

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.м.н., професором І.Л.Диким

УДК 615.015.1:638.138.1:547.461.4

ОЦІНКА СТРЕСПРОТЕКТИВНОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ЗАСОБІВ АДАПТОГЕННОЇ ДІЇ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

Л.В.Яковлєва, О.Я.Міщенко

Національний фармацевтичний університет

Проведено вивчення стреспротективної дії нових комбінованих засобів адаптогенної дії: поллентару, феполену, фелентару в дозі 25 мг/кг та антиоксиданту альтану в дозі 1 мг/кг на моделі гострого іммобілізаційного стресу у щурів. Встановлено, що феполен, поллентар, фелентар та антиоксидантний препарат “Альтан” проявили стреспротективну дію, вірогідно зменшуючи розвиток стресорних пошкоджень слизової оболонки шлунка. Припускається важливість антиоксидантних властивостей в реалізації стреспротективної дії засобів.

Значна роль у багатогранній терапевтичній дії препаратів адаптогенного впливу належить їх стресмодулювальній активності, що і обумовлює необхідність її оцінки на етапі вивчення нових засобів.

Стрес — неспецифічна реакція організму на дію ушкоджувальних факторів. Суть цієї реакції визначає метаболічна перебудова, спрямована на утворення додаткової кількості енергії, необхідної для нейтралізації ушкоджуючої дії та виживання організму. Комплекс метаболічних змін, які спостерігаються в умовах стресу, знаходиться під нейроендокринним контролем, в якому провідна роль надається гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальній системі (ГГАС). У своєму розвитку стрес послідовно проходить три стадії: тривоги, резистентності та виснаження. Стадії тривоги та виснаження є катаболічними, тоді як стадія резистентності — анаболічною [1].

Стадія тривоги відображає гостру неспецифічну реакцію організму на ушкодження. На цій стадії відбувається активація ГГАС, що приводить до мобілізації метаболічних, у першу чергу, вуглеводних джерел енергоутворення [9]. Формування стадії резистентності означає адаптацію організму до тривалої дії ушкоджувального фактора за рахунок переключення енергоутворення на більш еко-

номний ліпідний обмін. При цьому знижується напруга ГГАС [8]. Стадія виснаження розвивається по мірі вичерпання резервного фонду організму і характеризується зміною величини всіх показників метаболізму на такі, що є нижчими за норму. За таких метаболічних змін класичні адаптогени (елеутерокок) проявляють стресмодулювальну дію і віддаляють час переходу стадії резистентності в стадію виснаження [11].

Однією з провідних патогенетичних ланок у реакціях організму на дію стресорного фактора є активація перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Оксидативний стрес, що виникає в результаті посилення ПОЛ, є універсальним фактором, який включається в патогенез багатьох захворювань і, зокрема, ерозивного пошкодження слизової оболонки шлунка (СОШ) [1, 7]. В умовах стресу після стадії первинної інгібіції ПОЛ, обумовленої підвищенням виходом у кров з наднирників катехоламінів та кортикостероїдів, які здатні перехоплювати вільні радикали, перш за все супероксидний, в подальшому спостерігається посилення цього процесу. Причинами активації ПОЛ є модифікація клітинних мембран внаслідок накопичення легкоокиснюваних ліпідів; надлишкове утворення радикальних продуктів у результаті порушення мікроциркуляції та дисбалансу станів “гіпоксія-гіпероксія”; поступове виснаження біоантиоксидантів; інгібіція активності супероксиддисмутази радикалами та продуктами ПОЛ; аутоокиснення катехоламінів і генерація ними вільних радикалів [1, 8, 10, 13].

На прикладі з класичним адаптогеном елеутерококом встановлено, що у стресованих тварин препарат запобігає як активації ГГАС, так і стимуляції ПОЛ завдяки власне антиоксидантним властивостям [1, 11].

Отже, підтримка резистентності організму в умовах надлишкового стресу залежить від стану систем перекисного окиснення ліпідів/антиокси-

Таблиця 1

Вплив досліджуваних засобів на показники коефіцієнтів маси тимусу (КМТ) та маси надниркових залоз (КМНЗ) в умовах іммобілізаційного стресу, (n =7)

Групи тварин	Показники	
	КМТ	КМНЗ
Інтактний контроль	0,2188±0,040	0,01772±0,0007
Контрольна патологія (стрес)	0,0898±0,0064*	0,01859±0,0008
Стрес + поллентар	25 мг/кг	0,1024±0,0072*
Стрес + феполен	25 мг/кг	0,08670±0,0056*
Стрес + фелентар	25 мг/кг	0,1150±0,0077*/**
Стрес + альтан	1 мг/кг	0,1049±0,0063*

Примітки:

1. * — відхилення вірогідні стосовно інтактного контролю, $p \leq 0,05$;
2. ** — відхилення вірогідні стосовно контрольної патології, $p \leq 0,05$;
3. n — кількість тварин у групі.

дантного захисту (ПОЛ/АОС) та енергопродукції. Одним із відомих шляхів фармакологічної регуляції останніх є використання фенольних сполук природного походження — антиоксидантів, регуляторів енергетичного обміну (РЕО), зокрема бурштинової кислоти та її солей як окремо, так і в комбінації з рослинними фенольними сполуками, які проявляють мембраностабілізуючі властивості та забезпечують ефективний антиоксидантний захист клітинних мембран. Саме поєднання енергізуючих та мембраностабілізуючих властивостей дає змогу всебічно корегувати порушений гомеостаз організму та підвищувати його адаптивні резерви [9, 10, 13].

Виходячи з вищенаведеного, у НФаУ розроблені нові комбіновані засоби на основі продуктів бджільництва та бурштинової кислоти: феполен, фелентар, поллентар, для яких встановлені актопротекторні та антигіпоксичні властивості [4].

У рамках доклінічного вивчення нових вказаних засобів було доцільним оцінити можливі стреспротективні властивості феполену, фелентару, поллентару, а також препарату-антиоксиданту з вільхи, що містить фенольні сполуки, альтану.

Матеріали та методи

Стреспротективну дію препаратів вивчали на моделі нервово-м'язового напруження за Сельє [6]. З метою усунення впливу коливань гормонального фону дослідження проводили на білих нелінійних щурах самцях 180-200 г. Усі тварини були розподілені на 6 груп по 7 особин. Перша група — інтактні тварини. Друга група — тварини контрольної патології. Тварини третьої, четвертої, п'ятої та шостої дослідних груп відповідно внутрішньошлунково отримували: поллентар, феполен, фелентар у дозі 25 мг/кг (ефективні дози засобів за актопротекторною дією) та альтан в умовно терапевтичній дозі 1 мг/кг за антиоксидантною активністю. Усі засоби вводили про-

філактично протягом двох тижнів до експозиції стресу. Тварини групи контрольної патології отримували дистильовану воду в об'ємі, еквівалентному до об'єму препаратів. Група інтактних тварин стресовому впливу не піддавалась.

Дослідження проведені згідно з санітарно-гігієнічними нормами і принципами Європейської конвенції з захисту лабораторних тварин [12].

Стрес модулювали шляхом 3-и годинної іммобілізації щурів на спині на операційному століку атравматичним фіксуванням за кінцівки. Враховуючи, те що стадія тривоги припадає на перші 12 годин від початку стресу, оцінку стреспротективної дії препаратів проводили через дві години після завершення дії стресорного фактора, як запропоновано в чинних методичних рекомендаціях [3].

Загальносоматичними показниками стреспротективної дії препаратів були зміни коефіцієнту маси надниркових залоз (КМНЗ) і тимусу (КМТ) та ступеня виразкоутворення в шлунку. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Для визначення коефіцієнтів маси надниркові залози та тимус звільняли від зайвої сполучної та жирової тканини, зважували на торсійних вагах ВТ-500. Коефіцієнт маси органу обчислювали за формулою:

$$KM = \frac{\text{маса органу, г}}{\text{маса тіла тварини, г}} \times 100$$

Для дослідження виразкоутворення шлунок розтинали розрізом вздовж малої кривизни, промивали фізіологічним розчином і досліджували слизову оболонку за допомогою збільшувального скла (x8). Звертали увагу на рельєф слизової оболонки, наявність виразок, ерозій, крововиливів, визначали розміри виразок, частоту виразкоутворення (ЧВУ), відсоток тварин у групі, які мали виразки.

Вплив препаратів на процеси ПОЛ і антиоксидантного захисту оцінювали відповідно за показ-

Таблиця 2

Вплив досліджуваних засобів на стан слизової шлунка та показники ПОЛ і АОС сироватки крові в умовах іммобілізаційного стресу, (n =7)

Групи тварин	Показники			
	ЧВУ, %	площа виразок, см ²	ТБК-реактанти, ммоль/л	ВГ, мкмоль/л
Інтактний контроль	0	0,0±0,0	0,335±0,030	5,06±0,49*
Контрольна патологія (стрес)	85,7	0,77±0,29*	0,502 ±0,011*	2,77±0,20*
Стрес + поллентар, 25 мг/кг	71,4	0,10±0,03*/**	0,450±0,038*/**	3,69±0,21*/**
Стрес + феполен, 25 мг/кг	28,6	0,06±0,06**	0,381±0,032**	4,65±0,44**
Стрес + фелентар, 25 мг/кг	28,6	0,08±0,05**	0,342±0,045**	3,89±0,20*/**
Стрес + альтан, 1 мг/кг	28,6	0,05±0,04**	0,379±0,032**	3,98±0,33**

Примітки:

1. * — відхилення вірогідні стосовно інтактного контролю, $p \leq 0,05$;
2. ** — відхилення вірогідні стосовно контрольної патології, $p \leq 0,05$;
3. n — кількість тварин у групі.

никами ТБК-реактантів та вмістом відновленого глютагіону (ВГ) в сироватці крові [3].

Результати дослідів наведені в таблицях 1, 2.

Розвиток стресорних пошкоджень у щурів після іммобілізації характеризувався інволюцією тимусу, незначним (статистично невірогідні дані) підвищенням коефіцієнту маси наднирникових залоз (табл. 1), виразним виразкоутворенням у шлунку, а також посиленням процесів ПОЛ та падінням антиоксидантного захисту організму, про що свідчать зміни показників вмісту ТБК-реактантів та ВГ (табл. 2).

Досліджувані засоби в різній мірі запобігали розвитку стресорних пошкоджень. Поллентар та антиоксидант альтан не справляли вірогідного впливу на стан тимусу та надниркових залоз. Фелентар вірогідно запобігав розвитку інволюційних процесів у тимусі, але не справляв вірогідного впливу на масу наднирників. Дія феполену виявилась у зменшенні КМНЗ, що вказує на здатність засобу запобігати активації ГГАС, проте інволюційні процеси в тимусі зберігались (табл. 1). Характеристики вказаних показників є підґрунтям для подальшого дослідження можливих механізмів антистресової дії засобів: фелентару та феполену.

Усі препарати проявили вірогідну протективну дію на розвиток третього компоненту стрес-пошкоджень за Сельє — виразкоутворення у шлунку (табл. 2). Найвиразніший гастропротекторний ефект мали феполен, фелентар та альтан, під впливом яких спостерігали зниження ЧВУ та вірогідне зменшення площі виразок. Поллентар вірогідно зменшував площу виразок та істотно не впливав на показник ЧВУ, що може бути наслідком несприятливої місцевої дії БК на слизову оболонку шлунка при наявному співвідношенні компонентів у засобі.

Враховуючи той факт, що для характеристики стреспротективної дії достатнім є коригувальний

вплив хоча б на один компонент тріади Сельє [3], можна стверджувати, що виучувані препарати проявляють стреспротективну дію.

Вивчення впливу досліджуваних засобів на процесі ліпопероксидації та стан АОС сироватки крові дали нам можливість припустити механізм їх антистресорної дії. Аналізуючи отримані показники, можна констатувати пригнічувальний вплив досліджуваних засобів на інтенсивність ПОЛ, про що свідчить вірогідне зниження вмісту ТБК-реактантів у сироватці крові. Статистично вищі показники вмісту ВГ у сироватці крові дослідних тварин у порівнянні з групою контрольної патології вказують на здатність останніх підвищувати антиоксидантний захист. Найменш активним щодо корекції порушеної системи ПОЛ/АОС був поллентар. Слід відмітити наявність зв'язку між виразністю протективної дії феполену, фелентару та альтану на розвиток такого стресорного пошкодження, як виразкоутворення у шлунку та виразністю коригувального впливу на стан ПОЛ/АОС, що є свідченням важливості антиоксидантного механізму стреспротективної дії досліджуваних засобів.

Отже, на моделі гострого іммобілізаційного стресу у щурів нові комбіновані засоби: феполен, поллентар, фелентар та антиоксидантний препарат "Альтан" проявили стреспротективну дію, запобігаючи розвитку стресорних пошкоджень СОШ.

ВИСНОВКИ

1. Досліджувані засоби: феполен, поллентар, фелентар та антиоксидант альтан при профілактичному введенні проявляють стреспротективну дію, зменшуючи стрес-індуковане пошкодження СОШ.

2. Встановлена важливість антиоксидантних властивостей фармакологічних засобів у реалізації їх стреспротективної дії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Айрапетянц М.Г., Гуляева Н.В. // *Вестник акад. мед. наук СССР*. — М.: Медицина, 1988. — №11. — С. 49-55.
2. Барабой В.А., Брехман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б. *Перекисное окисление и стресс*. — С.Пб., 1992. — С. 132-134.
3. Доклінічні дослідження лікарських засобів: Метод. рекомендації. / За ред. чл.-кор. АМН України О.В. Стефанова. — К.: Авіценна, 2001. — 528 с.
4. Міщенко О.Я., Яковлева Л.В. // *Медицина хімія*. — 2004. — Т. 6, №4. — С. 28-32.
5. Стентон Г. *Медико-биологическая статистика*. — М.: Практика, 1999. — 459 с.
6. Турищев С.Н. // *Фармація*. — 2002. — №6. — С. 44-45.
7. Bagchi D., Hassoun E.A., Bagchi M., Stohs S.J. // *Free Rad. Biol. Med.* — 1993. — №15. — P. 217-222.
8. Bravo L. // *Nutr. Rev.* — 1998. — Vol. 1234, №1. — P. 99-104.
9. *European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*. — Strasbourg: Council of Europe, 1986. — 1986. — №123. — P. 52.
10. Kant C.J., Leu J.R., Andersen S.V., Mongey E.H. // *Physiol. Behav.* — 1987. — Vol.4. — P. 775-779.
11. Nishioka S., Kinoshita H., Takeda H., Okano G. // *Chem. Pharm. Bull.* — 1990. — Vol. 38. — P. 1763-1765.
12. Saija A., Scalese M., Lanza M. et al. // *Free Radicals Biology and Medicine*. — 1995. — Vol. 19, №4. — P. 481-486.
13. Voskresensky O.N., Levitsky A.P., Skiba O.I. et al. *Anti-stress effects regulatory mechanisms of plant adaptogens*. // Тези доп. наук.-практ. конф. "Актуальні питання тканинної терапії та перспективи застосування природних біологічно активних речовин у сучасній медицині", 17-18 вересня 2003 р. — К., 2003. — С. 14.

УДК 615.015.1:638.138.1:547.461.4

ОЦЕНКА СТРЕССПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ НА МОДЕЛИ ОСТРОГО ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

Л.В.Яковлева, О.Я.Мищенко

Проведено изучение стресспротекторного действия новых комбинированных средств адаптогенного действия: поллентара, феполена, фелентара в дозе 25 мг/кг и антиоксиданта альтана в дозе 1 мг/кг на модели острого иммобилизационного стресса у крыс. Установлено, что феполен, поллентар, фелентар и антиоксидантный препарат "Альтан" проявили стресспротекторное действие, достоверно уменьшая развитие стресс-индуцированных повреждений слизистой оболочки желудка. Установлена важность антиоксидантных свойств в реализации стресспротекторного действия средств.

UDC 615.015.1:638.138.1:547.461.4

THE ESTIMATION OF STRESS-PROTECTIVE ACTIVITY OF NEW PHARMACOLOGICAL ADAPTOGENIC SUBSTANCES ON THE MODEL OF ACUTE IMMOBILIZATION STRESS

L.V.Yakovleva, O.Ya.Mishchenko

The study of the stress-protective action of new combined adaptogenic substances: pollentar, fepolen, felentar in the dose of 25 mg/kg and antioxidant drug — altan in the dose of 1 mg/kg on the model of acute immobilization stress in rats has been carried out. Fepolen pollentar, felentar and antioxidant drug altan have been shown to reveal the stress-protective action, significantly reducing the development of stress-induced damages of the mucous membrane of the stomach. The importance of antioxidant properties in realisation of the stress-protective action of drugs has been determined.