

Вплив густого екстракту подорожника великого на судинно-тканинну проникність шкіри щурів

Л.В.Яковлева, О.П.Маційчук, Є.О.Ковальова, Н.С.Чорна

Національний фармацевтичний університет, Центральна науково-дослідна лабораторія,
Національний медичний університет ім. О.О.Богомольця, кафедра фармакогнозії та ботаніки
Харків, Київ, Україна

Досліджено вплив нового фітозасобу на основі подорожника великого на проникність капілярів шкіри щурів. Встановлено зменшення проникності капілярів та капіляррозміщуючу активність густого екстракту на основі подорожника великого.

Ключові слова: подорожник великий, лікарські рослини, капіляррозміщуюча активність.

ВСТУП

Перехід речовин з крові в міжклітинний простір відбувається через дрібні пори між ендотеліальними клітинами капілярів, а також крізь стоншені ділянки самих клітин. Таким чином, ендотеліальні клітини відіграють роль напівпроникного бар'єра, що відокремлює кров від міжклітинної рідини. Ущільнення капілярних стінок і зменшення кількості функціонуючих капілярів погіршує живлення та дихання прилеглих тканин. Такі порушення капілярної проникності лежать в основі розвитку багатьох патологічних станів. В організмі немає жодного органа, жодної тканини, функціонування яких не залежало б безпосередньо від стану капілярної системи. У даний час визнано, що практично жодне захворювання не обходиться без залучення в патологічний процес різних ділянок капілярного русла. На думку деяких клініцистів і фізіологів, анатомічні та функціональні зміни капілярної системи є одним з основних ознак старіння організму людини і головною причиною супутніх старінню захворювань. Вікове ущільнення стінок капілярів знижує їх проникність, в результаті чого погіршуються умови живлення та дихання тканин, в них за-

тримуються і накопичуються продукти обміну речовин [1].

Метою дослідження було вивчити вплив густого екстракту подорожника великого в порівнянні з референтним препаратом «Подорожника сік» виробництва ВАТ «Лубнифарм» на судинно-тканинну проникність у щурів на тлі розвитку запального процесу різного походження (за методом П.П.Голікова) та на резорбцію мікронабряку, викликаного фізіологічним розчином (проба Мак-Клора-Олдрича).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктом проведених досліджень був густий екстракт подорожника, що містить листя, корені та насіння подорожника великого. Досліджуваній зразок, густий екстракт подорожника, містить переважно полісахариди та флавоноїди, серед останніх переважно визначаються рутин, апігенин, лютеонін. Ефективність зразка оцінювали при співставленні з препаратом порівняння (ПП).

Усі дослідження були проведені на білих безпородних щурах. Утримання тварин відповідало діючим правилам по пристроях, обладнанню та утриманню віваріїв. Тварини отримували стандартне харчування відповідно до діючих норм [1]. З тваринами поводитись згідно з правилами «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (Страсбург, 1986 р). Виведення тварин з експерименту здійснювали під інгаляційним наркозом.

Вивчення впливу густого екстракту подорожника на судинно-тканинну проникність у щурів проводили за методом П.П.Голікова [1]. Експеримент проводили на 35 білих щурах-самцях масою 180-200 г по 7 щурів у групі. Методику відтворювали наступним чином: через 1 год. після останнього введення препаратів відповідно до методики щурів фіксували на операційному

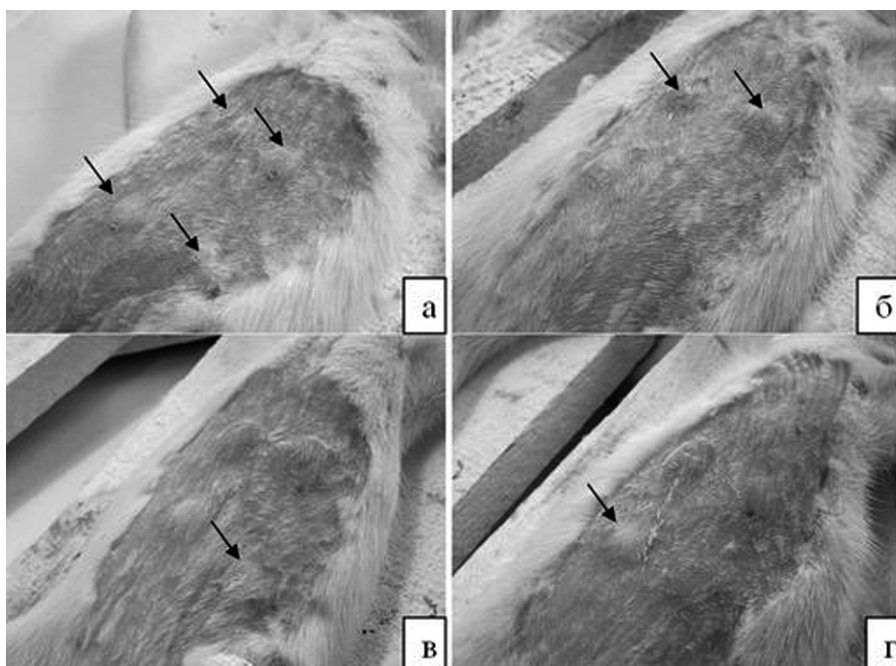


Рис. 1. Профарбовування папул флогогенних агентів (а — відразу після введення, б — першими проявляються папули білка та гістаміну, в — папула ксиліолу, г — папула формаліну).

столі животом догори. На правій задній кінцівці оголювали стегнову вену та в неї вводили 1% розчин синього Еванса з розрахунку 2 мг/кг. Через 10 хв. після внутрішньовенного введення синього Еванса в ділянку живота внутрішньошкірно вводили флогогенні речовини: нерозведений яєчний білок — 0,02 мл, формалін 3% — 0,02 мл, ксиліол — 0,02 мл, гістамін 0,01% — 0,02. Враховували час появи і забарвлення папули, викликаного введенням флогогенних агентів.

Тварини отримували препарати в лікувально-профілактичному режимі протягом двох тижнів. Густий екстракт подорожника вводили в дозах 1,35 мл/кг, 2,7 мл/кг та 4,0 мл/кг. Препарат порівняння «Подорожника сік» виробництва «Лубнифарм» вводили в дозі 2,7 мл/кг, яку перераховували з добової дози для людини за Риболовцевим [1].

У другому тестуванні з метою оцінки впливу препаратів на судинно-тканинну проник-

ТАБЛИЦЯ 1

Вплив густого екстракту подорожника на судинно-тканинну проникність у щурів за методом Голікова, $M \pm m$ ($n=7$)

Експериментальні групи	Дози, мл/кг	Час фарбування папули в секундах при підвищенні судинної проникності різними флогогенними агентами				
		білок	формалін	ІЗПС, %	гістамін	ксиліол
Позитивний контроль	-	87,4±6,2	340,6±13,4	-	102,6±5,6	159,3±8,5
Густий екстракт подорожника	1,35	92,1±2,4	467,4±13,2*	37	114,9±6,2	183,4±3,8
Густий екстракт подорожника	2,7	81,6±6,3	390,6±11,1**	15	101,7±3,4	156,8±10,1
Густий екстракт подорожника	4,0	73,3±5,6	338,4±25,8	-	80,9±5,3*	152,4±5,0
ПП «Подорожника сік»	2,7	77,4±1,7	303,4±19,6	-	107,4±4,8	174,4±11,1

Примітки: * — відмінності статистично значущі відносно групи негативного контролю (критерій Крускала-Уоліса, на рівні значущості $p < 0,05$); ** - відмінності статистично значущі відносно групи негативного контролю (критерій Крускала-Уоліса, на рівні значущості, $p = 0,05$); ІЗПС — індекс зменшення проникності судин.

ТАБЛИЦЯ 2

Вплив густого екстракту на судинно-тканинну проникність шкіри щурів при внутрішньшкірному введенні фізіологічного розчину, $M \pm m$ ($n=7$)

Експериментальна група	Дози, мл/кг	Час зникнення папули, хв.			
		Зникнення чітких країв папули	ІЗПС, %	Повне зникнення папули	ІЗПС, %
Позитивний контроль	-	26,6±1,6	-	54,6±2,4	-
Густий екстракт подорожника	1,35	33,6±3,6 $p=0,074$	26	76,6±1,3 *	40
Густий екстракт подорожника	2,7	38,2±1,6 *	44	71,5±1,9 *	31
Густий екстракт подорожника	4,0	36,8±1,4 *	38	56,8±1,9 **	-
ПП «Подорожника сік»	2,7	41,6±2,1 *	56	71,5±3,2 *	31

Примітки: * — відмінності статистично значущі відносно групи негативного контролю (критерій Ньюмена-Кейлса, на рівні значущості $p < 0,05$); ** — відмінності статистично значущі відносно групи тварин, яким вводили ПП «Подорожника сік» (критерій Ньюмена-Кейлса, на рівні значущості, $p < 0,05$).

ність без участі флогогенних агентів використовували пробу Мак-Клюра-Олдрича (за статтею А.І.Ойвіна), що полягає у вимірі часу розсмоктування папули фізіологічного розчину, який вводять наркотизованим тваринам у ділянку живота в об'ємі 0,2 мл на тварину. Розсмоктування мікронабряку відбувається внаслідок здатності шкіри поглинати воду, залежить від стану структури шкіри та ступеня проникності капілярів. Дана методика характеризує проникність капілярів та спроможність препаратів сприяти зменшенню набряку. Лікування проводили за аналогічною схемою, як на попередньому етапі дослідження, лише відрізнялась тривалість введення препаратів, що складала 4 доби.

Для обох методик розраховували індекс зменшення проникності судин (ІЗПС) препаратів за формулою 1:

$$ІЗПС = \frac{(T_d - T_k) * 100\%}{T_k} \quad (1), \text{ де}$$

T_k — час появи забарвлення у щурів групи негативного контролю, с; T_d — час появи забарвлення у щурів, які отримували зразки (досліджувані тварини), с.

Отримані дані обробляли статистично за методом варіаційної статистики на рівні значущості 0,05 (розраховували середнє та стандартну помилку $M \pm m$). Для отримання статистичних висновків застосовували дисперсійний аналіз (ANOVA), критерій Ньюмена-Кейлса. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0 [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При тестуванні судинно-тканинної проникності у щурів за методом П.П.Голікова [3] спостерігали, що найбільш швидко забарвлювались папули після введення білка та гістаміну. Дещо за менший час розвинулась реакція на введення ксилолу. У той час як формалінова папула забарвлювалась найпізніше (рис. 1). На рис. 1 наведено послідовне забарвлення папул.

Відомо, що різні флогогенні агенти мають відмінні механізми дії на проникність капілярів. Отримані результати підтверджують відомі дані літератури про вираженість дії досліджених флогогенів на проникність капілярів [1]. Флогогенна дія формаліну обумовлена його безпосереднім впливом на ендотелій капілярів, у результаті чого збільшується його можливість пропускати воду і білки плазми. Крім того, формалін відноситься до флогогенів, дія яких повільно розвивається та довго зберігається. На відміну від формаліну, дія гістаміну та білка розвивається швидко. Це обумовлено тим, що вони діють на клітини, вивільняючи медіатори запалення (серотонін, гістамін і кінін), що призводить до гіперпроникності капілярів та, як наслідок, до порушення мікроциркуляції.

Під впливом досліджуваного зразка густого екстракту подорожника, який вводили тваринам у дозі 1,35 мл/кг, продовжується час забарвлення папул порівняно з тваринами групи позитивного контролю, що пов'язано зі зменшенням судинно-тканинної проникності. Найбільш виражено та статистично значуще сповільнюється дія формаліну, що характе-

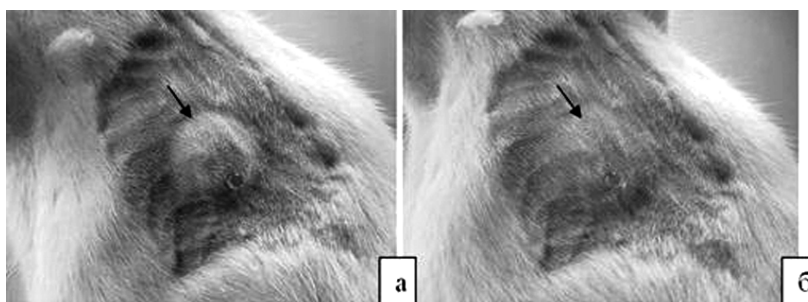


Рис. 2. Всмоктування фізіологічного розчину після внутрішньошкірного введення (а — відразу після введення фізіологічного розчину, б — зникнення чітких країв папули).

ризує захисні властивості стосовно ендотелію мікросудин, менший ефект спостерігався при гістаміновому, білковому та ксиліловому запаленнях, що характеризує дещо менший вплив на проникність капілярів та відновлення мікроциркуляції (табл. 1).

При застосуванні густого екстракту подорожника в дозі 2,7 мл/кг спостерігали ефективність лише відносно формалінового запалення, але менш виражену, ніж при застосуванні дози 1,35 мл/кг. Збільшення дози до рівня 4,0 мл/кг призводило до відсутності ефективності та навіть протилежного ефекту відносно гістамінового запалення. Препарат порівняння «Подорожника сік», який застосовували в дозі 2,7 мл/кг, не впливав на судинно-тканинну проникність.

Враховуючи вищевикладений механізм дії застосованих флогогенів, отримані результати дають можливість припустити, що досліджуваний зразок виявляє захисну дію на ендотелій капілярів та помірно на проникність капілярів та мікроциркуляцію.

На підставі проведеного експерименту можна зробити висновок про те, що густий екстракт подорожника в дозі 1,35 мл/кг має захисний вплив на ендотелій капілярів, помірно зменшує їх проникність та відновлює мікроциркуляцію, виявляє капіляропротекторну дію, яка за вираженістю вірогідно перевершує ПП «Подорожника сік».

На другому етапі дослідження отримані результати вивчення впливу густого екстракту подорожника на швидкість розсмоктування папули фізіологічного розчину, що показали подовження часу збереження папули (табл. 2, рис. 2).

Отже, біофлавоноїди, що містяться в густому екстракті подорожника, здатні зміцнювати стінки капілярів та зменшувати їх проникність.

ВИСНОВКИ

У даному дослідженні встановлено, що досліджуваний зразок у дозі 1,35 мл/кг нормалізує судинно-тканинну проникність у щурів, найбільш виражена активність встановлена відносно флогогенного агента формаліну, що характеризує захисні властивості стосовно ендотелію капілярів. Також у даній дозі встановлено найвищу ефективність при розсмоктуванні папули фізіологічного розчину, яка перевищувала ПП «Подорожника сік». Отже, результати доклінічного дослідження дозволяють зробити висновок про наявність у густому екстракті подорожника капіляророзмінюючої дії, позитивного впливу на судинно-тканинну проникність у щурів, що може стати підставою для подальшого дослідження ефективності за умов експериментальної патології.

ЛІТЕРАТУРА

1. Книга о здоровье: Сборник / Сост.: Ю.В.Махотин, О.В.Карева, Т.Н.Лосева; под ред. Ю.П.Лисицына. — М.: Медицина, 1988. — 512 с.
2. Западнюк М.П. Лабораторные животные. Использование в эксперименте / М.П.Западнюк, В.И.Западнюк, Е.А.Захария. — Киев: Высшая школа, 1983. — 382 с.
3. Голиков П.П. К методике одновременного изучения противовоспалительного эффекта у белых крыс при разных видах воспаления // Фармакология и токсикология. — 1964. — №6. — С. 742-743.
4. Рыболовлев Ю.Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю.Р.Рыболовлев, Р.С.Рыболовлев // Доклады АН СССР. — 1979. — Т. 247. — № 6. — С. 1513-1516.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н.Лапач, А.В.Чубенко, П.Н.Бабич. — 2001. — 320 с.
6. Сигидин А.Я. Лекарственная терапия воспалительного процесса. Экспериментальная и клиническая фармакология противовоспалительных препаратов / А.Я.Сигидин, Г.Я.Шварц, А.П.Арзамасцев, С.С.Либман. — М.: Медицина, 1988. — 240 с.

А.П.Маційчук, Л.В.Яковлева, Е.А.Ковалева, Н.С.Чорна. Влияние густого экстракта подорожника большого на сосудисто-тканевую проницаемость кожи крыс. Харьков, Киев, Украина.

Ключевые слова: подорожник большой, лекарственные растения, капилляроукрепляющая активность.

Исследовано влияние нового фитопрепарата на основе подорожника большого на проницаемость капилляров кожи крыс. Установлено уменьшение проницаемости капилляров и капилляроукрепляющую активность густого экстракта на основе подорожника большого.

A.P.Matsiychuk, L.V.Yakovleva, I.A.Kovaliova, N.S.Chorna. The action of a solid extract of *Plantago major* on the vascular-tissue permeability of the rats skin. Kharkiv, Kyiv, Ukraine.

Key words: *Plantago major*, medicinal plants, capillary resistance activity.

The action of a new plant drug solid extract of *Plantago major* on the capillary permeability of the rats skin. It was established the solid extract of *Plantago major* decrease the capillary permeability and increase the capillary resistance activity.

Надійшла до редакції 28.08.2012 р.