

УДК 615.276+615.451.1+582.475

О. Г. ПОПАДИНЕЦЬ, д-р мед. наук, проф.,

А. Р. ГРИЦИК, д-р фарм. наук, проф., Т. П. МАНДЗІЙ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ТА ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ЕКСТРАКТІВ СОСНИ ЗВИЧАЙНОЇ

Ключові слова: протизапальна активність, гостра токсичність, екстракт, сосна звичайна, гістоструктура

O. G. POPADYNETS, A. R. GRYSYK, T. P. MANDZII

SHEI «Ivano-Frankivsk National Medical University»

STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND ACUTE TOXICITY OF COMMON PINE EXTRACTS

Key words: anti-inflammatory activity, acute toxicity, extract, common pine, histostructures

Запалення є основним патогенетичним компонентом більшості захворювань різної етіології та однією з найважливіших проблем загальної патології і клініки, а проблема його фармакологічної корекції, як і раніше, залишається актуальною і до кінця не вирішеною проблемою сучасної медицини [1]. Надмір переокисів ліпідів порушує фізико-хімічну структуру мембран клітин, інгібує їхні ферментні системи, інактивує цитоплазматичні ферменти, знижує активність тіолових ферментів, що призводить до розвитку альтеративних і ексудативних процесів у тканинах. Для фармакологічної корекції запалення традиційно використовують нестероїдні протизапальні засоби. Механізм дії більшості таких препаратів пов'язаний зі здатністю пригнічувати синтез простагландинів шляхом блокади ферментів циклооксигенази (ЦОГ) обох типів – ЦОГ1 і ЦОГ2 [2]. Тому у світі зберігається підвищена зацікавленість у пошуку нових лікарських засобів, можливо з нетрадиційним механізмом дії і, безумовно, з мінімальними побічними ефектами. Перспективними у цьому відношенні є субстанції рослинного походження.

Аналіз літератури дав змогу встановити, що лікарські засоби природного походження чинять різнобічну комплексну дію на перебіг патологічних процесів в організмі [3, 4].

Метою роботи було дослідження гострої токсичності, протизапальної дії сухих екстрактів із листя сосни звичайної.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження здійснювали на щурах. Тварини, яких використовували для дослідження, знаходилися в умовах віварію Івано-Франківського національного медичного університету, їх утримували за вимогами санітарно-гігієнічних норм на стандартному раціоні харчування [5, 6].

Визначення гострої токсичності сухого екстракту листя сосни звичайної виконували згідно з токсикологічною класифікацією Сидорова К. К. (1973 р.) та Прозоровського В. К. та співавт. (1983 р.) [5, 7]. В експерименті були задіяні нелінійні щури обох статей середньою масою тіла 170–192 г. Спостереження за тваринами робили впродовж 14 діб. Дослідженню піддавали сухий екстракт із листя сосни звичайної. Для морфологічного дослідження здійснювали забір органів – серця, печінки, нирок, селезінки, легень.

Підготовку органів до дослідження виконували за загальноприйнятими в морфології методами. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозинном.

Протизапальна ефективність екстрактів із сосни звичайної визначали на моделі запалення лапи щура. Протизапальну ефективність розраховували за формулою:

$$\% \text{ пригнічення запалення} = \frac{V_k - V_0}{V_k} \cdot 100\%$$

де V_k – середнє збільшення об'єму набряклої лапки в контролі;

V_0 – середнє збільшення об'єму набряклої лапки у лікованих тварин.

Результати дослідження обробляли із застосуванням статистичного пакету програми «STATISTICA® for Windows 10.0» (StatSoft Inc.). Оцінювання достовірності відмінностей середніх здійснювали за t-критерієм Стьюдента. Зміни вважали достовірними за $p < 0,05$.

Результати дослідження та обговорення

Лімітуючим показником під час визначення гострої токсичності є максимальна доза п'ятого класу токсичності (практично не токсичні) – 6 000 мг/кг, якщо при цьому не спостерігають загибелі тварин, введення більшої дози, як правило, є недоцільним. Зважаючи на вищезазначене, для дослідження нами була обрана доза екстракту 6 000 мг/кг, яку вводили щурам одноразово перорально.

Після введення екстракту за щурами спостерігали протягом 14 діб та оцінювали загальний стан тварин (летальність, динаміку маси тіла тварин), а після завершення досліду та виведення тварин з експерименту здійснювали макроскопічну оцінку стану внутрішніх органів. З метою диференціювання можливих токсичних ефектів щурів їхній стан порівнювали з групою щурів, яким вводили еквівалентну кількість питної води.

Як свідчать проведені дослідження, після перорального введення екстракту з сосни звичайної в дозі 6 000 мг/кг ознак інтоксикації у щурів не виявлено: тварини були охайними, активними, реагували на звукові і світлові подразники, процеси сечовиділення і дефекації були в нормі, порушення дихання та судом не спостерігали. Рефлекторна збудливість у всіх тварин була збережена. Споживання води та їжі у всіх дослідних щурів не відрізнялося від інтактних тварин. Загибелі тварин протягом всього періоду спостереження не зареєстровано, відбувається збільшення маси тіла (табл. 1).

Т а б л и ц я 1

Результати дослідження гострої токсичності досліджуваного екстракту

Група тварин	Доза, мг/кг	Спостережуваний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі	Маса тіла, г	
			до введення, $\bar{x} \pm \Delta x, n = 6$	після введення, $\bar{x} \pm \Delta x, n = 6$
Інтактні тварини	–	0/6	170,0 ± 2,41	172,0 ± 2,57
Екстракт сосни звичайної	6 000	0/6	190,0 ± 3,22	192,0 ± 3,54

Після закінчення експерименту через 14 діб було виконано розтин тварин. Поверхня печінки, нирок та надниркових залоз гладенька. Колір, форма, розмір органів звичайні. Підшлункова залоза сірувато-рожевого кольору. Селезінка повнокровна, пружна.

Слизова оболонка шлунка з вираженим рельєфом складок. Слизова оболонка кишки не змінена. У грудній порожнині всі органи розташовані анатомічно правильно.

М'яз серця на розрізі темно-червоний, легені повітряні, листки плеври не змінені. З боку внутрішніх органів тварин патологічних змін не спостерігали.

Мікроморфологічна будова печінки на 7 добу збережена (рис. 1, А). Більшість центральних вен переповнені кров'ю, синусоїдні гемокапіляри розширені, інфільтровані. Гепатоцити набряклі, поліморфні, подекуди невеликих розмірів із маленькими ядрами, а місцями ядра непомітні або гіперхромні. Простори Діссе розширені. Щодо стромального компоненту, то сполучнотканинні тяжі пронизують паренхіму, оточуючи розширені порталні тракти. Периваскулярно виявляється багато лімфоцитів, фібробластів.

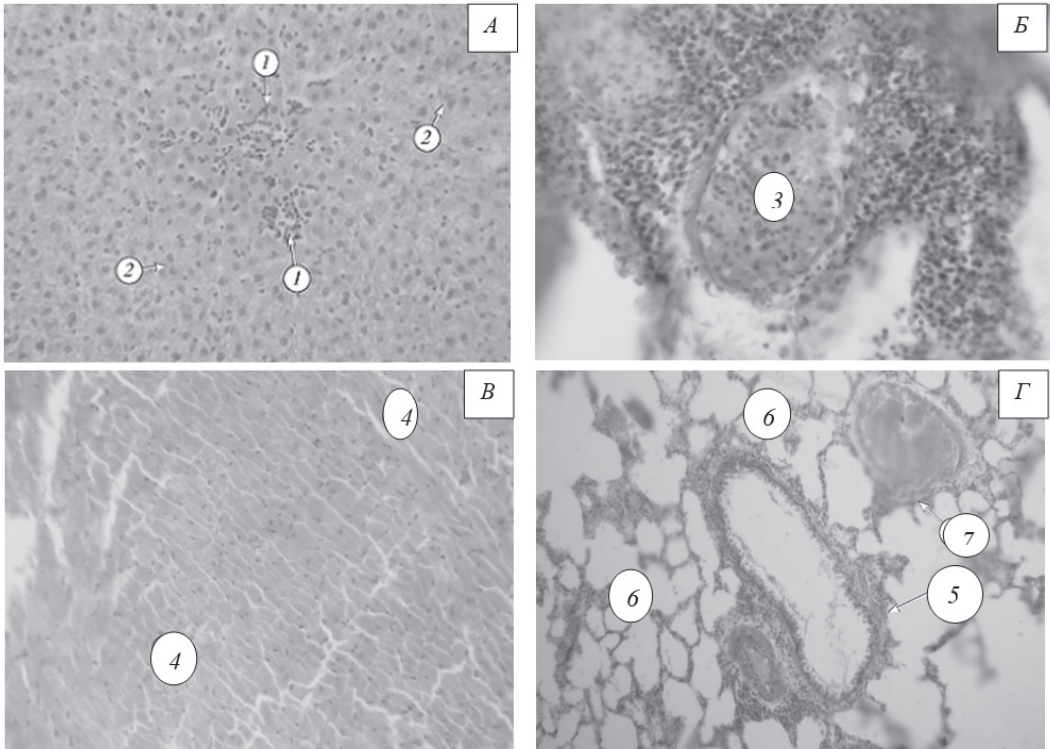


Рис. 1. Гістологічне дослідження тканин на 7 добу експерименту:

А – гістоструктура печінки щура (1 – лейкоцити в синусоїдних гемокапілярах, 2 – гепатоцити); Б – гістоструктура селезінки щура (3 – повнокровна судина); В – гістоструктура серця щура (4 – кардіоміоцити); Г – гістоструктура легень (5 – стінка бронхіоли, 6 – просвіт альвеоли, 7 – інфільтрована стінка судини). Зб. х400

Стромальний компонент селезінки дещо набряклий (рис. 1, Б). Лімфатичні вузлики з характерними гермінативними центрами не виявляються, межі між періартеріальною та маргінальною зонами нечіткі. У червоній пульпі та селезінкових тяжках дифузні невеликі конгломерати лімфоцитів. Стінка центральних артерій потовщена, їхній просвіт звужений. Пульпарні судини гіперемовані.

Під час дослідження морфофункціонального стану серця (рис. 1, В) світлооптично виявляється позитивна тенденція у зменшенні набряково-інфільтративних явищ: кардіоміоцити більш рівномірно забарвлюються в рожевий колір із базofilним ядром, чіткіше візуалізується поперечна посмугованість, стромальний компонент без особливостей.

У легенях домінують гемодинамічні розлади у вигляді повнокров'я, явищ стазу і сладжу еритроцитів у судинах гемомікроциркуляторного русла, що зумовлює незначно виражений інтерстиційний та інтраальвеолярний набряк (рис. 1, Г). Спо-

стерігаються ділянки дис- та ателектазів, що чергуються з емфіземою, скупченням альвеолярних макрофагів, запальні серозно-десквамативні вогнища.

Через 14 діб після аплікації структура нирки наближена до норми (рис. 2, А). Ниркові тільця чітко візуалізуються. Тубулярний компонент представлений системою каналців із добре вираженим просвітом. Їхні епітеліоцити мають округлої форми базофільні ядра та еозинофільно забарвлену цитоплазму.

Печінка має типову для шурів будову (рис. 2, Б). Печінкова часточка нечітко виражена. Гепатоцити округло-полігональної форми, мають велике ядро з ядерцями, утворюють тяжі, які галузяться і сходяться до центральної вени. Синусоїдні гемокапіляри добре візуалізуються, в них помітні формені елементи крові. Гепатоцити центролобулярної та перипортальної зон печінкової часточки не відрізняються за своєю будовою.

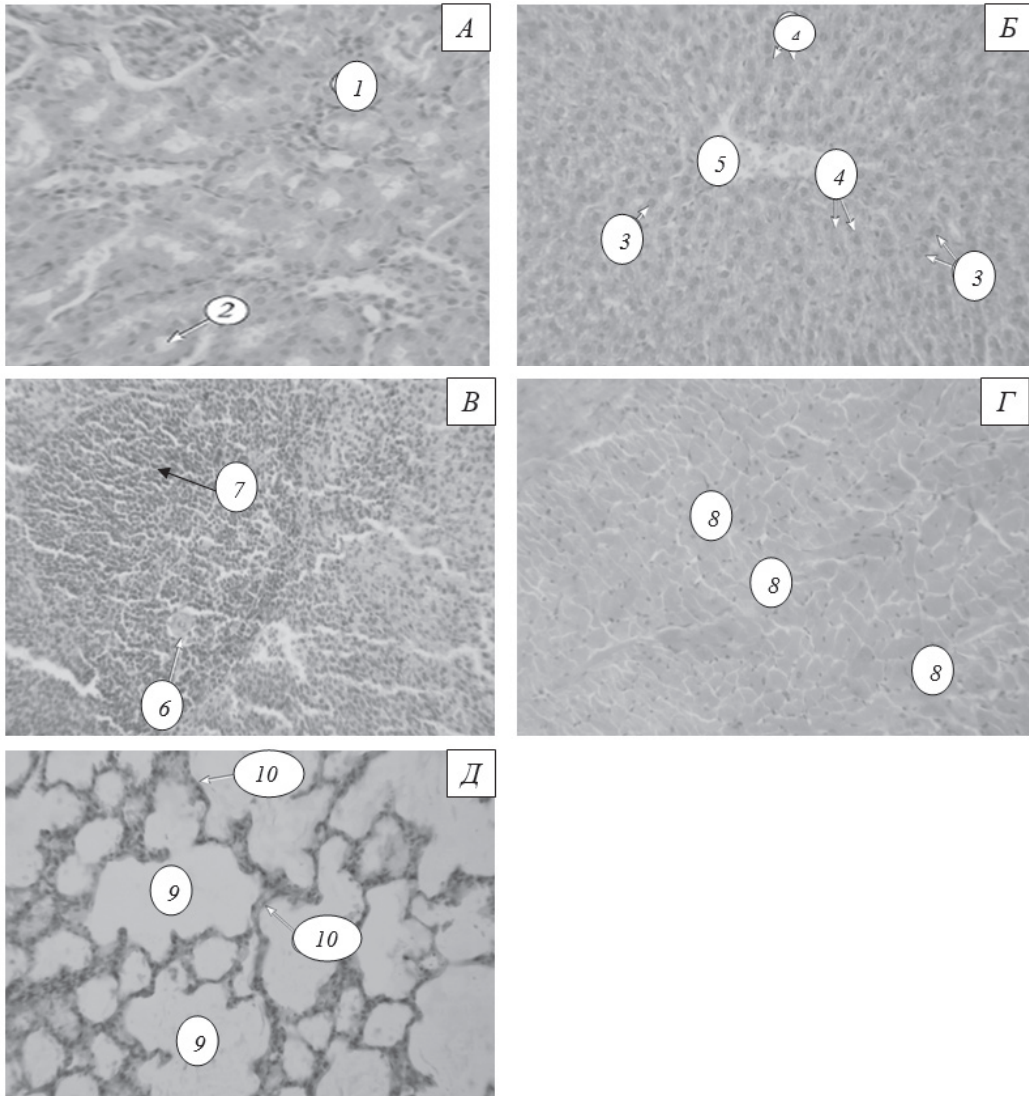


Рис. 2. Гістологічне дослідження тканин на 14 добу експерименту:

А – гістоструктура нирки (1 – епітеліоцити каналців, 2 – просвіт), Б – гістоструктура печінки шура (3 – ядро гепатоцита, 4 – печінкові пластинки, 5 – центральна вена), В – гістоструктура селезінки шура (6 – центральна артерія, 7 – лімфатичні фолікули), Г – гістоструктура серця шура (8 – збережена гістоструктура кардіоміоцитів), Д – гістоструктура легень шура (9 – просвіт альвеоли, 10 – стінка альвеоли).

Забарвлення: гематоксилін і еозин. Зб. х400

Гістоархітектоніка селезінки не відрізняється від норми (рис. 2, В). Капсула тонка, компактна. Чітко прослідковується біла та червона пульпа. Біла пульпа представлена періартеріальними півхами. Періартеріальна зона переважає маргінальну. Лімфатичні вузлики з характерними гермінативними центрами поодинокі. У більшості з них гермінативні центри невеликі і нечітко окреслені. Синуси червоної пульпи повнокровні. Центральні артерії зі звуженим деформованим просвітом, їхня стінка дещо потовщена. У просвіті трабекулярних судин помітне скупчення лейкоцитів.

У серці кардіоміоцити більш рівномірно забарвлюються в рожевий колір із базофільним ядром; чіткіше візуалізується поперечна посмугованість (рис. 2, Г).

У легенях на цьому етапі дослідження патологічних змін немає (рис. 2, Д). Стінка альвеол має притаманну в нормі будову, просвіт чітко окреслений. Судинний компонент збережений.

Таким чином, комплекс досліджень із вивчення гострої токсичності екстракту сосни звичайної дав змогу встановити відсутність його токсичної дії за одноразового внутрішньошлункового введення в дозі 6 000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К. К. Сидорова (1973 р.) екстракт листя сосни звичайної за внутрішньошлункового введення належить до V класу токсичності – практично нетоксичні.

Результати дослідження приросту об'єму лапи та антиексудативної активності екстрактів сосни звичайної на моделі запалення лапи шура наведено в табл. 2.

Т а б л и ц я 2

Приріст об'єму лапи тварин та антиексудативна активність пригнічення екстрактів сосни звичайної

№ групи	Об'єкт дослідження**	Приріст об'єму лапи, %, $\bar{x} \pm \Delta x$, n = 6		
		через 1 год	через 3 год	через 5 год
1	СЗ-0	110 ± 1,61*	121 ± 1,77*	133 ± 2,25*
2	СЗ	101 ± 1,99*	113 ± 1,44*	126 ± 2,73*
3	Контроль	113 ± 1,93	126 ± 1,61	139 ± 1,93
Антиексудативна активність пригнічення екстрактів сосни звичайної				
№ групи	Назва препарату	Показник пригнічення запальної реакції, %		
		через 1 год	через 3 год	через 5 год
5	СЗ-0	7,2	9,5	11,3
6	СЗ	4,4	5,9	6,5
7	Контроль	4,9	5,3	5,8

Примітки. * – достовірність відхилень відносно контрольної групи ($p \leq 0,05$);

** СЗ-0 – екстракт водний із сосни звичайної, СЗ – екстракт спиртовий із сосни звичайної.

Отже, проведені дослідження (табл. 2) свідчать, що найвищу протизапальну активність виявляє водноспиртовий екстракт сосни звичайної, який пригнічує запальну реакцію на 5 год на 6,5%.

Висновки

1. Результати вивчення гострої токсичності сухого екстракту листя сосни звичайної ($LD_{50} > 6000$ мг/кг) дають змогу віднести цей екстракт за загальноприйнятою класифікацією токсичності сполук К. К. Сидорова до п'ятого класу – практично нетоксичні.

2. Під час гістологічних досліджень було встановлено, що поверхня печінки, нирок та надниркових залоз гладенька. Колір, форма, розмір органів звичайний. Підшлункова залоза сірувато-рожевого кольору. Селезінка повнокровна, пружна. Слизова оболонка шлунка з вираженим рельєфом складок. Слизова оболонка кишки не змінена. У грудній порожнині всі органи розташовані анатомічно правильно. М'яз серця на розрізі темно-червоний, легені повітряні, листки плеври не змінені. Гісто-структура внутрішніх органів збережена.

3. Найвищу протизапальну активність виявляє водноспиртовий екстракт сосни звичайної, який пригнічує запальну реакцію на 5 год на 6,5%.

Список використаної літератури

1. Серова В. В. Воспаление: руководство для врачей. – М.: Медицина, 1995. – 640 с.
2. Хохлова К. О., Вишневська Л. І., Набока О. І. та ін. Фармакологічне вивчення протизапальної активності і гострої токсичності настойки складної «Атерофіт-норма» // Укр. мед. альманах. – 2012. – Т. 15, № 5. – С. 60–62.
3. Кортиков В. Н., Кортиков А. Н. Справочник лекарственных растений. – Ростов-на-Дону: Изд. дом «Проф-Пресс», 2004. – 800 с.
4. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А. М. Гродзінський. – К.: Голов. ред. УРЕ, 1990. – 544 с.
5. Сидоров К. О. Классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения // Токсикол. новых пром. хим. веществ. – 1973. – Вып. 13. – С. 47–51.
6. Страчунский, Л. С., Козлов С. Н. Нестероидные противовоспалительные средства: монография. 2-е изд., доп. – Смоленск, 1997. – 70 с.
7. Прозоровский В. К., Пчелинцев С. П. Табличный метод определения минимальной токсической дозы // Фармакол. токсикол. – 1983. – № 6. – С. 91–94.

Надійшла до редакції 27 серпня 3017 року.

О. Г. Попадинец, А. Р. Грицьок, Т. П. Мандзий

ГВУЗ «Івано-Франковський національний медичинський університет»

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ ЭКСТРАКТОВ СОСНЫ ОБЫКНОВЕННОЙ

Ключевые слова: противовоспалительная активность, острая токсичность, экстракт, сосна обыкновенная, гистоструктуры

АННОТАЦИЯ

Для фармакологической коррекции воспаления традиционно используют нестероидные противовоспалительные средства. Механизм действия большинства таких препаратов связан со способностью подавлять синтез простагландинов путем блокады ферментов циклооксигеназы. Поэтому в мире сохраняется повышенная заинтересованность в поиске новых лекарственных средств, возможно с нетрадиционным механизмом действия и, безусловно, с минимальными побочными эффектами. Перспективны в этом отношении субстанции растительного происхождения – экстракта сосны обыкновенной.

Объекты исследования: экстракт водный из сосны обыкновенной, экстракт спиртовой (70%) из сосны обыкновенной. Определена токсичность сухого экстракта сосны обыкновенной в соответствии с токсикологической классификацией Сидорова К. К. (1973 г.). Экспериментальные исследования острой ток-

сичности проводили согласно методике Прозоровского В. К. и соавт. (1983 г.). В эксперименте были использованы нелинейные крысы обоих полов. Наблюдение за животными проводили в течение 14 суток. Экстракт сосны обыкновенной можно отнести к пятому классу – практически нетоксичны. Противовоспалительную эффективность экстрактов сосны обыкновенной определяли на модели воспаления лапы крысы. Для морфологического исследования проводили забор органов: сердца, печени, почек, селезенки и легких. Подготовку органов к исследованию осуществляли по общепринятым в морфологии методам. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Результаты исследования обрабатывали с применением статистического пакета программы «STATISTICA® for Windows 10.0» (StatSoft Inc.). Оценку достоверности различий средних проводили по t-критерию Стьюдента. Изменения считали достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты изучения острой токсичности сухого экстракта листьев сосны обыкновенной ($LD_{50} > 6\ 000$ мг/кг) позволили отнести этот экстракт по общепринятой классификации токсичности К. К. Сидорова к пятому классу – практически нетоксичны. При проведении гистологических исследований было установлено, что поверхность печени, почек и надпочечников гладкая. Цвет, форма, размер органов обычный. Поджелудочная железа серовато-розового цвета. Селезенка полнокровная, упругая. Слизистая оболочка желудка с выраженным рельефом складок. Слизистая оболочка кишки не изменена. В грудной полости все органы размещены анатомически правильно. Мышца сердца на разрезе темно-красная, легкие воздушные, листки плевры не изменены. Гистоструктуры внутренних органов сохранены. Самую высокую противовоспалительную активность проявляет водно-спиртовой экстракт сосны обыкновенной, который подавляет воспалительную реакцию через 5 ч на 6,5%.

O. G. Popadynets, A. R. Grycyk, T. P. Mandzii

SHEI «Ivano-Frankivsk National Medical University»

STUDY OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND ACUTE TOXICITY OF COMMON PINE EXTRACTS

Key words: anti-inflammatory activity, acute toxicity, extract, common pine, histostructures

A B S T R A C T

For pharmacological correction of inflammation, non-steroidal anti-inflammatory drugs are traditionally used. The mechanism of action of most of these drugs is related to the ability to suppress the synthesis of prostaglandins by blockade of cyclooxygenase enzymes. Because the world is saved increased interest in finding new drugs, possibly with unconventional mechanism of action and, of course, with minimal side effects. Perspective in this respect are substances of vegetable origin - pine extracts of ordinary.

Objects of the study: water extract from pine sylvestris, alcohol extract (70%) from pine sylvestris. Acute toxicity of dry extract of common pine was determined according to toxicological classification of Sydorov K. K. (1973). Experimental research of acute toxicity was performed according to the method of Prozorovskii V. K. and co-authors (1983). Nonlinear rats of both sexes were involved in the experiment. Observation of the animals was conducted during 14 days. According to the results of research the extract of common pine is classified as the substance of the 5-th toxic class practically

non-toxic. The anti-inflammatory activity of common pine extracts was determined on the model of inflammation of the rat paw. For morphological studies were carried fence organs: heart, liver, kidneys, spleen and lungs. Preparation of organs for the research was performed according to the generally accepted in morphology. Sections were stained with hematoxylin and eosin. Research results were processed using the statistical package of program «STATISTICA® for Windows 10.0» (StatSoft Inc.). The estimation of authenticity of differences of average value was conducted using the Student's t- criterion. Changes were considered reliable at $p \leq 0.05$.

The results of the study of acute toxicity of dry extract of Scots pine ($LD_{50} > 6\ 000$ mg/kg). Allowed to carry this extract, according to the generally accepted classification of K. Sidorov's toxicity to the fifth grade - practically non-toxic. When conducting histological studies it was found that the surface of the liver, kidneys and adrenals is smooth. Color, shape, size of organs is normal. Pancreas is grayish-pink in color. The spleen is full-blooded, supple. Slime shell of the stomach with a pronounced relief of the folds. The intestinal mucosa is unchanged. In the thoracic cavity, all the organs of sowing are anatomically correct. The heart muscle on the incision is dark red, the airway sheets of the pleura are not changed. The highest anti-inflammatory activity was shown is manifested by the water-alcoholic extract of common pine, which suppressed the inflammatory reaction on 6,5% after 5 hours.

Електронна адреса для листування з авторами: tarasdgr@rambler.ru