

Влияние сока подорожника на проявления и исход острой интоксикации циклофосфамидом у крыс

Т.В. Шефер¹, Ю.Ю. Ивницкий², В.Л. Рейнюк³

¹Научно-исследовательский испытательный институт (военной медицины) Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия

² Институт токсикологии ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия

³Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия

The influence of the plantain juice on the manifestations and outcome of acute cyclophosphamide intoxication in rats

T.V. Schäfer¹, J.J. Ivniitsky², V.L. Rejniuk³

¹Scientific-researching testing Institute of military medicine of the S. M. Kirov Military medical academy, Ministry of defense of the Russian Federation

²Institute of toxicology, Federal medico-biological Agency of Russia

³S. M. Kirov Military medical academy, the Ministry of defense of the Russian Federation

Для оценки влияния сока подорожника на обмен аммиака и неврологические проявления остро тяжелого отравления циклофосфамидом крысам внутрижелудочно вводили сок подорожника в дозе 4 мл/кг за 1 ч до инъекции циклофосфамида (внутрибрюшинно, 600 мг/кг). Через 3 ч после введения циклофосфамида в крови крыс были повышены уровни аммиака, глутамина и мочевины. Эти изменения были частично скорректированы профилактическим применением сока подорожника. На фоне введения сока подорожника гиподинамия у отравленных животных была менее выражена, продолжительность жизни увеличивалась. Таким образом, экспериментально показана возможность использования сока подорожника для коррекции гипераммониемического и нейротоксического действия циклофосфамида.

Ключевые слова: сок подорожника; профилактика; циклофосфамид; гипераммониемия; неврологические расстройства.
Библиографическое описание: Шефер ТВ, Ивницкий ЮЮ, Рейнюк ВЛ. Влияние сока подорожника на проявления и исход острой интоксикации циклофосфамидом у крыс. Биопрепараты 2015; (3): 61–63.

To estimate the influence of the plantain juice on neurological manifestations of the severe acute cyclophosphamide intoxication, rats have been gavaged with 4 ml/kg plantain juice 1 h before cyclophosphamide dosing (intraperitoneally, 600 mg/kg). Within 3 h after cyclophosphamide administration, rats' blood ammonia, glutamine and urea was increased. These alterations have been attenuated with the prophylactic administration of the plantain juice. At the background of the administration of the plantain juice the hypodynamia was less pronounced, duration of life has increased. Therefore, experimentally has been demonstrated the potency of the plantain juice usage for prophylaxis of hyperammonaemic and neurotoxic action of cyclophosphamide.

Key words: plantain juice; prophylaxis; cyclophosphamide; hyperammonaemia; neurological disorders.

Bibliographic description: Schäfer TV, Ivniitsky JJ, Rejniuk VL. The influence of the plantain juice on the manifestations and outcome of acute cyclophosphamide intoxication in rats. Biopreparation (Biopharmaceuticals) 2015; (3): 61–63.

Циклофосфамид и другие цитостатики – производные азотистых ипритов, применяемые в целях миелоабляции, способны вызывать острые неврологические расстройства [1]. Существенная часть симптомов, наблюдаемых в первые часы после воздействия ипритов или их производных: головная боль, слабость, головокружение, тошнота, чувство тревоги, раздражительность, анорексия, атаксия, тремор, судороги, нарушение сознания различной степени – может быть вызвана или усилена аммиаком, поступающим в головной мозг. При моделировании таких расстройств у крыс наблюдали интенсификацию поступления в кровь аммиака из желудочно-кишечного тракта [2], усугублявшего проявления нейротоксичности циклофосфамида [3]. В этих условиях основным источником эндогенного аммиака в крови является желудочно-кишечный химус, а механизмом развития гипераммониемии – увеличение проницаемости для аммиака энтерогема-

тического барьера. Это оправдывает апробацию подхода к медикаментозной коррекции ранних неврологических расстройств ипритной этиологии, основанного на предотвращении роста проницаемости энтерогемаического барьера.

Специфическим энтеропротектором с малоизученным механизмом действия является сок подорожника, ослабляющий кишечные проявления токсичности противоопухолевых препаратов [4]. Предполагают, что антиоксидантные, антигипоксантные, бактерицидные и противовоспалительные свойства сока подорожника обусловлены входящими в его состав аукубином и другими иридоидами [5–8].

Цель исследования: оценка эффективности сока подорожника в качестве средства коррекции нарушений обмена аммиака и неврологических расстройств при остром отравлении циклофосфамидом.

Задачи исследования

1. Оценить влияние сока подорожника на показатели обмена аммиака при экспериментальном моделировании острой интоксикации циклофосфамидом.
2. Оценить влияние сока подорожника на неврологические проявления и продолжительность жизни при экспериментальном моделировании острой интоксикации циклофосфамидом.

Материалы и методы

В экспериментах использовали приобретенных в питомнике «Рапполово» РАН беспородных самцов крыс-альбиносов массой тела 160–220 г.

При работе с животными соблюдали положения «Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (1986 г.), «Международных рекомендаций (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985 г.), «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ МЗ СССР № 775 от 12.08.1977 г.).

Для маркировки крыс использовали спиртовой раствор пикриновой кислоты. Животных распределяли на экспериментальные группы случайно; контрольная и экспериментальные группы участвовали в опыте одновременно.

Циклофосфамид (порошок для приготовления раствора для инъекций, ОАО «Биохимик», Россия) вводили крысам внутривенно (в/в), в дозе 600 мг/кг (2,1 ЛД_{50/14 сут}) в объеме 10 мл/кг. Раствор сока подорожника готовили, доводя 4 мл коммерчески доступного препарата (Подорожника большого сок, ЗАО «Вифитех», Россия) дистиллированной водой до 20 мл. Раствор вводили внутривенно (в/в) металлическим зондом в объеме 20 мл/кг за 1 ч до инъекции циклофосфамида. Животным контрольных групп вместо препаратов вводили равный объем физиологического раствора.

Кровь, полученную при декапитации, немедленно депротеинировали равным объемом 20%-ной трихлоруксусной кислоты и центрифугировали на центрифуге Т32с (ГДР) с ротором с качающимися стаканами радиусом 13 см при скорости вращения 7000 мин⁻¹ в течение 20 мин. В супернатанте определяли аммиак фотометрически с реактивом Несслера после перегонки по Конвею, глутамин – по аммиаку после кислотно-

го гидролиза, мочевины – фотометрически диацетилмонооксимовым методом.

Для оценки мышечной выносливости измеряли продолжительность виса животных на проволочной решетке после переворачивания спиной книзу. Такое тестирование проводили после введения циклофосфамида через 1 ч, и далее ежедневно. Для каждого животного рассчитывали среднюю продолжительность виса за одну попытку. Для интегральной оценки вестибулярной функции и координации движений ежедневно измеряли продолжительность удерживания крысы на стеклянной сфере (перевернутой и закрепленной на штативе на высоте 40 см над столом сферической колбе диаметром 9 см с горизонтальной площадкой диаметром 5 см в верхней части). Для каждого животного рассчитывали суммарную продолжительность удерживания при всех выполненных подходах и среднее значение этого показателя за один подход. Регистрацию гибели животных осуществляли круглосуточно, используя комплекс автоматической круглосуточной фоторегистрации.

Индивидуальные значения использовали для расчета среднегрупповых значений ($M \pm m$). Гипотезы о равенстве средних значений в группах проверяли, используя двухфакторный дисперсионный анализ и метод априорных линейных контрастов. Данные, полученные при оценке неврологического статуса и регистрации продолжительности жизни, перед анализом подвергали нормализующей трансформации по Боксу–Коксу.

Результаты и обсуждение

Для оценки влияния сока подорожника на показатели азотемии в условиях моделирования ранних проявлений острого резорбтивного действия ипритов определяли показатели обмена аммиака в крови, полученной при декапитации крыс через 3 ч после введения циклофосфамида (600 мг/кг, в/в) и (или) через 4 ч после внутривенного (в/в) введения сока подорожника.

Введение крысам циклофосфамида вело через 3 ч после инъекции к росту содержания в крови аммиака в 5,06, глутамина – в 1,63, мочевины – в 1,68 раза. На фоне применения сока подорожника и циклофосфамида гипераммониемия была в 1,52 раза менее выражена, содержание в крови глутамина – в 1,38, мочевины – в 1,28 раза менее выражено, чем у крыс, получавших только циклофосфамид (табл. 1).

Для оценки влияния сока подорожника на ранние проявления острого резорбтивного действия циклофосфамида оцени-

Таблица 1. Влияние сока подорожника, введенного в дозе 4 мл/кг за 1 ч до циклофосфана, на показатели обмена аммиака в крови крыс

Вещество, введенное до декапитации		Содержание в крови, мМ ($M \pm m$, $n = 6$)		
в/ж, за 4 ч	в/б, за 3 ч	аммиака	глутамина	мочевины
NaCl	NaCl	0,095 ± 0,010	1,12 ± 0,09	8,0 ± 0,3
NaCl	Циклофосфан	0,481 ± 0,044*	1,83 ± 0,14*	13,3 ± 0,8*
Сок подорожника	Циклофосфан	0,317 ± 0,016#	1,33 ± 0,12#	10,4 ± 0,3**

Примечание. Различие, значимо, $p < 0,05$: * – с животными, не получавшими циклофосфан; ** – с животными, получавшими только циклофосфан.

Таблица 2. Влияние сока подорожника на среднюю продолжительность удерживания на стеклянной сфере ($t_{сф}$), среднюю продолжительность виса на перевернутой решетке ($t_{вис}$) и среднюю продолжительность жизни (СПЖ) отравленных циклофосфаном крыс

Средство профилактики	Показатель дееспособности, $M \pm m$, $n = 6$		
	$t_{сф}$, с	$t_{вис}$, с	СПЖ, ч
Нет (контроль)	8,7 ± 0,9	14,6 ± 1,2	18,7 ± 2,3
Сок подорожника, в/ж, 4 мл/кг	10,4 ± 0,6	17,6 ± 0,5*	24,4 ± 1,0*

*Различие с контрольными животными значимо, $p < 0,05$.

вали неврологический статус отравленных крыс и регистрировали продолжительность их жизни. На фоне приема энтеропротектора продолжительность виса отравленных циклофосфамидом крыс на перевернутой решетке была на 20, а продолжительность жизни – на 30% больше, чем у животных, лишенных профилактики; наблюдали тенденцию к увеличению средней продолжительности удерживания на стеклянной сфере (табл. 2).

Таким образом, сок подорожника, наряду с дексаметазоном, преднизолоном, диклофенаком, L-карнитином [4], может рассматриваться в качестве перспективного средства коррекции нарушений кинетики аммиака при острых отравлениях циклофосфамидом и ранних неврологических проявлениях резорбтивного действия ипритов.

Выводы

1. Профилактическое внутрижелудочное введение сока подорожника в дозе 4 мл официального раствора на 1 кг массы тела способствовало нормализации содержания аммиака и продуктов его обмена в крови крыс в ранние сроки острой интоксикации циклофосфамидом в дозе 3,6 ЛД_{50/14 сут}*

2. Профилактическое применение сока подорожника препятствовало снижению мышечной силы и выносливости, увеличивало продолжительность жизни животных в ранние сроки после введения циклофосфамида в дозе 3,6 ЛД_{50/14 сут}*

Литература:

1. Lorch A, Kollmannsberger C, Hartmann JT, Metzner B, Schmidt-Wolf IG, Berdel WE, et al. Single versus sequential high-dose chemotherapy in patients with relapsed or refractory germ cell tumors: a prospective randomized multicenter trial of the German Testicular Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 2007; 25(19): 2778–84.
2. Schäfer TV, Ivnitsky JJ, Rejniuk VL. Cyclophosphamide-induced leakage of gastrointestinal ammonia into the common bloodstream in rats. *Drug Chem Toxicol* 2011; 34(1): 25–31.
3. Ivnitsky JJ, Schäfer TV, Rejniuk VL. Promotion of the toxic action of cyclophosphamide by digestive tract luminal ammonia in rats. *ISRN Toxicology*; 2011, Art. ID 450875.
4. Шефер ТВ, Ивницкий ЮЮ, Рейнюк ВЛ. Влияние противовоспалительных лекарственных средств или L-карнитина на азотистый обмен у крыс при острой интоксикации циклофосфаном. *Medline.ru* 2012; 13 (ст. 86): 1024–31.
5. Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Lin CC. In vitro cytotoxic, antiviral and immunomodulatory effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. *Am J Chin Med.* 2003; 31(2): 225–34.
6. Gálvez M, Martín-Cordero C, Houghton PJ, Ayuso MJ. Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *J Agric Food Chem.* 2005; 53(6): 1927–33.
7. Michaelsen TE, Gilje A, Samuelsen AB, Hogasen K, Paulsen BS. Interaction between human complement and a pectintype polysaccharide fraction, PMIII, from the leaves of *Plantago major* L. *Scand J Immunol.* 2000; 52(5): 483–90.
8. Ярёмченко КВ. Оптимальное состояние организма и адаптогены: Руководство для врачей. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2007.

References

1. Lorch A, Kollmannsberger C, Hartmann JT, Metzner B, Schmidt-Wolf IG, Berdel WE, et al. Single versus sequential high-dose chemotherapy in patients with relapsed or refractory germ cell tumors: a prospective randomized multicenter trial of the German Testicular Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 2007; 25(19): 2778–84.
2. Schäfer TV, Ivnitsky JJ, Rejniuk VL. Cyclophosphamide-induced leakage of gastrointestinal ammonia into the common bloodstream in rats. *Drug Chem Toxicol* 2011; 34(1): 25–31.
3. Ivnitsky JJ, Schäfer TV, Rejniuk VL. Promotion of the toxic action of cyclophosphamide by digestive tract luminal ammonia in rats. *ISRN Toxicology*; 2011, Art. ID 450875.
4. Schäfer TV, Ivnitsky JJ, Rejniuk VL. Influence of antiinflammatory drugs or L-carnitine on the ammonia on rats' nitrogen metabolism during the acute cyclophosphamide intoxication. *Medline.ru* 2012; 13 (art. 86): 1024–31 (in Russian).
5. Chiang LC, Chiang W, Chang MY, Lin CC. In vitro cytotoxic, antiviral and immunomodulatory effects of *Plantago major* and *Plantago asiatica*. *Am J Chin Med.* 2003; 31(2): 225–34.
6. Gálvez M, Martín-Cordero C, Houghton PJ, Ayuso MJ. Antioxidant activity of methanol extracts obtained from *Plantago* species. *J Agric Food Chem.* 2005; 53(6): 1927–33.
7. Michaelsen TE, Gilje A, Samuelsen AB, Hogasen K, Paulsen BS. Interaction between human complement and a pectintype polysaccharide fraction, PMIII, from the leaves of *Plantago major* L. *Scand J Immunol.* 2000; 52(5): 483–90.
8. Yaremchenko KV. Optimal health and adaptogens: a guide for physicians. St.-Petersburg: ELBI-SPb; 2007 (in Russian).

Autors:

Scientific-researching testing Institute of military medicine of the S.M. Kirov Military medical academy of the Ministry of defense of the Russian Federation, 4 Lesoparkovaya street, St.-Petersburg, 195043, Russian Federation.

Schäfer TV. Deputy head of Department – head of Division. Candidate of Medical Sciences.

Institute of toxicology, Federal medico-biological Agency of Russia, 1 Bekhterev street, St.-Petersburg, 192019, Russian Federation.

Ivnitskiy JJ. Leading researcher. Doctor of Medical Sciences, professor.

S.M. Kirov Military medical academy of the Ministry of defense of the Russian Federation, 6 Academician Lebedev street, St.-Petersburg, 194044, Russian Federation.

Rejniuk VL. Docent of MTMP Department. Doctor of Medical Sciences.

Об авторах:

Научно-исследовательский испытательный институт (военной медицины) Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ. Российская Федерация, 195043, Санкт-Петербург, Лесопарковая ул., 4.

Шефер Тимур Васильевич. Заместитель начальника управления – начальник отдела, канд. мед. наук.

Институт токсикологии ФМБА России. Российская Федерация, 192019, Санкт-Петербург, ул. Бехтерева, 1.

Ивницкий Юрий Юрьевич. Ведущий научный сотрудник, д-р мед. наук, профессор.

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ. Российская Федерация, 194044, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6.

Рейнюк Владимир Леонидович. Доцент кафедры ВТМЗ, д-р мед. наук.

Адрес для переписки: Шефер Тимур Васильевич; schafer@yandex.ru

Поступила 09.07.2015 г.
Принята 18.08.2015 г.