

# ФАРМАКОЛОГИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

## СРАВНЕНИЕ СТРЕССПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВИТАМИНА Е, ДИМЕФОСФОНА И РЕАМБЕРИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ НА КРЫСАХ

О. П. Родина, И. Я. Моисеева<sup>1</sup>

Изучено состояние слизистой оболочки, липидный спектр тканевых структур желудка при действии стрессового ulcerогенного фактора на фоне введения витамина Е, димефосфона и реамберина. При использовании антиоксидантов, в большей степени реамберина, происходило восстановление липидного метаболизма и нормализация процессов перекисного окисления липидов.

**Ключевые слова:** стресс, липидный обмен, антиоксиданты, реамберин

### ВВЕДЕНИЕ

Распространенность язвенной болезни среди взрослого населения составляет в разных странах от 5 до 15 % (в среднем 7 – 10 %) и не имеет тенденции к снижению [5, 6]. Значительную роль в развитии данного явления исследователи отводят росту количества психоэмоциональных стрессов [7]. При этом использование антиоксидантов является вполне обоснованным, так как при данной патологии преобладает выраженная активация окислительных процессов с одновременным угнетением антиоксидантной защиты [9, 10]. Однако, учитывая полиэтиологичность заболевания [2], патогенез повреждающего воздействия свободных радикалов на клетки и организм в целом будет иметь свои особенности. Поэтому включать препараты с антиоксидантными свойствами в комплексную терапию язвенной болезни необходимо с учетом этих особенностей. Только в этом случае антиоксидантная терапия будет максимально эффективна [8].

Целью работы явились изучение гистопротекторных свойств витамина Е, димефосфона и реамберина, оценка роли липидрегулирующей способности в их терапевтической эффективности.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 80 половозрелых белых крысах обоего пола средней массой 200 – 250 г. Животных содержали на стандартном пищевом рационе вивария со свободным доступом к воде. Все манипуляции с животными проводили в соответствии с Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (ETS N 123, Страсбург, 18 марта 1986 г.).

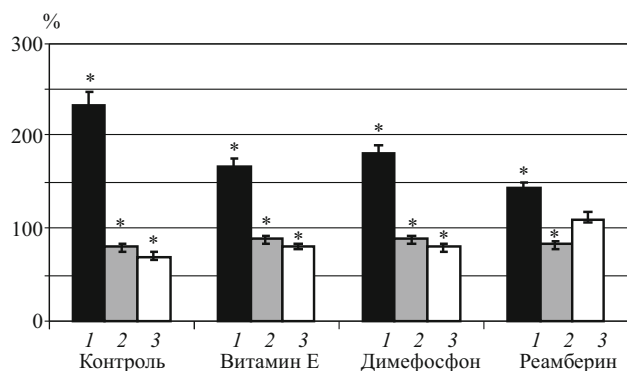
Язвенные дефекты моделировали по способу С. В. Аничкова и И. С. Заводской (1965). Через 12 ч

животных выводили из опыта путем передозировки эфирного наркоза. Производили лапаротомию и биопсию тонкого отдела кишечника. При вскрытии оценивали состояние слизистой оболочки, определяли характер ее повреждений, среди которых выделяли точечные кровоизлияния, эрозии и язвы. Для каждого вида повреждений слизистой оболочки рассчитывали “язвенный индекс” Паулса. Животных делили на 4 группы. Группа 1 ( $n = 20$ ) являлась интактной. Животным второй группы ( $n = 20$ ) вводили 10 % раствор альфа-токоферола ацетата (витамин Е, ОАО “Марбиофарм”, Россия) в масле из расчета 5 мг/кг массы тела внутримышечно, третьей ( $n = 20$ ) — 15 % раствор димефосфона (ОАО “Татхимфармпрепараты”, Россия) из расчета 50 мг/кг массы тела внутримышечно. Животным группы 4 ( $n = 20$ ) 1,5 % раствор реамберина (ООО “НТФФ “ПОЛИСАН”, Россия) из-за большого объема (0,16 мл) вводили внутривентриально в дозе 10 мг/кг. Дозы препаратов подобраны на основании многолетних исследований лаборатории кафедры фармакологии и факультетской хирургии медицинского факультета Мордовского госуниверситета в соответствии с рекомендациями по применению этих препаратов. Препараты вводили трехкратно: за 2 ч до фиксации животных, через 2 и 6 ч после.

После экстракции липидов из тканей анализировали их качественный состав методом тонкослойной хроматографии (Дж. А. Хиггинс, 1990; V. E. Vaskovsky и соавт., 1975). Количественное определение липидов проводили на денситометре (Model GS-670; BIO-RAD, США) с соответствующим программным обеспечением (Phosphor Analyst/PS Software).

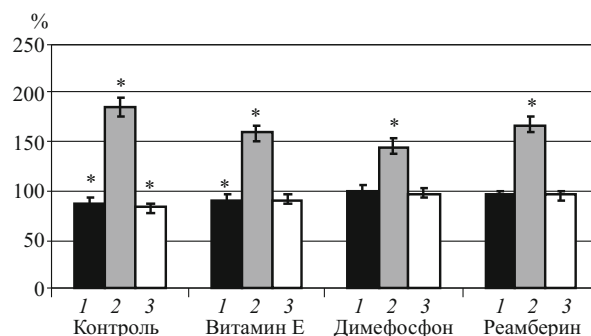
Содержание малонового диальдегида (МДА) оценивали в реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Для определения антиокислительной активности липидов предварительно проводили индукцию липопереокисления раствором сульфата железа в концентрации 5 мкмоль в течение 1 ч. Активность каталазы определяли фотометрическим методом, активность супероксиддисмутазы – в реакции с нитросиним тетразолием (В. С. Гуревич и др., 1990). Активность фос-

<sup>1</sup> Кафедра общей и клинической фармакологии (руководитель — проф. И. Я. Моисеева) Пензенского государственного университета, 440026, Пенза, ул. Красная, 40.



**Рис. 1.** Качественные и количественные изменения состава липидов ткани желудка при применении витамина Е, димефосфона и реамберина на модели стрессового ulcerогенеза. Нормальные значения показателей приняты за 100 %.

\* — Статистическая значимость ( $p < 0,05$ ) изменений по отношению к норме. СЖК — свободные жирные кислоты (1), ХС — холестерин (2), ЭХС — эфиры холестерина (3).



**Рис. 2.** Качественные и количественные изменения состава фосфолипидов ткани желудка при применении витамина Е, димефосфона и реамберина на модели стрессового ulcerогенеза. Нормальные значения показателей приняты за 100 %.

\* — Статистическая значимость ( $p < 0,05$ ) изменений по отношению к норме. СФ — сфингомиелин (1), ЛФЛ — лизофосфолипиды (1), ФХ — фосфатидилхолин (3).

фолипазы  $A_2$  оценивали в среде, содержащей 10 ммоль трис-НСI-буфер (рН 8,0), 150 ммоль тритон Х-100, 10 ммоль  $CaCl_2$  и субстрат (1,2 ммоль). В качестве субстрата использовали фосфатидилхолины яичного желтка. Регистрацию каталитической деятельности фермента проводили титрометрическим методом по мере образования свободных жирных кислот. Расчет проводили по калибровочной кривой, построенной по пальмитиновой кислоте и выражали в мкмоль/с/г белка (В. А. Трофимов, 1999).

Полученные цифровые данные обрабатывали методом вариационной статистики, с использованием критерия  $t$  Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при моделировании язвообразования под действием стрессового фактора деструктивные изменения слизистой оболочки желудка отмечались у всех животных контрольной группы. При исследовании слизистой на фоне действия антиоксидантов число деструкций на одно животное уменьшилось во всех опытных группах (табл. 1). Число точечных кровоизлияний по сравнению с контрольной группой в наибольшей и равной степени уменьшилось на фоне

применения димефосфона и реамберина — на 62,5 % ( $p < 0,05$ ). Количество эрозий максимально снизилось при применении витамина Е — на 75,86 % ( $p < 0,05$ ). Наибольшее воздействие на формирование язвенных дефектов оказал реамберин, снизив их число на 71,05 % ( $p < 0,05$ ). Аналогично изменялся и индекс Паулса, наиболее значительное снижение которого (в 4,75 раза), наблюдалось в случае применения реамберина.

Как отмечалось ранее, липидные компоненты мембран являются чувствительными индикаторами патологического процесса [1, 3, 4]. Включенные в моделирование препараты снижали действие стрессора, что выразилось в повышении адаптивной способности липидных компонентов биомембран, подвергавшихся действию стрессовых факторов. Так, уровень свободных жирных кислот снижался, при этом наиболее значительно на фоне применения реамберина — на 39,5 % ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой, но нормализации его не происходило. Введение препаратов повышало уровень эфиров холестерина, но только реамберин способствовал нормализации данного показателя. Содержание холестерина также возрастало, но не нормализовалось (рис. 1).

Уровень суммарных фосфолипидов повысился, что привело к нормализации этого показателя на фоне

Таблица 1. Влияние антиоксидантов на характер повреждений слизистой оболочки желудка на модели стрессового ulcerогенеза

Показатель	Виды деструкций	Контроль	Витамин Е	Димефосфон	Реамберин
Количество пораженных животных, %	точечные кровоизлияния	100	100	100	100
	эрозии	100	80	75	90
	язвы	100	95	85	75
Число деструкций на одно животное, %	точечные кровоизлияния	100	53,75	37,5	37,5
	эрозии	100	24,14	27,59	50,00
	язвы	100	36,84	44,74	29,3
Индекс Паулса	точечные кровоизлияния	8,0	4,3	3,0*	3,0*
	эрозии	5,8	1,1*	1,2*	2,6*
	язвы	3,8	1,3*	1,4*	0,8*

**Примечание.** \* — Статистическая значимость ( $p < 0,05$ ) изменений по отношению к норме.

Таблица 2. Показатели перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты и активности фосфолипазы  $A_2$  в тканевых структурах желудка на модели стрессового ulcerогенеза на фоне введения антиоксидантов ( $M \pm m$ )

Показатель	Норма	Контроль	Витамин Е	Димефосфон	Реамберин
МДА (нмоль/г белка)	$2,39 \pm 0,06$	$8,23 \pm 0,15^*$	$4,34 \pm 0,24^{* \#}$	$4,12 \pm 0,15^{* \#}$	$5,03 \pm 0,18^{* \#}$
Fe-индуцированный МДА (нмоль/г белка)	$3,42 \pm 0,09$	$12,44 \pm 0,24^*$	$7,36 \pm 0,31^{* \#}$	$7,14 \pm 0,28^{* \#}$	$7,56 \pm 0,32^{* \#}$
Активность фосфолипазы $A_2$ (мкмоль/с/г белка)	$0,73 \pm 0,022$	$1,92 \pm 0,047^*$	$0,98 \pm 0,038^{* \#}$	$0,69 \pm 0,051^{\#}$	$1,19 \pm 0,039^{* \#}$
Активность каталазы (мг $H_2O_2$ /мин/г белка)	$1,63 \pm 0,04$	$2,71 \pm 0,12^*$	$2,79 \pm 0,18^*$	$2,72 \pm 0,14^*$	$2,53 \pm 0,18^*$
Супероксиддисмутаза (усл. ед./мг белка)	$6,21 \pm 0,14$	$3,18 \pm 0,18^*$	$5,43 \pm 0,14^{* \#}$	$5,42 \pm 0,24^{* \#}$	$4,79 \pm 0,31^{* \#}$

Примечание. Статистическая значимость ( $p < 0,05$ ): \* — изменений по отношению к норме; # — изменений по отношению к контролю.

применения димефосфона и реамберина (рис. 2). Происходило снижение содержания лизофосфолипидов, но оно так и не достигло нормальных значений. Введение всех исследуемых антиоксидантов повышало уровень фосфатидилхолина до нормы.

Витамин Е, димефосфон и реамберин, обладая антиоксидантным свойством, способствовали предупреждению развития липидного дистресс-синдрома при действии стрессового ulcerогенного фактора. Изменение уровня ТБК-содержащих продуктов перекисного окисления липидов в ткани желудка на фоне действия исследуемых антиоксидантов носило однонаправленный характер в сторону уменьшения их доли. Однако нормализации этих показателей не наблюдалось (табл. 2).

Изменение активности антиоксидантных ферментов и фосфолипазы  $A_2$  на фоне включения в эксперимент витамина Е, димефосфона и реамберина подтверждает наличие у обозначенных препаратов мембраностабилизирующей активности. Активность супероксиддисмутаза в наибольшей и равной степени повысилась при применении витамина Е и димефосфона. Фосфолипазная активность значительно снизилась, а на фоне применения димефосфона достигла нормы.

## ВЫВОДЫ

1. Витамин Е, димефосфон, реамберин на модели стрессового ulcerогенеза уменьшают выраженность поражений слизистой оболочки желудка.

2. Предупреждение язвообразования под влиянием препаратов сопровождается восстановлением липид-

ного метаболизма тканевых структур желудка, снижением уровня МДА и Fe-МДА, уменьшением активности фосфолипазы  $A_2$ .

3. Эффективность препаратов по коррекции поражений слизистой оболочки желудка в условиях стресса в изученных дозах снижается в ряду реамберин > димефосфон > витамин Е.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. И. Гейвандова, А. В. Ягода, Д. А. Гудзовская, И. В. Косторная, *Рос. журн. гастроэнт, гепатол, колопрокт.*, **18**(6), 38 – 42 (2008).
2. Н. Л. Денисов, В. Т. Ивашкин, Ю. В. Лобзин, В. Ю. Голофеевский, *Рос. журн. гастроэнт, гепатол, колопрокт.*, **18**(6), 22 – 26 (2008).
3. Курашвили, В. Г. Васильков, *Липидный обмен при неотложных состояниях*, Пенза (2003).
4. С. С. Моргунов, Б. Б. Капустин, А. В. Матвеев, *Применение реамберина в интенсивной терапии гастродуоденальных кровотечений*, Ижевск (2006).
5. И. М. Мусинов, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Санкт-Петербург (2007).
6. *Рекомендации по диагностике и лечению язвенной болезни*, Москва (2002).
7. Я. С. Циммерман, Ф. В. Белоусов, Л. З. Трегубов, *Клин. медицина*, **82**(3), 37 – 42 (2004).
8. М. Г. Романцова, А. Л. Коваленко, *Реамберин в клинической практике*, Санкт-Петербург (2007).
9. E. R. Monsen, *J. of the American Dietetic Assotiation*, **100**, 637 – 640 (2000).
10. S. I. Rapoport, A. Kh. Kogan, M. B. Khutchishvili, *Digestion*, **59**(3), 102 (1998).

Поступила 09.03.11

## COMPARISON OF STRESS PROTECTOR ACTIVITY OF DRUGS WITH ANTIOXIDANT ACTIVITY (VITAMIN E, DIMEPHOSPHON, REAMBERIN) IN RATS

O. P. Rodina and I. Ya. Moiseeva

Department of General and Clinical Pharmacology, Penza State University, ul. Krasnaya 40, Penza, 440026, Russia

The condition of the mucous membrane and lipid spectrum of tissue structures under the action of gastric ulcerogenic stress factors was studied on the background of administration of vitamin E, dimephosphon, and reamberin. The use of antioxidants, especially reamberin, led to the restoration of lipid metabolism and normalization of lipid peroxidation processes

**Key words:** Stress, lipid metabolism, antioxidants, reamberine