

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЙ ЭНТЕРОПРОТЕКЦИИ В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ДИКЛОФЕНАКА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Зорькин М.В.¹, Аткарская О.А.¹

¹ ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», Саранск, Республика Мордовия, Россия (430005, г. Саранск, ул. Большевикская, 68), e-mail: dep-general@adm.mrsu.ru

Проведено исследование энтеропротекторного действия производного 3-оксипиридина (этоксида) и ряда новых производных аминоксановой и ацетилглутаминовой кислот на модели язвенного поражения желудочно-кишечного тракта введением диклофенака. Показано, что наиболее выраженное энтеропротекторное действие в слизистой оболочке тонкой кишки оказали этоксидол и соединение ЛХТ-1-09, достоверно сокращавшие как количество, так и площадь язв, на 60 и 92% и на 51 и 93% соответственно. Соединения ЛХТ-1-05, ЛХТ-1-06, ЛХТ-2-09, ЛХТ-3-09 уменьшали площадь язв в тонкой кишке на 73, 70, 58, 55% соответственно. По антиязвенному эффекту в слизистой оболочке толстой кишки были получены более сходные результаты: ни в одной опытной серии не регистрировалось достоверного уменьшения количества язв, но их площадь снижалась во всех сериях: на фоне введения соединения ЛХТ-1-09 на 82%, этоксида - на 74%, соединения ЛХТ-1-05, ЛХТ-1-06, ЛХТ-3-09, ЛХТ-2-09 - на 70, 69, 67 и 55% соответственно. При этом этоксидол полностью предотвращал развитие кровотечения в тонкой и толстой кишке, а изученные соединения уменьшали количество и площадь язв с гемосидерином. Этоксидол и соединения ЛХТ-1-05, ЛХТ-1-06, ЛХТ-1-09 полностью предотвращали развитие прободных язв.

Ключевые слова: профилактика язвенного поражения тонкой и толстой кишки, этоксидол, производные аминоксановой и ацетилглутаминовой кислот.

PREVENTIVE ENTEROPROTECTION'S PROSPECTS IN THE CONDITIONS OF DICLOFENAC INTRODUCTION IN EXPERIMENT

Zorkin M.V.¹, Atkarskaja O.A.¹

¹FSBGI HPE "Mordovian Ogarev state university", Saransk, Mordovian Republic, Russia (430005, Saransk, Bolshevistkaja street, 68), e-mail: dep-general@adm.mrsu.ru

Research of enteroprotective action of 3-oxypyridine derivative (etoxidol) and a series of new derivatives of aminohexane and acetylglutamine acids is conducted on model of ulcer lesion of gastrointestinal tract induced by diclofenac introduction. It is shown that etoxidol and compound LHT-1-09 possess the greatest gastroprotective activity in small bowel mucosa reliably reducing both quantity, and the area of ulcers on 60% and 92% and by 51% and 93% respectively. Compounds LHT-1-05, LHT-1-06, LHT-2-09, LHT-3-09 reduced the area of ulcers in a small bowel by 73%, 70%, 58%, 55% respectively. On anti-ulcerogenic effect in colon mucosa more similar results were received: reliable decrease of quantity of ulcers wasn't registered in all series, but their area decreased in all series: against introduction of compound of LHT-1-09 for 82%, etoxidol - for 74%, LHT-1-05, LHT-1-06, LHT-3-09, LHT-2-09 - for 70%, 69%, 67% and 55% respectively. At that etoxidol completely prevented bleeding development in small and large intestine, and the studied compounds reduced quantity and the area of ulcers with a hemosiderin. Etoxidol and compounds of LHT-1-05, LHT-1-06, LHT-1-09 completely prevented development of perforated ulcers.

Keywords: prophylaxis of ulcer lasion in small and large intestine, etoxidol, derivatives of aminohexane and acetylglutamine acids.

Введение. Эрозивно-язвенному поражению желудка, как наиболее значимому побочному эффекту, развивающемуся на фоне приема нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП), уделяется в медицинской литературе достаточно большое внимание [2; 4]. Особую актуальность эта проблема приобрела в последнее время в связи с увеличением числа больных с сердечно-сосудистой патологией, с хроническим болевым синдромом, а также с заболеваниями ревматологического профиля, которые нуждаются в длительном приеме противовоспалительных средств [6-10].

Изучены особенности патогенеза и морфологических изменений, в совокупности получивших термин «НПВП-ассоциированная гастродуоденопатия». Однако если поражение желудка, развившееся на фоне приема НПВП, легко диагностируемо, то поражение кишечника зачастую остается вне зоны внимания клиницистов и не всегда диагностируется. Кроме того, если гастропротекторная терапия в условиях воздействия различных ulcerогенных факторов разработана и достаточно подробно описана, то методики, обеспечивающие достаточно эффективный энтеропротекторный эффект, представлены в научной литературе в меньшей степени и касаются в основном лечения неспецифического язвенного колита и болезни Крона.

Поэтому целью данной работы явилось изучение профилактического энтеропротекторного действия производного 3-оксипиридина – этоксида, а также ряда новых производных аминоксановой и N-ацетилглутаминовой кислот в условиях индукции язвенного поражения желудочно-кишечного тракта диклофенаком.

Материалы и методы. Экспериментальные исследования выполнены на 84 белых нелинейных половозрелых крысах обоего пола массой 200-250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария Медицинского института ФГБОУ ВПО «МГУ им. Н.П. Огарева» в соответствии со статьей 11 Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (1964 г.), «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985 г.) и «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации» (приказ МЗ и СР РФ № 708н от 23.08.2010 г.).

В работе исследовалось энтеропротекторное действие 3-оксипиридина малата - (2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина гидроксипуандиоат) – синтезированного на базе Всероссийского научного центра по безопасности биологически активных веществ (ВНЦ БАВ) (Старая Купавна, Россия) (директор Н.М. Митрохин), запатентованного под названием «этоксидол». Этоксидол проявляет мембранопротекторное, антигипоксическое, антиаритмическое и противоишемическое действие [1; 3]. Кроме того, был изучен энтеропротекторный эффект ряда отечественных оригинальных органических соединений, синтезированных в ВНЦ БАВ под руководством заведующей отделом химии и технологии лекарственных средств, лауреата Государственной премии РФ, доктора химических наук, профессора С.Я. Скачиловой: ЛХТ-1-09 (производное N-ацетил-6-аминоксановой кислоты и 3-оксипиридина); ЛХТ-1-06 (производное N-ацетил-6-аминоксановой кислоты и этилтиодиазола); ЛХТ-2-09 (производное N-ацетилглутаминовой кислоты и 3-оксипиридина); ЛХТ-3-09 (цинковая соль N-ацетил-6-аминоксановой кислоты); ЛХТ-1-05 (производное N-ацетил-6-аминоксановой кислоты и лидокаина).

Животным контрольной группы (n=12) вводился диклофенак в дозе 50 мг/кг в/м в течение двух суток. Животные опытных групп в течение 5 суток эксперимента получали внутримышечно один раз в день один из исследованных препаратов или соединений в изомолярных дозах, затем на 5 и 6-е сутки опыта проводились в/м инъекции диклофенака в вышеуказанном режиме. Животные в 1-й опытной группе (n=12) получали в/м этоксидол в дозе 25 мг/кг, во 2-й опытной группе (n=12) – соединение с лабораторным шифром ЛХТ-1-09 в дозе 31 мг/кг, в 3-й опытной группе (n=12) – соединение ЛХТ-3-09 в дозе 41,2 мг/кг, в 4-й опытной группе (n=12) – соединение ЛХТ-1-06 в дозе 30,2 мг/кг, в 5-й опытной группе (n=12) – соединение ЛХТ-2-09 в дозе 32,6 мг/кг, в 6-й опытной группе (n=12) – соединение ЛХТ-1-05 в дозе 41 мг/кг в/м.

Все манипуляции с причинением боли проводились под общим обезболиванием в виде внутривентрального введения тиопентала натрия в дозе 50 мг/кг. Выведение из опыта осуществлялось после исчезновения роговичного рефлекса гильотинным способом. Кишечник вскрывался на всем протяжении. Визуально оценивалось язвенное поражение слизистой оболочки тонкой и толстой кишки по методике Н.Е. Чернеховской с соавт. (2006) [5]. Проводился подсчет количества язв, общей площади язвенного поражения, рассчитывалось количество и площадь язв на 1 см длины тонкой кишки, проводилась оценка количества и площади язв с гемосидерином, количества и площади прободных язв. Сравнивалась доля животных с признаками кровотечения, доля животных с наличием прободных язв, летальность животных в группе.

Полученные данные обрабатывались методами вариационной статистики с использованием программ StatPlus 2009 Professional. Вычисляли среднее арифметическое (M) и среднюю квадратическую ошибку (m), представляя данные в виде $M \pm m$. Для оценки значимости различий двух выборок применяли параметрический (t-критерий Стьюдента) и непараметрические (χ^2 , Фишера) критерии.

Результаты и их обсуждение. В контрольной группе на фоне введения диклофенака летальность животных составила 25%. У выживших животных количество язв в тонкой кишке в среднем на 1 животное составило $86,75 \pm 10,86$, а площадь язвенного поражения – $445,5 \pm 80,9$ мм². При этом у всех животных регистрировались признаки кровотечения. 46% всех язв были с гемосидерином, их общая площадь составила 72% от общей площади язвенного поражения. Прободные язвы в тонкой кишке также регистрировались у всех животных контрольной группы и составили 9,5% по количеству и 5% по площади от общего язвенного поражения тонкой кишки.

В толстой кишке общее количество язв в контрольной группе составило $29,25 \pm 2,22$, а площадь – $320,2 \pm 26,7$ мм². При этом 65% от общего количества и 91% от общей площади язв

были с признаками тромбообразования. У всех животных контрольной группы в толстой кишке, как и в тонкой, регистрировались язвы с гемосидерином. Их количество составило $0,75 \pm 0,25$, площадь - $1,63 \pm 0,53 \text{ мм}^2$

В 1-й опытной группе на фоне предварительного курсового введения этоксида в дозе 25 мг/кг наблюдалось снижение количества язв в тонкой кишке на 60% ($p < 0,05$) и площади язвенного поражения - на 92% ($p < 0,001$) (табл. 1, рис. 1). Ни у одного животного в группе не регистрировалось признаков кровотечения из язв тонкой кишки, не наблюдалось и образования прободных язв ($r=6,129$, $p=0,013$ по χ^2 , $p=0,008$ по критерию Фишера) (рис. 2). В толстой кишке этоксидол в дозе 25 мг/кг снижал общую площадь язвенного поражения на 74% ($p < 0,05$), не влияя на количество язв (рис. 3). При этом ни у одного животного в толстой кишке не было зарегистрировано язв с тромбом, не наблюдалось и признаков кровотечения.

Таблица 1.

Влияние этоксида и производных аминоксановой и ацетилглутаминовой кислот на процессы язвообразования в слизистой оболочке тонкой кишки, индуцированные введением диклофенака ($M \pm m$)

Условия проведения эксперимента	Количество язв			Площадь язв		
	общая на 1 см длины	с гемосидерином (всего)	прободных (всего)	общая (на 1 см)	с гемосидерином (всего)	прободных (всего)
Контроль	$1,356 \pm 0,136$	$40,0 \pm 6,84$	$8,25 \pm 0,88$	$7,307 \pm 1,386$	$318,8 \pm 95,5$	$22,91 \pm 3,06$
Этоксидол 25 мг/кг	$0,537 \pm 0,125$ $p_k < 0,05$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,001$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,001$	$0,577 \pm 0,142$ $p_k < 0,001$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,001$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,001$
ЛХТ 209 32,6 мг/кг	$1,495 \pm 0,359$ $p_k > 0,05$	$15,0 \pm 3,11$ $p_k < 0,05$	$0,25 \pm 0,164$ $p_k < 0,05$	$3,065 \pm 0,8$ $p_k < 0,05$	$40,61 \pm 7,96$ $p_k < 0,05$	$1,375 \pm 1,120$ $p_k < 0,05$
ЛХТ 106 30,2 мг/кг	$1,252 \pm 0,140$ $p_k > 0,05$	$7,875 \pm 3,637$ $p_k < 0,05$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,05$	$2,17 \pm 0,26$ $p_k < 0,05$	$25,25 \pm 10,65$ $p_k < 0,05$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,05$
ЛХТ 309 41,2 мг/кг	$1,452 \pm 0,163$ $p_k > 0,05$	$1,25 \pm 0,56$ $p_k < 0,05$	$4,50 \pm 1,12$ $p_k < 0,05$	$3,300 \pm 0,395$ $p_k < 0,05$	$7,25 \pm 3,10$ $p_k < 0,05$	$22,16 \pm 4,95$ $p_k > 0,05$
ЛХТ 109 31 мг/кг	$0,662 \pm 0,112$ $p_k < 0,05$	$0,25 \pm 0,25$ $p_k < 0,05$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,05$	$0,532 \pm 0,082$ $p_k < 0,05$	$0,563 \pm 0,563$ $p_k < 0,05$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,05$
ЛХТ 105 41 мг/кг	$1,161 \pm 0,196$ $p_k > 0,05$	$21,0 \pm 3,396$ $p_k < 0,05$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,05$	$1,984 \pm 0,136$ $p_k < 0,05$	$40,93 \pm 5,48$ $p_k < 0,05$	$0,0 \pm 0,0$ $p_k < 0,05$

Примечание: p_k - достоверность различия $p < 0,05$ по сравнению с соответствующими данными животных контрольной группы.

Во 2-й опытной группе на фоне введения производного N-ацетил-6-аминоксановой кислоты и лидокаина с лабораторным шифром ЛХТ-1-05 в слизистой оболочке тонкой кишки наблюдалось уменьшение общей площади язвенного поражения в расчете на 1 см длины на 73%, количество язв снижалось не достоверно, составив 85,6% от данных контрольной группы (рис. 1). Не регистрировалось прободных язв. Количество язв с гемосидерином уменьшилось на 47,5%, а их площадь - на 87,2% (рис. 2). В толстой кишке на фоне введения соединения ЛХТ-1-05 в условиях моделирования язвенного поражения введением диклофенака регистрировалось сокращение площади язвенного поражения на

70%, количество язв при этом достоверно не менялось (рис. 3). Количество язв с тромбом уменьшалось на 92%, а их площадь – на 93%.

В тонкой кишке на фоне введения соединения ЛХТ-1-06 наблюдалось уменьшение общей площади язвенного поражения на 1 см длины на 70% ($p < 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Количество язв достоверно не менялось. Ни у одного животного не было зарегистрировано образования прободных язв ($r=6,129$, $p=0,013$ по χ^2 , $p=0,008$ по критерию Фишера). Количество язв с гемосидерином сократилось на 80%, а их площадь – на 92% (рис. 2). При этом в толстой кишке по сравнению с данными контрольной группы достоверно уменьшалась площадь язвенного поражения на 69%, однако при этом возрастало количество язв на 56% (рис. 3). Не регистрировалось ни у одного животного язв с тромбом, не наблюдалось признаков кровотечения.

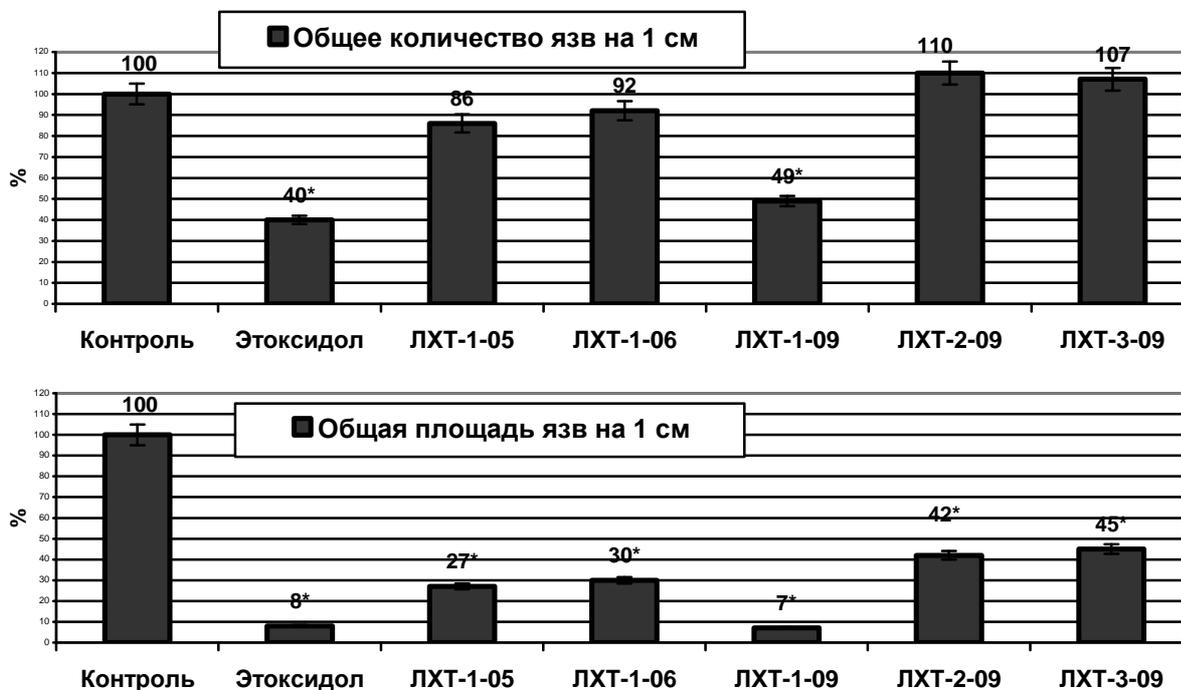


Рис. 1. Влияние этоксида и производных аминоксановой и ацетилглутаминовой кислот на процессы язвообразования в тонкой кишке, индуцированные введением диклофенака 50 мг/кг (в % к данным контроля); * - достоверность различия $p < 0,05$ по отношению к данным контрольной группы.

В 4-й опытной группе, где вводилось производное N-ацетил-6-аминоксановой кислоты и 3-оксипиридина с лабораторным шифром ЛХТ-1-09, в слизистой оболочке тонкой кишки наблюдалось сокращение количества язв на 51% ($p < 0,05$) и уменьшение площади язвенного поражения – на 93% ($p < 0,05$) по сравнению с данными контроля. Не регистрировалось ни у одного животного прободных язв ($r=6,129$, $p=0,013$ по χ^2 , $p=0,008$ по критерию Фишера). Количество язв с гемосидерином сократилось на 99,4% ($p < 0,05$), а их площадь – на 99,8% ($p < 0,05$) (рис. 2).

В толстой кишке на фоне введения соединения ЛХТ-1-09 регистрировалось достоверное снижение общей площади язвенного поражения по сравнению с данными контрольной группы на 82%, количество язв не менялось (рис. 3). Не регистрировалось признаков кровотечения.



Рис. 2. Влияние этиксидола и производных аминокетановой и ацетилглутаминовой кислот на процессы язвообразования в тонкой кишке, индуцированные введением диклофенака 50 мг/кг (в % к данным контроля); * - достоверность различия $p < 0,05$ по отношению к данным контрольной группы.

В 5-й опытной группе на фоне предварительного введения соединения ЛХТ-2-09 площадь язвенного поражения тонкой кишки уменьшалась на 58% ($p < 0,05$). Количество язв достоверно не менялось (рис. 1). Прободные язвы в тонкой кишке были зарегистрированы у 25% животных, однако наблюдалось уменьшение среднего количества и площади прободных язв на 97% ($p < 0,05$) и 94% ($p < 0,05$). Язвы с гемосидерином выявлялись у всех животных данной серии, но при этом сокращалось их количество и площадь на 62% ($p < 0,05$) и 87,3% ($p < 0,05$) соответственно. В толстой кишке на фоне введения соединения ЛХТ-2-09 в условиях моделирования язвенного поражения введением диклофенака наблюдалось уменьшение площади язвенного поражения на 55%, при этом общее количество язв снижалось не достоверно, составив 79% от данных контрольной группы (рис. 3). Не наблюдались язвы с тромбом, не регистрировалось признаки кровотечения.

В тонкой кишке на фоне введения соединения ЛХТ-3-09 общее количество язв достоверно не менялось, но площадь язвенного поражения уменьшилась по сравнению с данными контроля на 55% (рис. 1). Количество прободных язв уменьшилось на 45,5% на

животное, но площадь их не изменилась. Количество язв с гемосидерином уменьшилось на 97%, а их площадь – на 97,7% (рис. 2). В толстой кишке общее количество язв уменьшилось не достоверно, составив 83% от данных контроля, но сократилась площадь язвенного поражения на 67% (рис. 3). Не регистрировалось признаков кровотечения, не наблюдалось образования язв с тромбом.

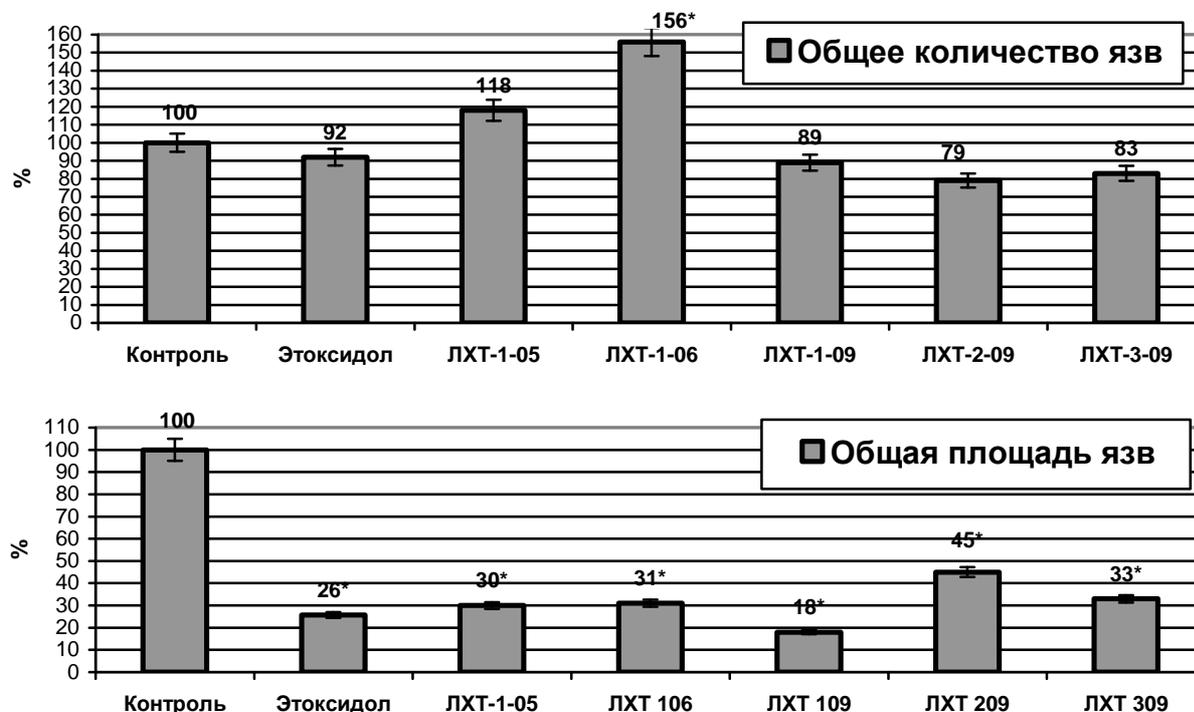


Рис. 3. Влияние этоксидола и производных аминокетановой и ацетилглутаминовой кислот на процессы язвообразования в толстой кишке, индуцированные введением диклофенака 50 мг/кг (в % к данным контрольной группы) * - достоверность различия $p < 0,05$ по отношению к данным контрольной группы.

Наиболее выраженное энтеропротекторное действие в слизистой оболочке тонкой кишки оказали этоксидол и соединение ЛХТ-1-09, достоверно сокращавшие как количество, так и площадь язв, предотвращавшие появление прободных язв в тонкой кишке. При этом этоксидол полностью предотвращал появление язв с гемосидерином. Соединение ЛХТ 309 в значительной степени снижало количество и площадь язв с гемосидерином, но не влияло на площадь прободных язв.

По антиязвенному эффекту в слизистой оболочке толстой кишки были получены более сходные результаты: ни в одной опытной серии не регистрировалось достоверного уменьшения количества язв, но их площадь снижалась везде. При этом достоверных отличий между данными опытных серий не было получено.

Заключение. Таким образом, наиболее выраженное профилактическое энтеропротекторное действие на слизистую оболочку тонкой кишки в условиях индукции

язвенного поражения ЖКТ введением диклофенака оказали этоксидол и соединение с лабораторными шифром ЛХТ-1-09, достоверно сокращавшие как количество, так и площадь язв тонкой кишки, на 60 и 92% и на 51 и 93% соответственно. Соединения ЛХТ-1-05, ЛХТ-1-06, ЛХТ-2-09, ЛХТ-3-09 уменьшали площадь язв в тонкой кишке на 73, 70, 58, 55% соответственно, но не снижали достоверно их количество. По антиульцерогенному эффекту в слизистой оболочке толстой кишки были получены более сходные результаты: ни в одной опытной серии не регистрировалось достоверного уменьшения количества язв, но их площадь снижалась во всех сериях: на фоне введения соединения ЛХТ-1-09 на 82%, этоксида - на 74%, соединения ЛХТ-1-05, ЛХТ-1-06, ЛХТ-3-09, ЛХТ-2-09 - на 70, 69, 67 и 55% соответственно.

При этом этоксидол полностью предотвращал развитие кровотечения в тонкой и толстой кишке, а изученные соединения уменьшали количество и площадь язв с гемосидерином. Этоксидол и соединения ЛХТ-1-05, ЛХТ-1-06, ЛХТ-1-09 полностью предотвращали развитие прободных язв.

Список литературы

1. Блинов Д.С. Мембранные механизмы антиаритмического действия отечественного цитопротектора этоксида // Вестник аритмологии. - 2011. - № 66. - С. 42-45.
2. Каратеев А.Е. Развитие и рецидивирование язв желудка и двенадцатиперстной кишки у больных, принимающих нестероидные противовоспалительные препараты: влияние стандартных факторов риска / Каратеев А.Е., Насонова В.А. // Терапевтический архив. – 2008. – № 5. – С. 62–66.
3. Маркелова И.А. Сравнительный анализ противоишемических и противоаритмических свойств производных 3-оксипиридина и фосфорилуксусной кислоты // Известия вузов. Поволжский регион. Медицинские науки. - 2007. - № 2. - С. 18-23.
4. Пахомова И.Г. НПВП-индуцированные поражения желудочно-кишечного тракта: проблемы, особенности и пути решения // Consilium medicum. Гастроэнтерология. – 2009. – № 2. – С. 71–76.
5. Чернеховская Н.Е. Эндоскопическая диагностика заболеваний пищевода, желудка и тонкой кишки. — М. : МЕДпресс-информ, 2006. — 91 с.
6. Сороцкая Н.В. Желудочно-кишечные осложнения как одна из причин смерти больных ревматическими заболеваниями / Н.В. Сороцкая, А.Е. Каратеев // Научно-практическая ревматология. — 2005. — № 4. — С. 34-37.

7. Clark J.D. Chronic pain prevalence and analgesic prescribing in a general medical population // *J Pain Symp Manag.* - 2002.
8. Fries J. The rise and decline of nonsteroidal anti-inflammatory drug-associated gastropathy in rheumatoid arthritis // *Arthritis Rheum.* — 2004. — Vol. 50. — P. 2433-2440.
9. Lanas A. A nationwide study of mortality associated with hospital admission due to severe gastrointestinal events and those associated with non-steroidal anti-inflammatory drug use / Lanas A., Perez-Aisa M.A., Feu F. // *Am J Gastroenterol.* – 2005. – No 100. – P. 1685–1693.
10. Yeomans N.D. Gastroduodenal toxicity of low-dose acetylsalicylic acid: a comparison with non-steroidal anti-inflammatory drugs // *Curr. Med. Res. Opin.* – 2009. – Vol. 25, No 11. – P. 2785–93.

Рецензенты:

Инчина В.И., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии Медицинского института ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск.

Столярова В.В., д.м.н., профессор, профессор кафедры госпитальной терапии Медицинского института ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет имени Н.П. Огарева», г. Саранск.