

Изучение фармакологической активности полифенольных соединений в условиях алкогольной интоксикации

Криво́ва А.В.¹, Новиков В.Е.¹, Новиков А.С.¹, Степанова Э.Ф.²

Pharmacological activity of polyphenolic connections in the conditions of alcoholic intoxication

Krikova A.V., Novikov V.Ye., Novikov A.S., Stepanova E.F.

¹ Смоленская государственная медицинская академия, г. Смоленск

² Пятигорская государственная фармацевтическая академия, г. Пятигорск

© Криво́ва А.В., Новиков В.Е., Новиков А.С., Степанова Э.Ф.

В эксперименте показано кардионегативное действие спирта этилового. Повреждающие эффекты можно зафиксировать с помощью биоимпедансометрии, которая является одним из способов оценки состояния клеточных мембран. Отмечено, что показатели биоимпедансометрии коррелируют с наличием морфологических изменений в тканях под воздействием этилового спирта и лекарственных веществ, понижающих лекарственную интоксикацию.

Ключевые слова: спирт этиловый, диосмин, гесперидин, мексидол, цитофлавин, биоимпедансометрия.

In experiment it is shown cardionegative action of spirit ethyl. Damaging effects can be fixed with the help bioimpedansometry which is one of ways of an estimation of a condition of cellular membranes. It is noticed, that indicators bioimpedansometry correlate with presence of morphological changes in fabrics under the influence of ethyl spirit and the medicinal substances lowering a medicinal intoxication.

Key words: spirit ethyl, diosmin, hesperidin, mexidol, citoflavin, bioimpedansometry.

УДК 615.017:547.631.4:613.81.099

Введение

Патогенетическая роль активных форм кислорода (АФК) выявлена для множества заболеваний человека [7]. Изучению роли АФК при различных заболеваниях посвящено много работ обзорного и экспериментального характера. Наибольшую актуальность представляют исследования, в которых изучается повреждающее действие спирта этилового на миокард, поскольку последствия представляют серьезную проблему в жизни современного общества. Многообразные нарушения, развивающиеся в результате алкогольной интоксикации и затрагивающие практически все виды обмена веществ, во многом определяются метаболическими эффектами, непосредственно обусловленными процессами окисления алкоголя [1, 2, 4].

Увеличение интрацеллюлярного содержания НАДН, образование и воздействие токсичного метаболита ацетальдегида, интенсификация процессов свобод-

норадикального окисления липидов биомембран являются наиболее важными повреждающими эффектами, формирующимися на этапах катаболизма этилового спирта [3, 6]. Поскольку основные ферменты окисления этанола и ацетальдегида являются НАД-зависимыми, то при алкогольной интоксикации накапливаются значительные количества НАДН. Рост соотношения НАДН и НАД влечет за собой обширные нарушения окислительно-восстановительных процессов [4]. Электрофизиологические свойства проводящей системы сердца тесно связаны с состоянием перекисного окисления липидов, дисбаланс которого ассоциируется с возрастанием аритмогенной активности миокарда.

Цель работы — оценить электрохимические изменения в сердце крыс и изучить гистоморфологическую картину изменений в миокарде на фоне воздействия этилового спирта, а также провести фармакологическую коррекцию алкогольной интоксикации с помощью полифенольных соединений.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 36 крысах-самках линии Вистар массой 180—200 г. Животные были разбиты на шесть групп, в каждой группе по шесть крыс. Первая группа включала интактных крыс. Животным второй группы вводили 50%-й спирт этиловый интрагастрально в объеме 8 мл/кг массы тела в течение 7 сут. Крыс третьей группы подвергали воздействию спирта этилового (вводили 50%-й спирт интрагастрально в объеме 8 мл/кг массы тела в течение 7 сут) и перорально через 60 мин — раствор диосмина в дозе 30 мг/кг массы тела. Животным четвертой группы вводили интрагастрально спирт этиловый и спустя 1 ч раствор гесперидина в дозе 30 мг/кг массы тела.

Диосмин выделен из травы вики изменчивой, гесперидин — из цедры цитрусовых в Пятигорской государственной фармацевтической академии на кафедре органической химии.

В качестве препаратов сравнения использовали цитофлавин, вводимый в объеме 1,5 мл/кг массы тела однократно внутривентриально (пятая группа животных) и мексидол в дозе 50 мг/кг массы тела перорально на фоне этилового спирта (шестая экспериментальная группа). Выбранные дозы официальных препаратов соответствовали рекомендованным для клинической практики (с пересчетом доз на животных) [2]. Диосмин, гесперидин и препараты позитивного контроля вводили в течение 7 сут.

Перед проведением биоимпедансометрии животных наркотизировали хлоралгидратом (300 мг/кг массы тела внутривентриально) и выполняли торакотомию. Биоимпедансометрию миокарда проводили в области верхушки, для чего вводили электроды из инертного металла в ткань на глубину 1 мм (частота тока 10 кГц, напряжение 1,02 В). Импеданс измеряли трехкратно в разных точках на площади 5 мм² с последующим расчетом его средней величины (Z_{cp}).

После декапитации сердца извлекали из грудной клетки и проводили морфогистологическое ис-

следование. Миокард крыс фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, затем подвергали стандартной гистологической проводке с заливкой в парафин и изготовлением срезов толщиной 5—7 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином. С полученных микропрепаратов изготовлены микрофотограммы, для этого использовалась цифровая видеокамера и программа «Видеотест — морфология 5.0.»

Статистическую обработку результатов производили в соответствии с рекомендациями Р.М. Салимова (2000) [5]. Статистически обработанные данные представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое значение, m — стандартная ошибка среднего. Достоверность различий между средними в различных группах опытов находили при помощи t -критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты экспериментов по регистрации показателей биоимпедансометрии миокарда животных разных групп отражены в таблице.

Установлено что, значение импеданса у крыс с алкогольной интоксикацией достоверно снижалось относительно интактных значений. При введении диосмина на фоне спирта этилового значение импеданса достоверно увеличилось на 27% относительно животных, входящих в группу патологического контроля. При нивелировании алкогольной интоксикации гесперидином значение импеданса было выше значений в среднем на 19,7% ($p < 0,05$) относительно животных группы, которые получали спирт этиловый. Официальный препарат «Цитофлавин» на фоне этилового спирта повышал значение импеданса на 10%. Препарат сравнения «Мексидол» повышал показатели импеданса миокарда экспериментальных крыс на 17,5% ($p < 0,05$) относительно животных, составляющих группу патологического контроля.

Показатели биоимпедансометрии миокарда у экспериментальных животных ($M \pm m$)

Показатель	Группа					
	Интактная	Контрольная (этанол)	Этанол + диосмин	Этанол + гесперидин	Этанол + цитофлавин	Этанол + мексидол
Z_{cp} , Ом	203,30 ± 28,50	159,00 ± 21,82*	202,00 ± 20,66#	190,30 ± 17,48*#	175,30 ± 14,20*#	186,80 ± 19,55*#

Примечание. * — достоверно относительно интактной группы животных; # — достоверно относительно патологического контроля.

При гистоморфологическом исследовании миокарда интактной группы животных установлено, что структура и архитектура сердечной мышцы у интактных крыс не нарушена. Пучки кардиомиоцитов на продольном срезе расположены параллельно, с тончайшими прослойками рыхлой соединительной ткани между ними, содержащими тонкостенные капилляры. Наблюдается нерезкое полнокровие сосудов микроциркуляторного русла. Клетки миокарда цилиндрической формы, с хорошо выраженной поперечной исчерченностью, одинаковы по диаметру на поперечных срезах. Ядра имеют центральное расположение, крупные, овальной формы, с рыхлым хроматином и небольшим количеством ядрышек. Патологических включений в цитоплазме нет. Соотношение мышечной и соединительной ткани в пределах физиологической нормы.

У животных, подвергшихся введению спирта этилового (рис. 1), в макропрепаратах имеется истончение стенки и умеренная дилатация желудочков. Микроскопически имеется нерезко выраженный интерстициальный отек и набухание кардиомиоцитов, мелкие рассеянные очаги некроза с лизисом кардиомиоцитов, выраженная периваскулярная лимфоцитарная инфильтрация. Довольно типичны явления фрагментации кардиомиоцитов, признаки контрактильных сокращений отдельных мышечных волокон.

При введении диосмина на фоне этилового спирта (рис. 2) архитектура миокарда практически не нарушена. Диаметр кардиомиоцитов не изменен, дисконкомплексация не выражена. Имеются единичные очаги фрагментации, мелкие единичные участки с появлением тонких прослоек рыхлой соединительной ткани, преимущественно периваскулярной.

Введение гесперидина на фоне этилового спирта (рис. 3) не вызывало изменения диаметра кардиомиоцитов. Поперечная исчерченность нечеткая. Ядра различной формы, небольшое количество пикнотичных; немного округлых ядер, с мелкозернистым хроматином; основная часть — палочковидные, вытянутые. Имеются небольшие очаги дисконкомплексации мышечных пучков по типу корзинки, часть пучков извитая, волнообразная, с признаками перерастяжения. Характерны участки фрагментации и разрыва волокон, мелкие очаги лейкоцитарной инфильтрации, некротические участки миоцитолитического типа. В участках фрагментации — пролиферация фибробластов с формированием некротических очагов незрелой соединительной ткани и диффузного кардиосклероза.

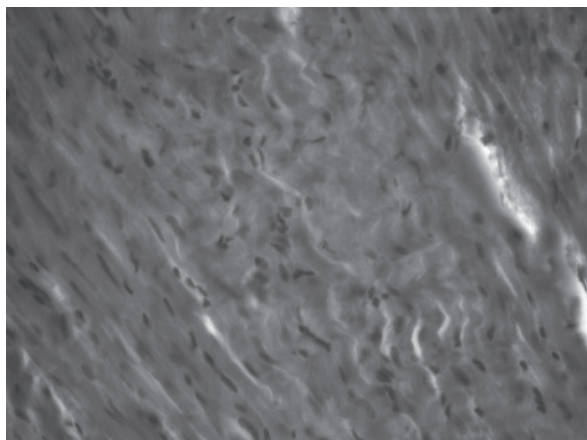


Рис. 1. Гистологический срез миокарда крысы, получавшей спирт этиловый. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400

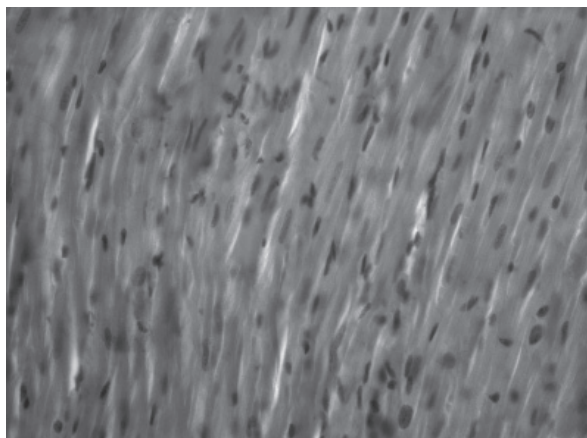


Рис. 2. Гистологический срез миокарда животного, получавшего диосмин на фоне спирта этилового. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400

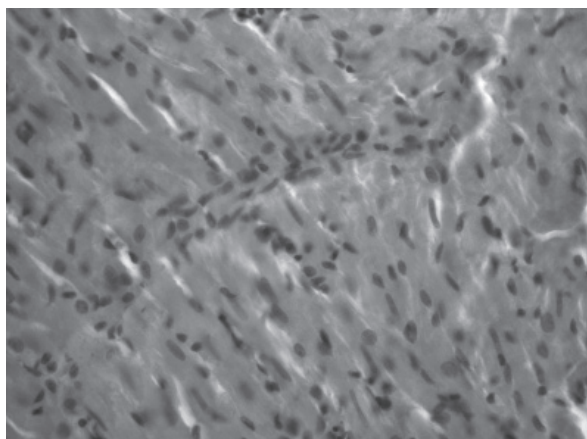


Рис. 3. Гистологический срез миокарда крысы, получавшей гесперидин на фоне спирта этилового. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400

При микроскопическом исследовании миокарда крыс, подвергшихся введению мексидола на фоне этилового спирта, установлено, что диаметр кардиомиоцитов не изменен. Имеются мелкие участки с периваскулярной реакцией фибробластов и единичными лимфоцитами в строме периваскулярно.

У животных, которым вводили цитофлавин на фоне алкогольной интоксикации, диаметр кардиомиоцитов также не изменен. Имеются рассеянные участки фрагментации кардиомиоцитов с поперечными разрывами мышечных пучков, очагами лимфоидно-клеточной инфильтрации и формированием некротических очагов соединительной ткани. Стенки сосудов утолщены за счет увеличения количества (пролиферации) клеток адвентиции.

Как известно, непосредственной причиной внезапной смерти при алкогольной кардиомиопатии являются острые, внезапно возникающие нарушения сердечного ритма с развитием фибрилляции желудочков. В исследовании обнаружено достоверное снижение электрического сопротивления миокарда при токсическом действии этилового спирта.

Учитывая, что параллельно наблюдалось развитие фрагментации кардиомиоцитов и мелких очагов миоцитолитического характера, можно предположить, что изменение электрической сопротивляемости является важным фактором в развитии фибрилляции, так как облегчается распространение волны электрического возбуждения.

Введение лекарственных веществ полифенольной природы диосмина и гесперидина приводит к повыше-

нию показателей импеданса и снижению степени выраженности признаков фибрилляции желудочков сердца и деструктивных изменений кардиомиоцитов.

Заключение

Таким образом, показатели биоимпедансометрии коррелируют с наличием морфологических изменений в тканях под воздействием этилового спирта и лекарственных веществ, понижающих лекарственную интоксикацию.

Литература

1. Билибин Д.П., Дворников В.Е. Патофизиология алкогольной болезни и наркомании. М.: УДН, 1991. 104 с.
2. Горбунов В.В., Говорин А.В., Алексеев С.А. Содержание цитокинов в сыворотке крови больных острым алкогольным поражением сердца // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2006. Т. 5, № 2. С. 64—67.
3. Ерохин Ю.А. Поражение сердца при хронической алкогольной интоксикации // Вестн. новых мед. технологий. 2003. № 4. С. 19—20.
4. Моисеев В.П., Шелетин А.А. Алкоголь и болезни сердца: руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 168 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. В.П. Фисенко. М., 2000. 378 с.
6. Судариков Ю.В., Бакеева А.Е., Цыпенкова В.Г. Деструктивные изменения митохондрий кардиомиоцитов человека при алкогольном поражении сердца // Архив патологии. 1998. № 6. С. 19—23.
7. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведения) СПб.: ЭЛБИ-СПб., 2003. 128 с.

Поступила в редакцию 01.04.2011 г.

Утверждена к печати 01.06.2011 г.

Сведения об авторах

А.В. Крикова — канд. фарм. наук, доцент, зав. кафедрой управления и экономики фармации, соискатель кафедры фармакологии с курсом фармации ФПК и ППС СГМА (г. Смоленск).

В.Е. Новиков — д-р мед. наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии с курсом фармации ФПК и ППС СГМА (г. Смоленск).

А.С. Новиков — канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии СГМА (г. Смоленск).

Э.Ф. Степанова — д-р фарм. наук, профессор кафедры технологии лекарств ПГФА (г. Пятигорск).