regulation of gastric mucosal integrity by endogenous nitric oxide: interactions with prostanoids and sensory neuropeptides in the rat // Brit. J. Pharmacol.— 1990.— 33, N 3.— P. 607—616.

Москов. ун-т им. М. В. Ломоносова
Гос. комитета СССР по народному образованию

Материал поступил
в редакцию 20.10.90

УДК 616.36—002/001.6:612.332.75

М. Л. Тараховский, А. Г. Цыпкун, В. П. Сергеев,
Т. Д. Задорожная, В. К. Тищенко, В. Ф. Литвинов

Эффективность энтеросорбентов и механизмы детоксикации при моделированном гепатите у неполовозрелых крыс

Различные модификации волокнистого угля типа АУВМ «Днепр-М» оказывают нормализующее влияние на морфофункциональное состояние печени неполовозрелых крыс при моделированном токсическом гепатите. Устраняются сдвиги в системе «перекисное окисление липидов (ПОЛ) — антиоксидантная защита (АОЗ)», повышается антитоксическая функция печени, что проявляется в увеличении активности микросомального окисления. В механизме детоксицирующего эффекта энтеросорбентов существенное значение имеет их опосредованное нормализующее влияние на мембранные структуры гепатоцитов.

Введение

Применение энтеросорбентов является одним из наиболее эффективных методов дезинтоксикационной терапии при отравлениях ксенобиотиками [4, 7]. Вместе с тем, положительные результаты достигнуты при использовании энтеросорбентов для лечения ряда хронических заболеваний [1, 6, 10]. К сожалению, пока нерешенной проблемой является создание сорбентов направленного действия. Это особенно важно при проведении сорбционной терапии у детей, так как систематическое применение у них неизбирательно действующих сорбентов может явиться причиной нарушения витаминного, белкового и солевого баланса, принимая во внимание неустойчивый гомеостаз организма ребенка.

Наши исследования посвящены изучению эффективности энтеросорбентов и механизма их детоксицирующего действия при моделированном гепатите у неполовозрелых крыс.

Методика

Исследования выполнены на 80 неполовозрелых белых крысах массой 80—100 г. Животные были распределены на 5 групп: 1-ю группу составляли интактные животные; 2-ю — животные с моделью хронического гепатита нелеченные; 3-ю, 4-ю и 5-ю группы — животные с моделью хронического гепатита, леченные волокнистым углем типа АУВМ марки «Днепр-МН» (3-я группа), таблетками из этого же угля, в которых в качестве наполнителя использовали крахмал (4-я группа) или поливиниловый спирт (5-я группа). Собственно уголь и модифицированный уголь в виде взвеси вводили животным внутрижелудочно по 1 000 мг/кг 1 раз в сутки в течение 10 сут. Применяемые в качестве

© М. Л. ТАРАХОВСКИЙ, А. Г. ЦЫПКУН, В. П. СЕРГЕЕВ, Т. Д. ЗАДОРЖНАЯ,
В. К. ТИЩЕНКО, В. Ф. ЛИТВИНОВ, 1991

энтеросорбентов препараты созданы в отделе изделий медицинского назначения Института проблем материаловедения АН УССР.

У неполовозрелых крыс 2-й — 4-й групп моделировали токсический гепатит по модифицированному авторами этой статьи способу — семикратным внутримышечным введением 50 %-ного масляного раствора четыреххлористого углерода (0,15 мл) через каждые 3 сут. Антиоксическую функцию печени оценивали по интенсивности окисления маркерного препарата амидопирина [3] и активности НАД·Н- и НАДФ·Н-зависимых оксидаз и редуктаз в микросомах печени [12]. Для получения фракции микросом супернатант после выделения митохондрий подвергали повторному центрифугированию в течение 30 мин при 15 000 G. Устойчивость плазматических мембран эритроцитов оценивали спектрофотометрически по интенсивности кислотного гемолиза эритроцитов [11]. Содержание общих липидов, холестерина, триглицеридов, β -липопротеинов (ЛП), глюкозы, мочевины, органоспецифических ферментов, в частности аланин- и аспартатаминотрансфераз (АлАТ и АсАТ соответственно), щелочной фосфатазы, в крови определяли унифицированными методами с использованием наборов фирмы «Lachema» (Чехословакия). Общий белок определяли биуретовым методом, спектр белков — электрофорезом на бумаге. Об интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и гомогенатах печени судили по концентрации гидроперекисей липидов — ГПЛ [8] и малонового диальдегида — МДА [9], а об антиоксидантной защите (АОЗ) — по концентрации восстановленного глутатиона [14] и активности глутатионпероксидазы [13]. При морфологическом исследовании печени проводили окраску гематоксилином-эозином и пикрофуксином по Ван-Гизон.

Для электронно-микроскопического исследования кусочки печени обрабатывали 2,5 %-ным раствором глутаральдегида с последующей фиксацией 1 %-ным раствором осмиевой кислоты. Срезы контрастировали по Рейнольдсу и просматривали в электронном микроскопе типа «ЭММА-4».

Результаты исследований обрабатывали статистически с использованием критерия t Стьюдента. Различия считали достоверными при $P \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Систематическое введение 50 %-ного масляного раствора четыреххлористого углерода неполовозрелым белым крысам вызывало токсическое поражение печени с возникновением структурных изменений в ее ткани, нарушением антиоксической, белоксинтезирующей, липотропной, мочевинообразующей функций, что в целом позволяет говорить о наличии у животных субхронического гепатита.

Применение в качестве энтеросорбента угля типа АУВМ марки «Днепр-МН» стимулировало детоксицирующую функцию печени у животных с экспериментальной патологией. Об этом можно было судить по усилению биотрансформации маркерного препарата амидопирина. Концентрация основного метаболита амидопирина — 4-аминоантипирина (4-ААП) в печени у леченых животных была более чем в 2,5 раза выше, чем у нелеченых. Подтверждением интенсификации микросомального окисления является повышение активности НАД·Н-зависимых оксидаз и редуктаз, играющих существенную роль в биотрансформации ксенобиотиков в печени (табл. 1).

Наряду с усилением детоксицирующей функции печени под влиянием энтеросорбентов у леченых животных стабилизировались плазматические мембраны эритроцитов. Об этом можно было судить по увеличению времени кислотного гемолиза эритроцитов, снижению его пика и сдвигу вправо, появлению добавочных пиков на эритрограммах (рис. 1).