

## МЕХАНИЗМЫ ЗАЩИТЫ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЖЕЛУДКА В УСЛОВИЯХ ПРИМЕНЕНИЯ КРИОЭКСТРАКТА ПЛАЦЕНТЫ ПРИ ДИКЛОФЕНАК-ИНДУЦИРОВАННОЙ ГАСТРОПАТИИ

Гладких Ф.В., Чиж Н.А.

*Институт проблем криобиологии и криомедицины  
Национальной академии наук Украины, г. Харьков*

**Ключевые слова:** криоконсервированный экстракт плаценты, нестероидные противовоспалительные препараты, диклофенак натрия, язвенность

**Резюме:** в качестве нового средства профилактики эрозивно-язвенных поражений желудочно-кишечного тракта наше внимание привлек созданный в Институте проблем криобиологии и криомедицины Национальной академии наук Украины (г. Харьков, Украина) биотехнологический препарат – криоконсервированный экстракт плаценты.

**Resume:** as a new means of prevention of erosive-ulcerative lesions of the gastrointestinal tract, our attention was drawn in the Institute of Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine (Kharkiv, Ukraine) biotechnological drug – cryopreserved placenta extract.

**Актуальность.** Нестероидные противовоспалительные препараты (НПВП) ввиду широкого спектра их фармакологических эффектов (жаропонижающий, противовоспалительный, анальгезирующий и др.) причисляют к наиболее часто используемым в медицинской практике. Вместе с тем для этой группы препаратов характерно развитие класс-специфических побочных эффектов со стороны желудочно-кишечного тракта (Асфандиярова Н.С. и соавт., 2020) [5, 6].

Достоверно установлено, что примерно 50,0 % острых желудочно-кишечных кровотечений индуцированы приемом НПВП, вследствие чего потребность в госпитализации возрастает в 6 раз, а летальность – в 2 раза. При приеме НПВП риск эрозивно-язвенных поражений слизистой оболочки желудка и значительно реже двенадцатиперстной кишки повышается в 3,9 раза, а риск кровотечений – в 8 раз. Эрозивно-язвенные повреждения слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки и кровотечения из них ежегодно служат основанием для госпитализации 100–200 тыс. пациентов и причиной 10–20 тыс. летальных исходов (Циммерман Я.С., 2018) [1, 2].

В качестве нового средства профилактики эрозивно-язвенных поражений желудочно-кишечного тракта наше внимание привлек созданный в Институте проблем криобиологии и криомедицины Национальной академии наук Украины (г. Харьков, Украина) биотехнологический препарат – криоконсервированный экстракт плаценты (КЭП) [3, 7].

**Цель:** охарактеризовать механизмы гастропротекторной активности КЭП на модели диклофенак натрия (ДН)-индуцированной гастропатии у крыс.

**Задачи:** 1. Провести макроскопическую оценку состояния слизистой оболочки желудка (СОЖ) у крыс с ДН-индуцированной гастропатией. 2. Охарактеризовать влияние КЭП на активность простагландин (ПГ)-синтазы в СОЖ крыс с ДН-индуцированной гастропатией. 3. Оценить влияние КЭП на содержание

метаболитов оксида азота (NO) в СОЖ крыс с ДН-индуцированной гастропатией.

**Материал и методы.** Исследование проведено на крысах-самцах массой 200–220 г., разделённых на 4 группы: I – интактные крысы (n=7), II группа – крысы с ДН-индуцированной гастропатией (n=7), III группа – крысы с ДН-индуцированной гастропатией, которым в профилактическом режиме внутримышечно вводили КЭП (5 инъекций в течение 5 дней до ДН); IV группа (n=7) – крысы с ДН-индуцированной гастропатией, которым в профилактическом режиме по схеме, аналогичной введению КЭП, внутривенно (в/ж) вводили ингибитор протонной помпы V поколения эзомепразол (ЭЗО, АТ «Актавис», Исландия) в дозе 50 мг/кг (5 инъекций за 5 дней) [10]. Препарат КЭП «Криоцелл-криоекстракт плаценты» согласно инструкции применяется у пациентов парентерально в разовой дозе 1,8 мл. Соответственно разовая доза для крыс составляет:  $(1,8 \text{ мл}/70 \text{ кг}) \times 6,35 = 0,16 \text{ мл/кг}$  массы тела или в соответствии 0,02 мл/100 г массы тела крысы [3, 8].

Острую ДН-индуцированную гастропатию воспроизводили путем однократного в/ж введения крысам ДН (ЧАО "Химфармзавод «Красная звезда»", ООО "Фармацевтическая компания «Здоровье»", Украина) в дозе 50 мг/кг ( $UD_{50} = 48 \text{ мг/кг}$ ) [10]. ДН в таблетированной лекарственной форме измельчали и эмульгировали в воде *pro injectionibus* (ОАО «Галичфарм», Украина) с добавлением полисорбата Twin-80. Эвтаназию животных выполняли через 24 часа после введения ДН. Экстерпированные желудки вскрывали, промывали в 0,9% р-ре NaCl и проводили оценку состояния СОЖ по 5-балльной шкале Яковлевой Л. В.: 0 – отсутствие видимых повреждений; 1 – наличие одного или нескольких признаков из перечня: отек, кровоизлияние(я), язва(ы) диаметром до 1 мм в количестве не более трех; 2 – более трех язв диаметром до 1 мм или одна язва диаметром до 3 мм; 3 – наличие хотя бы одной язвы диаметром до 4 мм; 4 – несколько язв диаметром до 4 мм; 5 – перфоративная язва. [10]. Язвенный индекс (ЯИ) рассчитывали по формуле:  $ЯИ = (\text{Средний бал по шкале Л. В. Яковлевой} \times \% \text{ животных с язвами}) / 100$ .

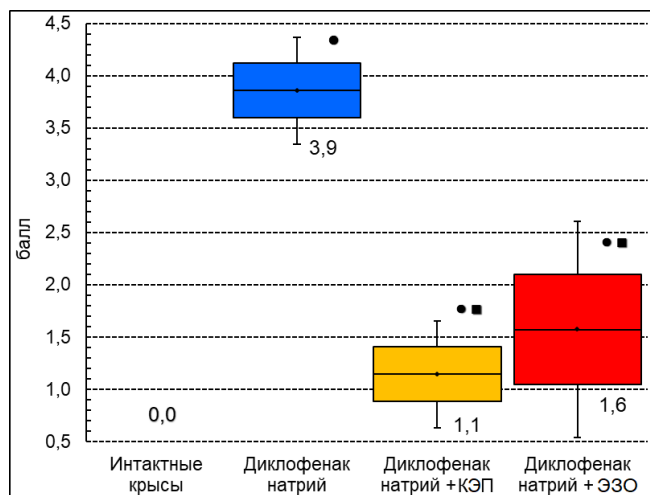
Активность ПГ-синтазы в СОЖ определяли спектрофотометрически по изменению концентрации окисленной формы донора электронов адреналина. Реакцию инициировали добавлением спиртового раствора 0,19 ммоль арахидоновой кислоты и регистрировали через 1 мин по светопоглощению при длине волны  $\lambda = 782 \text{ нм}$ . Активность ПГ-синтазы выражали в мкмоль арахидоновой кислоты, окисленных 1 мг белка за 1 мин – мкмоль / мин / мг белка [4].

Содержание метаболитов NO в СОЖ определялась спектрофотометрическим методом, заключаемым в окислении НАДФН в процессе реакции образования NO из L-аргинина. Уменьшение НАДФН регистрировали по светопоглощению при длине волны  $\lambda = 340 \text{ нм}$ . Активность NO-синтазы выражали в ммоль / г ткани [4].

При нормальном распределении независимых величин различия между группами определяли попарно по t-критерию Стьюдента. При ненормальном распределении по крайней мере одной из групп независимых величин различия между ними определяли попарно по непараметрическому ранговому U – критерию Манна-Уитни (*Mann-Whitney*). Достоверность различий между процентными долями качественных параметров в альтернативной форме определяли по значению F-критерия углового преобразования Фишера (F-test). Для графического

представления данных выбраны диаграммы размаха (*box-and-whiskers diagram* – диаграмма «ящик с усами»)

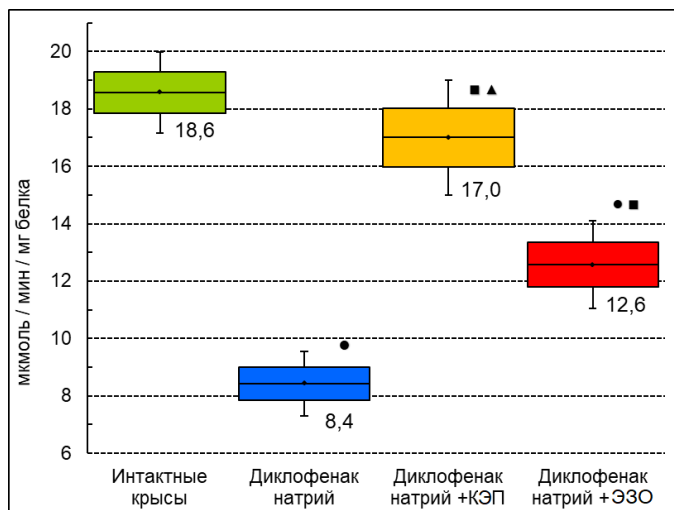
**Результаты и их обсуждение.** Исследование показало, что внутрижелудочное введение крысам ДН в дозе 50 мг/кг приводит к статистически достоверному ( $p < 0,05$ ) развитию язвенных поражений у 100,0 % животных со средним баллом по шкале Л.В. Яковлевой –  $3,9 \pm 0,26$  (рис. 1).



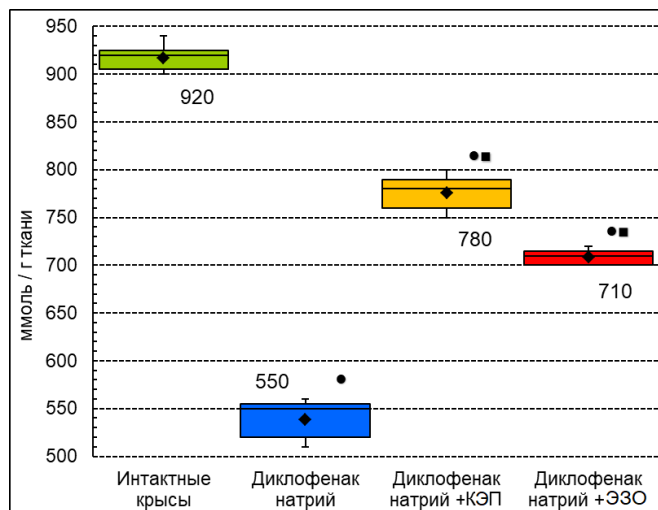
**Рис. 1** – Средний балл макроскопической оценки состояния СОЖ по шкале Л. В. Яковлевой

**Примечание.** Распределение величин нормальное. Боксы включают значение стандартной ошибки среднего арифметического, вертикальные линии за пределами боксов – 95 % доверительный интервал (ДИ). Горизонтальная линия внутри бокса – среднее арифметическое значение; • –  $p < 0,05$  относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией, ■ –  $p < 0,05$  относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией, которым вводили КЭП.

Пятидневное превентивное введение КЭП привело к статистически достоверному ( $p < 0,05$ ) снижению ulcerogenic действия ДН на СОЖ крыс. Так язвенные поражения выявлены лишь у 28,6 % крыс, а ЯИ составил 0,31, что превышало противоязвенную эффективность референс-препарата ЭЗО (ЯИ = 0,46) в 1,5 раза, что вероятнее всего обосновано временным интервалом в 24 часа между последним введением ИПП и введением ДН, что привело к естественному снижению кислотосупрессивного действия ЭЗО, которое было недостаточным для нивелирования ulcerogenic эффекта исследуемого НПВП в течении последующих 24 часов после его введения до эвтаназии животных.



**Рис. 2** – Влияние КЭП и ЭЗО на активность ПГ-синтазы в СОЖ крыс на модели ДН-индуцированной гастропатии



**Рис. 3** – Влияние КЭП и ЭЗО на уровень NO-метаболитов в СОЖ крыс на модели ДН-индуцированной гастропатии

**Примечание к рис. 2.** Распределение величин нормальное. Боксы включают значение стандартной ошибки среднего арифметического, вертикальные линии за пределами боксов – 95 % доверительный интервал. Горизонтальная линия внутри бокса – среднее арифметическое значение; ● –  $p < 0,05$  относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией, ■ –  $p < 0,05$  относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией, которым вводили КЭП; ▲ –  $p < 0,05$  относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией, которым вводили эзомепразол.

**Примечание к рис. 3.** Распределение величин ненормальное. Боксы включают результаты от 25-го до 75-го перцентиля, вертикальные линии за пределами боксов – минимальное и максимальное значение. Горизонтальная линия внутри бокса – медиана ♦ – среднее значение; ● –  $p < 0,05$  относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией, ■ –  $p < 0,05$  относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией, которым вводили КЭП.

Биохимические исследования гомогенатов СОЖ крыс с ДН-индуцированной гастропатией показали, что в числе механизмов ulcerогенного действия исследуемого НПВП можно выделить статистически достоверное ( $p < 0,05$ ) ингибирование активности ПГ-синтазы в 2,2 раза (рис. 2) и снижение содержания вазоактивных метаболитов NO в 1,7 раза (рис. 3) относительно показателей интактных животных, что согласовывалось с литературными данными [2, 5, 9]

Профилактическое применение КЭП привело к статистически достоверному ( $p < 0,05$ ) нивелированию установленных изменений биохимических показателей в гомогенатах СОЖ – активность ПГ-синтаз возросла относительно показателей крыс с ДН-индуцированной гастропатией на 102,3 % и составила  $17,0 \pm 1,2$  (95 % ДИ: 15,0–19,0) мкмоль/мин/мг белка, а содержание метаболитов NO возросло на 41,8 % относительно показателей животных с НПВП-гастропатией без коррекции и составило 780 [700; 715] ммоль/г ткани.

**Выводы:** 1. Проведенное исследование показало, что профилактическое применение криоконсервированного экстракта плаценты приводит к статистически достоверному ( $p < 0,05$ ) ослаблению ulcerогенного действия диклофенака натрия на слизистую оболочку желудка, на что указывало снижение язвенного индекса в

12,5 раз относительно показателей крыс с НПВП-индуцированной гастропатией без коррекции. 2. Одним из механизмов противоязвенной активности криоконсервированного экстракта плаценты является его способность повышать устойчивость слизистой оболочки желудка к действию факторов агрессии путем моделирования активности простагландин-синтазы и поддержания уровня метаболитов оксида азота.

### Литература

1. Гладких Ф. В., Степанюк Н. Г., Вернигородский С. В. Макро- та мікроскопічне дослідження впливу 2-феніл-3 карбетокси-4-диметиламінометил-5-оксибензофурану гідрохлориду (вінборону) на гастротоксичність ібупрофену за умов експериментального ревматоїдного артриту у щурів. *Траєкторія науки: міжнародний електронний науковий журнал = Trajectoriâ Nauki = Path of Science*. – 2017. – № 10. – С. 7001–7018. DOI: <http://dx.doi.org/10.22178/pos.27-8>
2. Гольцев А. Н., ред. Плацента: криоконсервация, клиническое применение. Харьков; 2013. 268 с.
3. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. Москва: МЕДпресс-информ. – 2009. – 896 с.
4. Лазебник Л. Б., Голованова Е. В., Алексеенко С. А., Бакулина Н. В., Барановский А. Ю., Белова Г. В., и др. Рекомендации по профилактике и лечению эзофаго-гастро-энтеро-колопатий, индуцированных нестероидными противовоспалительными препаратами (НПВП). *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2018. – № 151 (3). – С. 4–18.
5. Пасечников В. Д. Механизмы защиты слизистой оболочки желудка и NO-высвобождающие нестероидные противовоспалительные препараты. *Consilium medicum*. – 2013. – № 15 (9). – С. 76–80.
6. Прокопюк В. Ю., Фалько О. В., Мусатова І. Б., Прокопюк О. С., Росенко О. О., Терехова О. О., та ін. Кріоконсервування та низькотемпературне зберігання плацентарних біоб'єктів. *Проблеми кріобіології і кріомедицини*. – 2015. – № 25 (4). – С. 291–310.
7. Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности. *Доклады АН СССР*. – 1979. – № 247 (6). – С. 1513–1516.
8. Степанов Ю. М., Бреславец Ю. С. Вміст синтаз оксиду азоту в слизовій оболонці шлунка та дванадцятипалої кишки у хворих на НПЗЗ-гастропатію. *Сучасна гастроентерологія*. – 2010. – № 6 (56). – С. 11–15.
9. Стефанов О. В., ред. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації. Київ: Авіцена; 2001. – 527 с.