

DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-71-75

УДК 615.8

Морфофункциональная оценка гастропротективного действия экстракта сухого *Ferulopsis hystrix* (Bunge) Pimenov при нейрогенной язве

Салчак С. М.^{1,2}, Разуваева Я. Г.¹, Торопова А. А.¹, Аракчаа К. Д.²

¹ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН», Улан-Удэ

² ГБУ «НИИ медико-социальных проблем и управления Республики Тыва», Кызыл

Morphofunctional estimation of the gastroprotective activity of the *Ferulopsis hystrix* dry extract in neurogenic ulcer

S. M. Salchak^{1,2}, Ya. G. Razuvaeva¹, A. A. Toropova¹, K. D. Arakchaa²

¹ Institute of General and Experimental Biology, Ulan-Ude

² Scientific research Institute of medical-social problems and management of the Republic of Tuva, Kyzyl, Russia

Для цитирования: Салчак С. М., Разуваева Я. Г., Торопова А. А., Аракчаа К. Д. Морфофункциональная оценка гастропротективного действия экстракта сухого *Ferulopsis hystrix* (Bunge) Pimenov при нейрогенной язве. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2020;175(3): 71–75. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-71-75

For citation: Salchak S. M., Razuvaeva Ya. G., Toropova A. A., Arakchaa K. D. Morphofunctional estimation of the gastroprotective activity of the *Ferulopsis hystrix* dry extract in neurogenic ulcer. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2020;175(3): 71–75. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-175-3-71-75

Салчак Сайзана Михайловна, лаборатория безопасности биологически активных веществ, аспирант; отдел аржаанологии, санаторно-курортного дела и народной медицины, научный сотрудник

Разуваева Янина Геннадьевна, лаборатория безопасности биологически активных веществ, старший научный сотрудник, доктор биологических наук

Торопова Анюта Алексеевна, лаборатория безопасности биологически активных веществ, научный сотрудник, кандидат биологических наук

Аракчаа Кара-кыс Донгаковна, директор, кандидат химических наук

Sayzana M. Salchak, Laboratory of safety of biological active substances, Post-graduate Student;

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6244-9506>; eLibrary SPIN: 8464-0818

Yanina G. Razuvaeva, Laboratory of safety of biological active substances, Senior Research Office, Doctor of Biological Sciences; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7829-1424>; eLibrary SPIN: 8338-9336

Anyuta A. Toropova, Laboratory of safety of biological active substances, Research Officer, Candidate of Biological Sciences; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2618-7777>; eLibrary SPIN: 4457-1872

Kara-kys D. Arakchaa, Director, Candidate of Chemical Sciences; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-5128-8898>; eLibrary SPIN: 7712-7510

✉ Corresponding author:

Салчак Сайзана Михайловна

Sayzana M. Salchak

tatur75@mail.ru

Резюме

Цель исследования: морфофункциональная оценка гастропротективной активности экстракта сухого из корней и корневищ *Ferulopsis hystrix* при нейрогенной язве.

Материалы и методы. Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar*. Нейрогенную язву моделировали 24-часовой иммобилизацией животных. Гастропротективное действие *F. hystrix* оценивали по значению индекса Паулса, который рассчитывали для кровоизлияний, эрозий и полосовидных язв, а также по морфометрическим показателям (глубина эрозий) слизистой оболочки желудка. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов характеризовали по содержанию малонового диальдегида (МДА), состояние антиоксидантной системы — по активности каталазы, супероксиддисмутазы и содержанию восстановленного глутатиона.

Результаты. Установлено, что экстракт *F. hystrix* в дозах 100 и 150 мг/кг способствует ограничению развития деструкций в слизистой оболочке желудка на фоне нейрогенной язвы, уменьшая глубину эрозий на 43% и 80%. Экстракт *F. hystrix* в указанных дозах снижал концентрацию МДА в среднем на 37%, повышал активность каталазы — в 2,0 раза, содержание ВГ — в 2,6 раза, активность СОД — в 3,8 и 2,8 раза соответственно.

Вывод: *Ferulopsis hystrix* обладает гастропротективным влиянием при нейрогенной язве.

Ключевые слова: *Ferulopsis hystrix* (Bunge) Pimenov, гастропротективное действие, антиоксидантное действие, нейрогенная язва

Summary

The purpose of the research: morphofunctional estimation of the gastroprotective activity of the dry extract from the roots and rhizomes of *Ferulopsis hystrix* in neurogenic ulcer.

Materials and methods: The studies were carried out on white *Wistar* rats. The neurogenic ulcer was simulated by 24-hour immobilization of the animals. The gastroprotective effect of *Ferulopsis hystrix* was estimated taking into account the Pauls' index which was calculated for bleedings, erosions and strip-like ulcers as well as taking into account the morphometric indices (the depth of erosions) of the stomach mucosa. The intensity of lipid free radical oxidation processes was estimated by malonic dialdehyde content (MDA); the state of the antioxidant system was estimated by the activity of catalase, superoxide dismutase and the reduced glutathione content.

Results. The *Ferulopsis hystrix* extract in the doses of 100 and 150 mg/kg reduces the depth of erosions by 43% and 80% respectively, thus promoting the diminishment of destructive processes in the stomach mucosa against the background of neurogenic ulcer. The *Ferulopsis hystrix* extract in the given doses decreased the MDA content by 37% on average; the catalase activity was twofold increased; the reduced glutathione increases 2.6 times and SOD activity — 3.8 and 2.8 times respectively.

Conclusion. *Ferulopsis hystrix* has the gastroprotective effect in neurogenic ulcer.

Keywords: *Ferulopsis hystrix* (Bunge) Pimenov, gastroprotective effect, antioxidant effect, neurogenic ulcer

Эрозивно-язвенные поражения желудка и двенадцатиперстной кишки в связи с широкой распространенностью среди трудоспособного населения являются важной медико-социальной проблемой. Одним из этиологических факторов развития данной патологии являются стрессорные воздействия различной природы. Стрессорные факторы приводят к усилению активности свободно-радикального окисления в желудочной стенке, что проявляется существенным увеличением перекисеобразования и появлением в слизистой желудка кровоизлияний, острых эрозий и язв [1].

Особый интерес в лечении язвенной болезни желудка представляет феруловидка щетинистая (*Ferulopsis hystrix* (Bunge) Pimenov), широко применяющаяся в народной и традиционной медицинах в качестве противоопухолевого, антикоагулирующего, желчегонного, спазмолитического и бактериостатического средства [2].

В корнях и корневищах *Ferulopsis hystrix* содержатся кумарины, эфирные масла, жирные кислоты, флавоноиды, углеводы, микроэлементы и др. Центральное место в фармакологической активности *Ferulopsis hystrix* занимают кумарины, суммарное содержание которых в подземной части достигает 3,9–4,6% [2, 3]. Кумарины являются эффективными противовирусными, антибактериальными и антифунгальными средствами [4], обладают противовоспалительной [5] и антиоксидантной [6] активностью. В экспериментах на животных установлен выраженный гастропротективный эффект природных и синтетических кумаринов [7].

Цель работы: морфофункциональная оценка гастропротективной активности экстракта сухого *Ferulopsis hystrix* при нейрогенной язве.

Материалы и методы исследования

Исследования выполнены на 40 белых крысах линии *Wistar* обоего пола с исходной массой 160–180 г. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199Н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Перед началом экспериментов животных, отвечающих критериям включения в эксперимент, распределяли на группы с учетом принципа рандомизации. Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986 г.). Протокол исследования согласован с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (№ 4 от 26.01.2017).

Животные были разделены на 5 групп: интактная, контрольная и I–III опытные. Животным I–III опытных групп в течение 7 дней до моделирования стресс-индуцированного состояния вводили

внутрижелудочно экстракт сухой из корней и корневищ *Ferulopsis hystrix* в дозах 50, 100 и 150 мг/кг соответственно. Крысы интактной и контрольной групп получали очищенную воду в эквивалентном объеме по аналогичной схеме введения. Нейрогенные язвы воспроизводили с помощью 24-часовой иммобилизации животных в положении на спине [8]. Животных интактной группы стрессовому воздействию не подвергали.

Через 24 часа после иммобилизации проводили оценку гастропротективного действия исследуемого средства. Для этого определяли деструкции в слизистой оболочке желудка (СОЖ), которые подразделяли на эрозии (до 5 мм) и полосовидные язвы (более 5 мм). Для каждого вида повреждений подсчитывали индекс Паулса (ИП) [8]. Для проведения патоморфологических исследований материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, срезы окрашивали гематоксилин-эозином.

Морфометрические исследования проводили с помощью микроскопа «Axio LAB.A1» с цифровой камерой «AxioCam ERc5s» и программным обеспечением для анализа изображений Axio Vision SE64 Rel.4.8.3. На препаратах, окрашенных гематоксилин-эозином, определяли высоту слизистой оболочки и глубину эрозии. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови [9]. Состояние эндогенной

антиоксидантной системы характеризовали по активности каталазы в сыворотке крови [10], супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах [11] и по содержанию восстановленного глутатиона (ВГ) в крови [12].

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью пакета программ «Biostat-2006» с использованием t-критерия Стьюдента. Различия между сравниваемыми группами считали статистически значимыми при $P \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследований показали, что на фоне 24-часовой иммобилизации у всех животных контрольной группы развиваются эрозии и у 50% животных – полосовидные язвы, индекс Паулса для данных деструкций составил 7,1 и 0,4 соответственно (рис. 1). Данные патоморфологических исследований показали, что в СОЖ животных контрольной группы на фоне выраженных дистрофических изменений выявлялось значительное количество поверхностных и глубоких эрозий. Поверхностные эрозии характеризовались некрозом и отторжением поверхностно-язочного эпителия, глубокие эрозии проникали в собственную пластинку СОЖ на 4/5 толщины. Такие эрозии были представлены детритом, отграниченным по периферии слабо выраженным демаркационным валом из полиморфно-ядерных лейкоцитов, мигрировавших из сосудов микроциркуляторного русла. Морфометрический анализ показал, что глубина таких эрозий в среднем была равна $926,5 \pm 73,45$ мкм, что составляло 84% от высоты слизистой оболочки желудка ($1098,9 \pm 102,22$ мкм) (рис. 2). В зонах сохраненной слизистой, прилегающих к эрозии, в результате нарушения реологии и повышения капиллярной проницаемости, наблюдался выраженный отек.

У всех животных, получавших экстракт *F. hystrix* в дозах 50 и 100 мг/кг, в СОЖ выявлялись эрозии, при этом индекс Паулса для них был в среднем на 23% ниже показателя контрольных животных (рис. 1). Полосовидные язвы в первой опытной группе, также как и в контрольной группе, наблюдали у половины животных, при этом индекс Паулса для них был на 25% ниже, чем в контроле. Учитывая, что во второй опытной группе полосовидные язвы отмечались у 3 из 8 животных, индекс

Паулса был в 2,0 раза ниже такового в контроле. Наиболее выраженное гастропротективное влияние испытуемый экстракт проявлял в дозе 150 мг/кг. Выраженных деструктивных изменений – полосовидных язв, у животных третьей опытной группы не отмечалось. У двух животных из восьми СОЖ была интактной: бледно-розовая со слегка смазанным рельефом. У 75% животных третьей опытной группы отмечались эрозии, индекс Паулса для них был в 3,9 раза ниже, чем в контроле (рис. 1).

У животных, получавших экстракт *F. hystrix* в дозе 50 мг/кг, отмечались эрозии, захватывающие до $\frac{3}{4}$ поверхности собственной пластинки СОЖ. В данных эрозиях СОЖ была представлена широкой зоной коагуляционного некроза, где железы были деформированы и бесструктурны. У животных второй опытной группы большинство эрозий не проникало глубже $\frac{1}{2}$ поверхности собственной пластинки СОЖ, в целом морфологическая картина была сходна с таковой животных первой опытной группы. На фоне курсового введения животным экстракта *F. hystrix* в дозе 150 мг/кг структурные изменения в СОЖ носили поверхностный характер, и затрагивали, в основном, поверхностно-язочный эпителий и апикальный слой собственной пластинки и выражались вакуолизацией цитоплазмы, пикнозом ядер, истончением эпителия и расширением просвета желез.

Данные морфометрических исследований показали, что у животных, получавших фитоэкстракт в дозах 100 и 150 мг/кг, глубина эрозий была соответственно на 43% и 80% меньше таковой у животных контрольной группы. В результате чего, степень повреждения СОЖ у животных данных опытных групп составляла соответственно 48% и 17%, тогда как в контрольной группе – 84% (рис. 2).



Рисунок 1.
Влияние экстракта *Ferulopsis hystrix* на показатель индекса Паулса при нейрогенной язве у белых крыс

Figure 1.
Influence of *Ferulopsis hystrix* extract on the Pauls' index in neurogenic ulcer in white rats

Рисунок 2.
Влияние экстракта *Ferulopsis hystrix* на морфометрические показатели слизистой оболочки желудка при нейрогенной язве

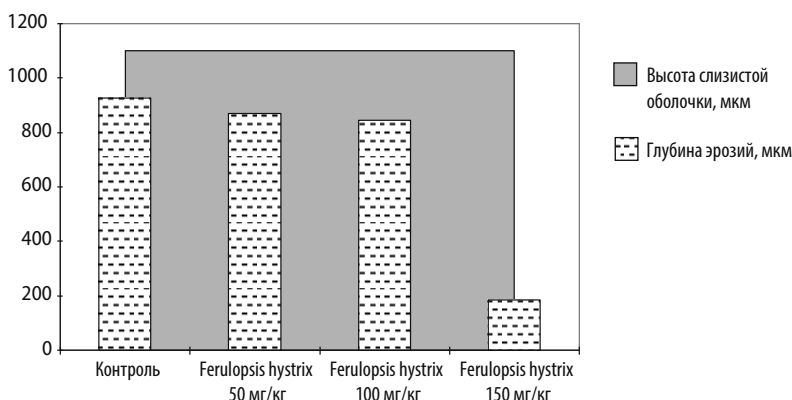


Figure 2.
Influence of *Ferulopsis hystrix* extract on the morphometric indices (the depth of erosions) in neurogenic ulcer in white rats

Таблица 1
Влияние экстракта *Ferulopsis hystrix* на процессы перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы белых крыс при нейрогенной язве

Группы животных	МДА в сыворотке крови, мкмоль/л	Каталаза в сыворотке крови, мкат/л	СОД в эритроцитах, усл.ед.	ВГ в крови, мкмоль/л
Интактная (H ₂ O)	13,6±0,74	1,5±0,12	1,9±0,11	1425,5±76,92
Контрольная (стресс+H ₂ O)	30,6±4,35	0,7±0,06	0,5±0,03	512,0±23,51
Опытная I (стресс + <i>F. hystrix</i> , 50 мг/кг)	27,3±2,25	1,4±0,24	1,1±0,26*	864,6±48,45
Опытная II (стресс + <i>F. hystrix</i> , 100 мг/кг)	17,1±1,19*	1,4±0,26*	1,9±0,09*	1336,2±215,3*
Опытная III (стресс + <i>F. hystrix</i> , 150 мг/кг)	19,6±2,38*	1,5±0,23*	1,4±0,13*	1414,8±142,2*

Примечание.
Здесь и далее:* – различия статистически значимы между контрольной и опытной группами при P < 0,05.

Table 1
Influence of *Ferulopsis hystrix* extract on lipid peroxidation processes and the state of the antioxidant system of white rats in neurogenic ulcer

Notes:
* – hereinafter P < 0.05 compared with control.

Результаты исследований, представленные в таблице 1, свидетельствуют, что развитие нейрогенных язв сопровождается активацией свободно-радикального окисления, о чем свидетельствует двукратное повышение концентрации МДА, а также снижение активности ферментов антиоксидантной системы организма (табл. 1). Введение животным экстракта *F. hystrix* в дозах 100 и 150 мг/кг снижало содержания МДА в среднем на 37%, повышало активность каталазы – в 2,0 раза, содержание ВГ – в 2,6 раза, активность СОД – соответственно в 3,8 и 2,8 раза по сравнению с показателями контрольных животных (табл. 1).

Выявленное гастропротективное действие экстракта *F. hystrix* обусловлено содержанием в нем фенольных соединений, в частности кумаринов и флавоноидов, способных повышать неспецифическую резистентность организма, играющую важную роль в стимуляции естественных физиологических механизмов защиты. Гастропротективное действие экстракта *F. hystrix* также обусловлено его способностью ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул и активировать систему антиоксидантной защиты

организма. Фенольные соединения, являясь природными антиоксидантами, препятствуют развитию повреждений, вызванных перекисным окислением липидов клеточных мембран; понижая свертывающие свойства крови и препятствуя образованию тромбов, улучшают микроциркуляцию тканей, и тем самым способствуют снижению выраженности экссудации, ограничению развития альтерации воспалительной реакции и ускорению заживления эрозивно-язвенных повреждений в слизистой оболочке желудочно-кишечного тракта [13].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт *Ferulopsis hystrix* обладает гастропротективным действием, препятствуя развитию деструкций в слизистой оболочке желудка на фоне нейрогенной язвы. Можно полагать, что гастропротективное действие испытуемого средства связано с его ингибирующим влиянием на процессы свободнорадикального окисления и способностью активировать систему антиоксидантной защиты организма. Наиболее выраженное гастропротективное и антиоксидантное действие испытуемое средство проявляет в дозе 150 мг/кг.

Литература | References

1. *Саватеева-Любимова Т.Н., Сивак К.В., Малинин В.В.* Гастропротективная активность аналогов дипептида глутамил-триптофана и мелатонина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75, № 2. – С. 17–21.
Savateeva-Lyubimova T.N., Sivak K. V., Malinin V. V. Gastroprotective activity of modified glutamyl-tryptophan dipeptide analogs and melatonin. Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology. 2012; 75(2): 17–21.
2. *Тараскин В.В., Раднаева Л.Д., Жигжитжапова С.В., и др.* Выделение рабочего стандартного образца пещенидина – ангулярного фурукумарина зонтичных флоры Бурятии и Монголии // Вестник Бурятского государственного университета. – 2011. – Вып.3. – С. 111–115.
Taraskin V. V., Radnaeva L. D., Zhigzhitzhapova S. V., et al. Vydelenie rabochego standartnogo obrazca peucenidina – angulyarnogo furokumarina zontichnyh flory Buryatii i Mongolii [Allocation of a working standard sample of peucedanine – an angular furocoumarin of the umbrella flora of Buryatia and Mongolia]. Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta – Bulletin of Buryat State University, 2011, no. 3, pp. 111–115.
3. *Ganbaatar J., Shults E. E., Otgonsuren D., et al.* Coumarins from *Peucedanum hystrix* growing in Mongolia. Mongolian Journal of Chemistry. 2011, no. 12, pp. 42–49.
4. *Heide L.* The aminocoumarins: biosynthesis and biology // Natural Product. Reports. – 2009. – Vol. 26. – P. 1241–1250.
5. *Kontogiorgis C.A., Hadjipavlou-Litina D.J.* Synthesis and antiinflammatory activity of coumarin derivatives. Journal of Medicinal Chemistry. 2005;48(20):6400–6408.
6. *Patel D., Kumar R., Prasad S. et al.* Antidiabetic and in vitro antioxidant potential of *Hybanthus enneaspermus* (Linn) F. Muell in streptozotocin-induced diabetic rats. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. 2011;1(4):316–322.
7. *Парфёнов Э.А., Трапков В.А., Шабанов П.Д.* Редокс – регуляция как надежная платформа поиска и разработки лекарств нового типа. Поиск гастропротекторов среди замещенных кумаринов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – № 3. – С. 22–42.
Parfenov E. A., Trapkov V. A., Shabanov P. D. Redoks – regulaciya kak nadezhnaya platforma poiska i razrabotki lekarstv novogo tipa. Poisk gastroprotektorov sredi zameshchennyh kumarinov [Redox – regulation as a reliable platform for finding and developing new type of drugs]. Search gastroprotectors among substituted coumarins. Obzory po klinicheskoj farmakologii i lekarstvennoj terapii – Reviews of clinical pharmacology and drug therapy, 2014, no. 3, pp. 22–42.
8. *Багинская А.И., Ферубко Е.В., Курманова Е.Н. и др.* Экспериментальные модели эрозивно-язвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки. – М.: «Издательский дом «Русский врач», 2017. – 96 с.
Baginskaya A. I., Ferubko E. V., et al. EHksperimental'nye modeli ehrozivno-yazvennyh porazhenij zheludka i dvenadcatiperstnoj kishki [Experimental models of erosive and ulcerative lesions of the stomach and duodenum]. Moscow, Russian Doctor Publishing House, 2017. 96 p.
9. *Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / под ред. В.С. Камышиникова.* М.: «МЕДпресс информ», 2009. 890 с.
Spravochnik po kliniko-biohimicheskim issledovaniyam i laboratornoj diagnostike [Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnostics]. pod red. V. S. Kamyshnikova. Moscow, MEDpress Inform, 2009. 890 p.
10. *Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г.* Методы определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – № 6. – С. 16–19.
Korolyuk M. A., Ivanova L. I., Maiorova I. G. Metody opredeleniya aktivnosti katalazy [Methods for the determination of catalase activity]. Laboratornoe delo – Laboratory work, 1988, no. 6, pp.16–19.
11. *Матюшин Б.Н., Логинов А.С., Ткачев В.Д.* Определение супероксиддисмутазной активности в материале пункционной биопсии печени при ее хроническом поражении // Лабораторное дело. – 1991. – № 7. – С. 16–19.
Matyushin B. N., Loginov A. S., Tkachev V. D. Opredelenie superoksiddismutaznoj aktivnosti v materiale punkcionnoj biopsii pecheni pri ee hronicheskom porazhenii [Determination of superoxide dismutase activity in the material of puncture biopsy of the liver in its chronic lesion]. Laboratornoe delo – Laboratory work, 1991. No. 7, pp. 16–19.
12. *Shaik I.H., Mehvar R.* Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiolmasking reagent and the enzymatic recycling method: Application to the rat liver and bile samples. Anal Bioanal Chem. 2006, Vol. 385, no. 1, P. 105113.
13. *Шахмарданова С.А., Гулевская О.Н., Селецкая В.В. и др.* Антиоксиданты: классификация, фармакотерапевтические свойства, использование в практической медицине // Журнал фундаментальной медицины и биологии – 2016. – № 3. – С. 4–15.
Shahmardanova S. A., Gulevskaya O. N., Seleckaya V. V. et al. Antioksidanty: klassifikaciya, farmakoterapevticheskie svojstva, ispol'zovanie v prakticheskoj medicine [Antioxidants: classification, pharmacotherapeutic properties, use in practical medicine]. Zhurnal fundamental'noj mediciny i biologii – Journal of fundamental medicine and biology, 2016, no. 3, pp. 4–15.