

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ГОРЕЧАВКИ ХОЛОДНОЙ НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ

Александр Гаврилович Мондодоев^{1,2*}, Сергей Тихонович Кохан³, Пётр Петрович Коновалов⁴,
Лариса Николаевна Шантанова¹, Линар Анасович Ахметьянов⁵

¹Институт общей и экспериментальной биологии, г. Улан-Удэ,

²Бурятский филиал научного центра «Проблем здоровья семьи и репродукции человека», г. Улан-Удэ,

³Забайкальский государственный университет, г. Чита,

⁴354-й окружной военный клинический госпиталь,

⁵361-й окружной военный клинический госпиталь

Реферат

Цель. Оценка фармакотерапевтической эффективности сухого экстракта из надземной части горечавки холодной при экспериментальной бронхопневмонии сочетанной этиологии.

Методы. Опыты проведены на 32 белых крысах линии Wistar с массой тела 180–200 г, разделённых на четыре группы, по 8 животных в каждой. Бронхопневмонию воспроизводили ингаляцией дихлофоса с последующим нанесением на слизистую оболочку ротоглотки культуры *Staphylococcus aureus* (титр 1 млрд/мл). Крысам опытной группы внутривенно вводили экстракт горечавки холодной в дозе 200 мг/кг в течение 7 дней. Крысам контрольной группы вводили дистиллированную воду в аналогичном объёме по указанной схеме. В качестве препарата сравнения использовали алантон в дозе 40 мг, обладающий муколитическим, противовоспалительным и антибактериальным действием (группа сравнения). Четвёртую группу составили интактные животные. Течение заболевания оценивали по клиническим признакам, показателям периферической крови, парциальному давлению O₂ и CO₂ в крови, данным гистологического исследования, а также по интенсивности процессов свободнорадикального окисления и активности ферментов антиоксидантной системы.

Результаты. Курсовое введение экстракта горечавки холодной в дозе 200 мг/кг на фоне бронхопневмонии сопровождалось снижением смертности животных, тяжести клинической картины, уменьшением частоты дыхательных движений. Также отмечено статистически значимое снижение скорости оседания эритроцитов и выраженности лейкоцитоза, свидетельствующее о противовоспалительном действии экстракта. Зарегистрировано повышение газообменной функции лёгких, на что указывает нормализация парциального давления дыхательных газов в артериальной крови. Эффективность экстракта горечавки холодной по указанным параметрам превосходила таковую у препарата сравнения — алантона. Противовоспалительные свойства испытуемого фитоэкстракта обусловлены ингибированием процессов свободнорадикального окисления, о чём свидетельствуют достоверное уменьшение концентрации продуктов пероксидации (малонового диальдегида, диеновых конъюгат) и повышение активности ферментов антиоксидантной защиты организма (супероксиддисмутазы и каталазы).

Вывод. Сухой экстракт горечавки холодной в дозе 200 мг/кг обладает выраженной фармакотерапевтической эффективностью при острой экспериментальной бронхопневмонии, способствуя нормализации морфофункционального состояния органов дыхания лабораторных животных на более ранних стадиях патологического процесса.

Ключевые слова: экспериментальная пневмония, сухой экстракт горечавки холодной.

INFLUENCE OF DRY EXTRACT OF GENTIANA ALGIDA ON CLINICAL COURSE OF EXPERIMENTAL PNEUMONIA A.G. Mondodoev^{1,2}, S.T. Kokhan³, P.V. Kononov⁴, L.N. Shantanova¹, L.A. Akhmetyanov⁵. *Institute of General and Experimental Biology, Ulan-Ude, Russia, ²Buryat Branch of «Problems of Family Health and Human Reproduction» Scientific Center, Ulan-Ude, Russia, ³Zabaikalsky State University, Chita, Russia, ⁴District Military Clinical Hospital No 354, Russia, ⁵District Military Clinical Hospital No 361, Russia.* **Aim.** To assess the effect of dry extract of *Gentiana algida* in experimental bronchopneumonia of combined etiology. **Methods.** The experiments were conducted on 32 white Wistar rats (body weight of 180–200 g). The animals were divided in 4 groups, 8 animals each. Bronchopneumonia was caused by dichlorvos inhalations followed by pharyngeal contamination by *Staphylococcus aureus* (1 bln/ml). Dry extract of *Gentiana algida* was given intragastrically at a dose of 200 mg/kg once a day for 7 days to the study group rats. Control group rats received distilled water with the same regimen. Comparison group rats received 40 mg of alantanon known as a mucolytic, anti-inflammatory and antibacterial agent. The fourth group consisted of intact animals. The clinical course of the disease was assessed according to the clinical symptoms, peripheral blood count, O₂ and CO₂ partial blood pressure, lung tissue histological examination and lipid peroxidation processes intensity and antioxidant enzymes activity. **Results.** Treatment of experimental bronchopneumonia by dry extract of *Gentiana algida* at a dose of 200 mg/kg was associated with lower mortality, less severe clinical course, lower respiratory rate. Also, a statistically significant erythrocyte sedimentation rate and white blood cells count decrease was noted, indicating the anti-inflammatory effect of the extract. Partial arterial blood pressure of respiratory gases has normalized, indicating the lung ventilation improvement. The effect of dry extract of *Gentiana algida* according to the noted parameters was superior to alantanon used as a comparison drug. Anti-inflammatory effect of the tested plant extract might be a result of lipid peroxidation inhibition, confirmed by statistically significant decrease of the peroxidation products (malonic dialdehyde and conjugated dienes) and increase of antioxidant protection enzymes (superoxide dismutase and catalase) activity. **Conclusion.** Dry extract of *Gentiana algida* at a dose of 200 mg/kg has a positive effect in treatment of acute experimental bronchopneumonia, promoting the respiratory organs morphologic and functional status normalization in laboratory animals at the earlier stages of the disease. **Keywords:** experimental pneumonia, *Gentiana algida* dry extract.

Актуальность поиска путей повышения эффективности фармакотерапии заболеваний органов дыхания определяется их широкой распространённостью, ростом количества больных в общей структуре заболеваемости и высокой частотой неблагоприятных исходов. Так, в Российской Федерации в 2006 г. было зарегистрировано 385,5 случаев внебольничной пневмонии на 100 тыс. населения, а смертность от пневмонии составила 31 случай на 100 тыс. населения [7]. В США ежегодно диагностируют 5–6 млн случаев внебольничных пневмоний, из которых более 1 млн требуют госпитализации [9].

В настоящее время установлено, что один из основных молекулярно-клеточных механизмов патогенеза многих заболеваний, в том числе воспалительных заболеваний органов дыхания, — активация реакций свободнорадикального окисления биомакромолекул со снижением активности эндогенной антиоксидантной системы, что сопровождается снижением иммунитета, его клеточных и гуморальных механизмов защиты органов дыхания [3, 4]. Также известно, что бактериальное влияние на альвеолярные макрофаги приводит к генерации активных кислородных метаболитов, что индуцирует повреждение эндотелия сосудов лёгких [10].

Вышесказанное определяет проблему поиска новых эффективных средств, оказывающих мультифакторное влияние на патогенетические механизмы развития воспалительных заболеваний лёгких. Перспективное направление — исследование наследия традиционной тибетской медицины, обладающей широким арсеналом лекарственных средств природного происхождения, прошедших многовековую эмпирическую апробацию. Высокая фармакотерапевтическая эффективность тибетских средств обусловлена гармоничным сочетанием биологически активных веществ, не только обеспечивающих адекватное воздействие на основные звенья патологического процесса, но и способствующих фармакологической регуляции функциональных систем, повышающих адаптивные возможности организма в целом. Одно из растений, наиболее часто применяемых в тибетской медицине для лечения воспалительных заболеваний лёгких, — горечавка холодная (*Gentiana algida* Pall.), представляющая собой многолетнее травянистое растение, произрастающее в горных и арктических районах Западной и Восточной Сибири. Горечавка холодная содержит широкий спектр биологически активных веществ: флавоноиды, иридоиды, тритерпеноиды, ксантоны, стероиды и др. [5]. Нами разработан способ получения сухого экстракта из надземной части растения, включающий двукратную экстракцию 60% этанолом с ультразвуковой обработкой, концентрирование и вакуумную сушку.

Целью настоящей работы была оценка фармакотерапевтической эффективности сухого экстракта из надземной части горечавки холодной при экспериментальной бронхопневмонии смешанной этиологии.

Эксперименты проведены на 32 крысах линии Wistar с массой тела 180–200 г обоего пола с соблюдением международных правил и норм обращения с лабораторными животными. Животные были разделены на четыре группы, по 8 крыс в каждой. Модель бронхопневмонии сочетанной этиологии воспроизводили ингаляционным методом с последующим инфицированием бактериальным агентом. Для этого белых крыс помещали на 5 мин в герметичную камеру объёмом 7,5 дм³ с содержанием в воздухе 2 г дихлофоса в виде аэрозоля. Через 1 сут на слизистую оболочку ротоглотки животных наносили 0,2 мл свежей культуры *Staphylococcus aureus* (титр 1 млрд/мл) [6]. Животным опытной группы внутрижелудочно вводили водный раствор экстракта горечавки в дозе 200 мг/кг в объёме 1 мл/100 г 1 раз в сутки в течение 7 дней, начиная с первого дня эксперимента. Крысам контрольной группы вводили дистиллированную воду в аналогичном объёме по указанной схеме. В качестве препарата сравнения использовали алантон в дозе 40 мг, обладающий муколитическим, противовоспалительным и антибактериальным действием (группа сравнения). Четвёртую группу составили интактные животные. На 7-е сутки животных выводили из эксперимента методом мгновенной декапитации под лёгким эфирным наркозом. Для оценки влияния испытуемого средства на течение острой бронхопневмонии наблюдали за клинической картиной заболевания, определяли частоту дыхательных движений, морфологические показатели периферической крови и скорость оседания эритроцитов. В артериальной крови с использованием газового анализатора «Eshweller» (Германия) определяли парциальное давление O₂ и CO₂, проводили патоморфологическое исследование дыхательных путей и лёгких животных. Для оценки интенсивности процессов свободнорадикального окисления и состояния антиоксидантной системы в сыворотке крови определяли концентрацию продуктов пероксидации: малонового диальдегида и диеновых конъюгатов, а также супероксиддисмутазы и каталазы. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием критерия Манна-Уитни, различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

Установлено, что развитие острой бронхопневмонии у животных характеризовалось тяжёлым течением и смертностью животных (из 8 крыс контрольной группы на 7-е сутки 2 погибли). Клиническая картина заболевания проявлялась в виде снижения двигательной активности животных, отказа от пищи и развития выраженной дыхательной недостаточности. В частности, частота дыхательных движений у крыс контрольной группы увеличивалась почти на 50% по сравнению с данными интактных крыс (до 173,1 в минуту при норме 117,8 в минуту). В опытной группе крыс, получавших экстракт горечавки холодной в указанной дозе, смертность не зарегистрирована, а признаки дыхательной не-

Таблица 1

Влияние сухого экстракта горечавки холодной на парциальное давление O_2 (pO_2) и CO_2 (pCO_2) в крови животных при острой бронхопневмонии сочетанной этиологии (7-е сутки наблюдения)

Группы животных	Парциальное давление газов в крови, мм рт.ст.	
	pO_2	pCO_2
Интактная, n=8	94,7±3,19	38,1±4,86
Контрольная, n=8 (пневмония + H_2O)	64,7±4,85	59,6±3,45
Опытная, n=8 (пневмония + экстракт горечавки)	82,6±3,76*	48,7±2,86*
Группа сравнения, n=8 (пневмония + алантон)	68,4±3,65	54,4±2,38

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с данными крыс контрольной группы.

достаточности были менее выражены по сравнению с животными контрольной группы: частота дыхательных движений у крыс этой группы составила 134,0 в минуту против 173,1 в контроле (различия статистически значимы, $p < 0,05$).

Развитие острой бронхопневмонии сопровождается существенными нарушениями газообменной функции лёгких (табл. 1). У животных опытной группы, получавших испытуемое средство, парциальное давление дыхательных газов статистически значимо отличалось от данных крыс контрольной группы и приближалось к значениям физиологической нормы: pO_2 было на 28% больше, а pCO_2 — на 20% ниже, чем в контроле ($p < 0,05$). При этом эффективность экстракта горечавки холодной по показателям влияния на дыхательную функцию превосходила такую у препарата сравнения — алантона.

трофилов и снижением доли лимфоцитов. Установлено, что сухой экстракт горечавки холодной оказывал противовоспалительное действие. У животных опытной группы отмечено снижение скорости оседания эритроцитов на 27% по сравнению с контролем, а также статистически значимое снижение количества лейкоцитов в крови на 17% (16,2% — в опытной группе, 19,6% — в контрольной), палочкоядерных нейтрофилов — на 35% (6,6 и 10,2% соответственно), увеличение количества лимфоцитов на 19% (59,0 до 49,3% соответственно).

Развитие патологического процесса в лёгких сопровождалось значимой активацией процессов свободнорадикального окисления и угнетением эндогенной антиоксидантной системы (табл. 2). Курсовое введение экстракта горечавки холодной животным опытной группы оказывало выраженное антиоксидантное действие, о чём свидетельствует снижение концентрации продуктов перекисидации: малонового диальдегида и диеновых конъюгатов соответственно на 20 и 26% по сравнению с аналогичными данными животных контрольной группы. Наряду с этим на фоне введения испытуемого фитоэкстракта отмечено повышение активности ферментов антиоксидантной защиты в крови (супероксиддисмутазы — на 25%, каталазы — на 17%) по сравнению с показателями в контрольной группе. При этом антиоксидантная активность экстракта горечавки холодной была выше, чем у препарата сравнения алантона.

При гистологическом исследовании органов дыхания животных контрольной группы выявлена характерная картина бронхопневмонии, на что указывают инфильтрация слизистой оболочки бронхов и бронхиол клеточными элементами, развитие дегенеративных явлений в эпителиоцитах, их гибель и слущивание, уве-

Таблица 2

Влияние сухого экстракта горечавки холодной на содержание продуктов свободнорадикального окисления и активность антиоксидантной системы в сыворотке крови при острой бронхопневмонии сочетанной этиологии у белых крыс (7-е сутки наблюдения)

Группы животных	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Диеновые конъюгаты, усл. ед.	Супероксиддисмутазы, мкмоль/л в минуту	Каталаза, мкат/л
Интактная, n=8	7,4±0,47	3,6±0,42	21,1±1,01	8,8±0,29
Контрольная, n=8 (пневмония + H_2O)	10,5±0,48	6,6±0,74	17,2±0,23	6,3±0,60
Опытная, n=8 (пневмония + экстракт горечавки холодной)	8,2±0,46*	4,9±0,62*	21,4±1,07*	7,4±0,52
Группа сравнения, n=8 (пневмония + алантон)	9,8±0,45	5,2±0,53	19,2±0,52	6,6±0,48

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с данными крыс контрольной группы.

Данные клинического анализа периферической крови крыс показали развитие острой воспалительной реакции, о чём свидетельствуют повышение скорости оседания эритроцитов и выраженный лейкоцитоз с преимущественным увеличением количества палочкоядерных ней-

личение количества бокаловидных клеток и их гипертрофия, развитие сосудистых нарушений в виде полнокровия и отёка с многочисленными кровоизлияниями. В ткани лёгкого отмечена лимфоплазмочитарная инфильтрация с единичными эозинофилами и множеством макрофагов.

Альвеолы были расширены, заполнены экссудатом, межальвеолярные перегородки утолщены и инфильтрованы. Описанные изменения носили очаговый характер. У животных опытной группы, получавших испытуемый фитозэкстракт, выраженность альтеративно-экссудативных изменений в тканях была значительной меньше, чем у крыс контрольной группы. Кроме того, у крыс контрольной группы в большей степени присутствовали изменения пролиферативного характера, сопровождающиеся метаплазией и склерозом. Гистологическая картина у животных, получавших препарат сравнения алантон, мало отличалась от таковой у крыс контрольной группы.

Учитывая раннее полученные нами данные о наличии у испытуемого экстракта выраженных иммуномодулирующих свойств [8], очевидно, что реализация его противовоспалительного действия связана со способностью активировать все звенья иммунного ответа организма в ответ на инфицирование дыхательных путей микробным агентом. Установлено, что молекулярно-клеточный механизм противовоспалительного действия экстракта горечавки холодной — его способность ингибировать процессы свободно-радикального окисления, индукция которых представляет собой универсальный механизм повреждения клеток на уровне мембран [4]. Наличие антиоксидантных свойств у испытуемого фитозэкстракта обеспечивается его способностью повышать мощность эндогенной антиоксидантной системы организма, а также за счёт прямого радикал-перехватывающего действия веществ фенольной природы, входящих в его состав, для которых характерны указанные свойства [1, 2].

ВЫВОДЫ

1. Сухой экстракт горечавки холодной при его интрагастральном введении лабораторным животным в дозе 200 мг/кг проявил выраженную фармакотерапевтическую эффективность

при повреждениях верхних дыхательных путей и лёгких, способствуя нормализации морфофункционального состояния органов дыхания на ранних стадиях патологического процесса.

2. Применение экстракта горечавки холодной на фоне повреждений органов дыхания сопровождается улучшением газообменной функции лёгких и снижением проявлений воспалительной реакции, что способствует снижению тяжести клинической картины экспериментальной пневмонии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Барабой В.А., Сутковой Д.А. Окислительно-антиокислительный гомеостаз в норме и патологии. — Киев: Наук. думка, 1997. — 420 с.
2. Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения. — М.: Наука, 2001. — Т. 3. — 216 с.
3. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Г. Лолора-младшего., Т. Фишера, Д. Адельмана. — М.: Практика, 2000. — 806 с.
4. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К., Ланкин В.З. и др. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания. — Новосибирск: АРГА, 2008. — 284 с.
5. Растительные ресурсы России: дикорастущие цветковые растения, их компонентный состав и биологическая активность / Под ред. А.Л. Буданцева. — М.: КМК, 2011. — Т. 4. — 630 с.
6. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. — М.: Медицина, 2005. — 398 с.
7. Синопальников А.И., Козлов Р.С. Внебольничные инфекции дыхательных путей: диагностика и лечение. — М.: М-Вести, 2008. — 168 с.
8. Хобракова В.Б. Перспективы использования средств растительного происхождения для коррекции иммунодефицитов // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. — 2010. — №3. — С. 278–280.
9. Чучалин А.Г., Синопальников А.И., Страчунский Л.С. Пневмония. — М.: МИА, 2006. — 287 с.
10. Miller R.A., Britigan B. Protease-cleaved iron-transferrin augments oxidant-mediated endothelial cell injury via hydroxyl radical formation // J. Clin. Invest. — 1995. — Vol. 6. — P. 2491–2500.