

СРАВНИТЕЛЬНАЯ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГАСТРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ПЕПТИДНОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ТКАНЕЙ СВИНЫХ ПОЧЕК, ОМЕПРАЗОЛА, РАНИТИДИНА И МИЗОПРОСТОЛА ПРИ «ИНДОМЕТАЦИНОВОЙ» ЯЗВЕ ЖЕЛУДКА У КРЫС

Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул

Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Жарикова Г.В.

Цель исследования: сравнительная оценка влияния пептидного комплекса из тканей свиных почек, омепразола, ранитидина и мизопростола на морфофункциональное состояние слизистой оболочки желудка у крыс на фоне экспериментальной «индометациновой» язвы.

Материалы и методы: Язвенное поражение моделировали внутрижелудочным введением индометацина, исследуемые препараты вводили ежедневно превентивно в течение семи дней. Состояние слизистой оценивали макро- и микроскопически. *Результаты и выводы:* Пептидный комплекс обладает выраженным гастропротекторным действием, что проявляется в уменьшении числа и глубины эрозий СОЖ, снижением индекса Паулса для полосовидных эрозий, увеличением толщины слизистой. По эффективности уступает омепразолу, превосходит мизопростол. Достигается эффект, близкий к эффекту ранитидина.

Ключевые слова: пептидный комплекс, индометацин, омепразол, ранитидин, мизопростол, язвенная болезнь желудка.

Objective: a comparative assessment of the effect of the peptide complex from the tissues of pig kidney, omeprazole, ranitidine and misoprostol on the morphofunctional state of the gastric mucosa in rats against the background of experimental "indomethacin" ulcer.

Materials and Methods: The ulcerative lesion was modeled by intragastric administration of indomethacin, the studied drugs were administered preventively for seven days. The condition of the mucosa was assessed macro and microscopically. *Results and conclusions:* The peptide complex has a pronounced gastroprotective effect, which is manifested in a decrease in the number and depth of coolant erosion, a decrease in the Pauls index for band-like erosion and an increase in mucosal thickness. In terms of efficiency, it is inferior to omeprazole, superior to misoprostol. The reached affect is close to the effect of ranitidine.

Key words: peptide complex, indomethacin, omeprazole, ranitidine, misoprostol, gastric ulcer.

Ранее нами было установлено, что введение пептидного комплекса из тканей свиных почек в условиях экспериментальной «индометациновой» язвы у крыс способствует значительному облегчению протекания патологии [1]. Данное наблюдение создало предпосылки для более углубленного изучения перспектив разработки на основе указанного пептидного комплекса нового гастропротекторного средства.

Как известно, существующий арсенал противоязвенных препаратов включает несколько групп, в том числе ингибиторы протонного насоса, блокаторы H_2 -гистаминовых рецепторов и стимуляторы выработки защитной слизи (аналоги простагландинов E). Их фармакодинамика хорошо изучена. Поэтому для изучения особенностей характера гастропротекторной активности пептидного комплекса из тканей свиных почек представляло интерес сравнить его фармакологическое действие с эффектами основных представителей противоязвенных препаратов.

Таким образом, целью настоящего исследования стала сравнительная оценка влияния

пептидного комплекса из тканей свиных почек, омепразола, ранитидина и мизопростола на морфофункциональное состояние слизистой оболочки желудка (СОЖ) у крыс на фоне экспериментальной «индометациновой» язвы.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование выполнялось на 40 крысах-самцах сток Wistar массой 200-250 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. Исследования проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации. Подопытные животные были разделены на следующие экспериментальные группы:

1. Контроль заболевания, $\Gamma_{\text{контр}}$ (моделирование индометацинового поражения СОЖ) – 8 крыс;

2. Группа лечения пептидным комплексом из тканей свиных почек, $\Gamma_{\text{п.к}}$ (моделирование индометацинового поражения СОЖ + профилактическое введение пептидного комплекса из тканей свиных почек) – 8 крыс;

3. Группа лечения омепразолом, $\Gamma_{\text{омепр.}}$ (моделирование индометацинового поражения СОЖ + профилактическое введение омепразола) – 8 крыс;

4. Группа лечения ранитидином, $\Gamma_{\text{ран.}}$ (моделирование индометацинового поражения СОЖ + профилактическое введение ранитидина) – 8 крыс;

5. Группа лечения мизопростолом, $\Gamma_{\text{миз.}}$ (моделирование индометацинового поражения СОЖ + профилактическое введение мизопростола) – 8 крыс.

Моделирование индометациновой язвы воспроизводили путем однократного внутрижелудочного введения индометацина в дозе 60 мг/кг в 1 мл физраствора. За сутки до моделирования гастропатии животных лишали пищи при свободном доступе к воде. Профилактическое введение препаратов продолжалось в течение семи дней до моделирования гастропатии. Пептидный комплекс из свиных почек, полученный методом уксуснокислой экстракции вводили в дозе 75 мг/кг [1]. Омепразол, мизопростол и ранитидин вводились в дозах 37мг/кг; 0,09 мг/кг, 25 мг/кг соответственно, условно составляющих 2% от LD_{50} [3].

Через 4 часа после введения язвообразующего фактора животных подвергали эвтаназии одномоментной декапитацией под эфирным наркозом, извлекали желудок. Желудок очищали, промывали холодным физиологическим раствором.

Для проведения морфологического исследования материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина. Проводку материала осуществляли по изопропиловому спирту с помощью автомата проводки карусельного типа TISSUE-TEK VIPTM6 (Sakkura, Япония). Заливали материал в парафин при помощи станции парафиновой заливки TISSUE-TEK TEC 5 (Sakkura, Япония). Гистологические срезы толщиной 5-7 мкм получали с использованием полуавтоматического роторного микротомы Accu-Cut SRM (Sakkura, Япония) и окрашивали гематоксилином и эозином в автомате для автоматической окраски микропрепаратов TISSUE-TEK Prisma (Sakkura, Япония). Также осуществляли гистохимические окраски на нейтральные гликозаминогликаны Шифф-реактивом по Мак-Манусу и на кислые гликозаминогликаны 1% раствором альцианового синего на 3% уксусной кислоте (рН – 2,5) по Стивдену. Заключали препараты под пленку в аппарате для автоматического заключения микропрепаратов TISSUE-TEK Film (Sakkura, Япония).

В каждом случае на макроскопическом уровне в слизистой оболочке желудка подсчитывали общее число эрозий, число глубоких полосовидных эрозий и число поверхностных точечных эрозий. Высчитывали индекс Паула-

са (ИП), или индекс изъязвления для каждого вида повреждений по формуле: $(N \times K) / 100$, где N – среднее число деструкций на 1 животное, K – процент поражений животных в группе. Высчитывали толщину СОЖ и глубину эрозий. Подсчитывали плотность воспалительного инфильтрата в 1 мм² при помощи окулярной сетки Автандилова Г.Г.

Морфометрические исследования проводили с использованием специально созданной системы компьютерного анализа изображений, состоящей из микроскопа Leica DME (Германия), цифровой камеры Leica EC3 (LeicaMicrosystems AG, Германия) и программного обеспечения ВидеоТест-Морфология 5.2. Статистическую обработку результатов проводили при помощи программы Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Количественные показатели морфофункционального состояния СОЖ у экспериментальных животных всех групп и их статистическое сравнение приведены в таблице.

Результаты экспериментов показали, что при макроскопическом исследовании поверхность СОЖ крыс $\Gamma_{\text{контр.}}$ выглядела деструктивно, были отчетливо видны изменения в виде глубоких полосовидных и поверхностных точечных эрозий (рисунок 1). При микроскопическом исследовании СОЖ у крыс контрольной группы выглядела атрофичной. Некротические изменения в язвенных дефектах достигали мышечного слоя. Во многих эрозиях отмечались массивные отложения солянокислого гематина. Воспалительный инфильтрат был выражен слабо и состоял из лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов. В мышечном слое фиксировались явления отека и умеренно выраженного воспаления. Эти явления характерны для введения индометацина, что подтверждается данными литературы [2-4].

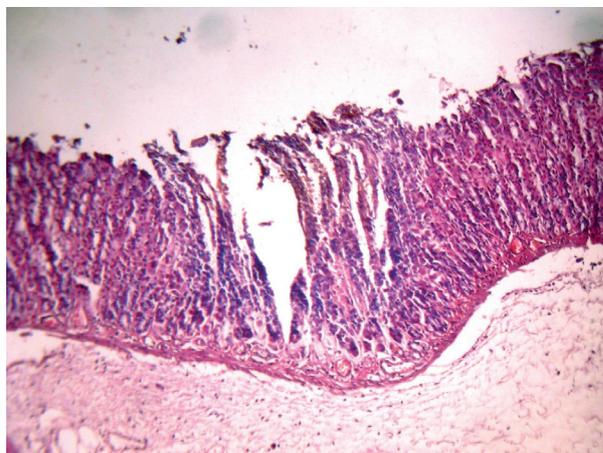


Рисунок 1 – Глубокая полосовидная эрозия СОЖ у животных контрольной группы исследования $\Gamma_{\text{контр.}}$. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 100.

На этом фоне профилактическое введение пептидного комплекса из свиных почек привело к существенным изменениям в состоянии СОЖ. Так, при макроскопическом исследовании у данных животных рельеф СОЖ был ровный. Хотя деструктивные изменения в СОЖ были выявлены у всех подопытных животных, они были представлены в основном неглубокими полосовидными и поверхностными точечными эрозиями (рисунок 2). Среднее число эрозий на 1 животное по сравнению с контролем заболевания в $\Gamma_{п.к.}$ было меньше в 1,4 раза (табл. 1). Более чем в 2 раза уменьшилось число наиболее опасных полосовидных эрозий, а индекс Паулса для данного вида эрозий уменьшился в 3,6 раза. Глубина эрозий была меньше на 85,7%. Толщина слизистой увеличилась на 70 мкм. В подслизистом слое определялись явления умеренно выраженного воспаления. Сосуды были в состоянии умеренно выраженного полнокровия.

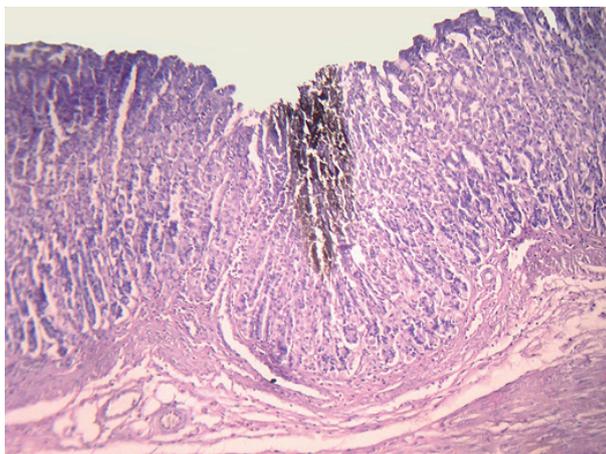


Рисунок 2 – Поверхностная точечная эрозия с большим количеством солянокислого гематина в СОЖ у крыс группы $\Gamma_{п.к.}$. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

У животных $\Gamma_{омепр.}$ макроскопически СОЖ выглядела ровной, складки выражены слабо, атрофических изменений обнаружено не было. Слабо выраженные деструктивные изменения в виде мелких точечных эрозий, содержащих солянокислый гематин, определялись лишь на некоторых участках. Подобные деструктивные изменения были выявлены у 71,4% животных. Все повреждения были представлены точечными эрозиями (рисунок 3). В подслизистом слое видны явления слабо выраженного воспаления. Сосуды умеренно полнокровны. Число повреждений СОЖ было практически в 7 раз уменьшено по сравнению с контролем заболевания, толщина слизистой увеличена почти в 1,8 раза. Глубина точечных эрозий незначительна – в 3,3 раза меньше, чем в контроле заболевания.



Рисунок 3 – Точечная поверхностная эрозия с отложением солянокислого гематина в СОЖ у животных $\Gamma_{омепр.}$ (показана стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

Профилактическое введение ранитидина также приводило к облегчению протекания патологии. Оказалось, что при макроскопическом исследовании у крыс $\Gamma_{ран.}$ СОЖ в основном ровная, определяются единичные бугристые участки. Деструктивные изменения в СОЖ были выявлены у всех крыс данной группы. Повреждения были представлены точечными и полосовидными эрозиями с массивным отложением солянокислого гематина (рисунок 4). Сосуды умеренно полнокровны. Среднее число эрозий слизистой не снижалось, но наблюдался перевес в сторону точечных эрозий. Кроме того, глубина эрозий была уменьшена в среднем на 100 мкм, а толщина слизистой увеличена на 160 мкм. Индекс Паулса для полосовидных эрозий по сравнению с контролем заболевания был меньше в 4,2 раза, а для точечных эрозий – в 2,7 раза.

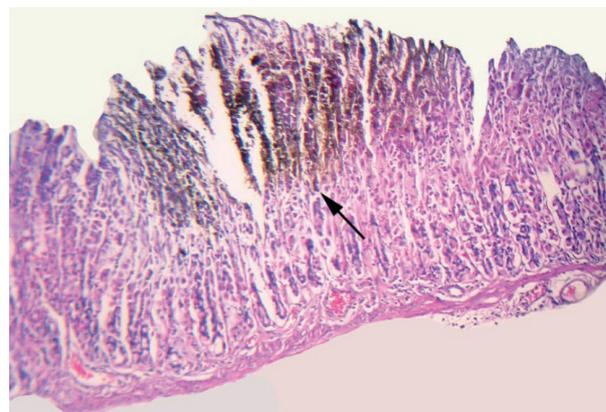


Рисунок 4 – Полосовидная эрозия в СОЖ у животных $\Gamma_{ран.}$ (показана стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 100$

В группе экспериментальных животных, где вводился мизопростол, при макроскопическом исследовании рельеф СОЖ был бугристый, неровный, складки утолщены. Деструктивные из-

менения в СОЖ выявлены у всех крыс. Общее число повреждений СОЖ было даже на 52% больше, чем в контроле заболевания (рисунок 5). Повреждения были представлены длинными неглубокими и глубокими полосовидными эрозиями, доходящими до мышечной пластинки слизистой оболочки и даже с проникновением в глубину до подслизистого слоя и точечными эрозиями. Сосуды расширены, полнокровны.

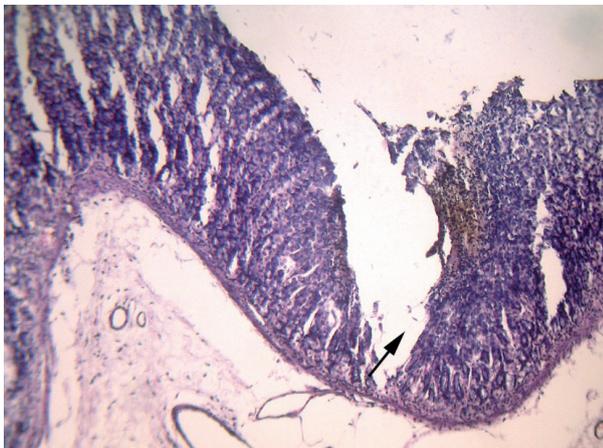


Рисунок 5 – Глубокая полосовидная эрозия, доходящая до мышечной пластинки СОЖ у животных 4-й группы исследования (показана стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение x 100

Обсуждая полученные результаты, отметим, что наиболее выраженное гастропротекторное действие среди изучаемых средств оказал омепразол. Это было во многом ожидаемо, учитывая его хорошо известную способность ослаблять секрецию соляной кислоты за счет ингибирования протонного насоса. Соответственно, в условиях индометациновой язвы снижение выработки соляной кислоты омепразолом ослабляло деструктивное влияние данного фактора агрессии на СОЖ [5, 6].

Примечательно, что пептидный комплекс из тканей свиных почек и ранитидин оказали близкое по силе гастропротекторное действие, причем даже с некоторым преобладанием в сторону пептидного комплекса. Как следует из таблицы, после применения пептидного комплекса число полосовидных эрозий по сравнению с ранитидином было меньше в 3,0 раза ($p=0,03$), глубина эрозий – меньше в 1,4 раза ($p=0,001$). Индекс Паулса для полосовидных эрозий между группами практически не различался, а значение этого показателя для точечных эрозий было в 2,7 раза меньше в $\Gamma_{\text{ран}}$. Объяснение полученных наблюдений могло бы быть сделано на основе данных о механизмах гастропротекторного действия пептидного комплекса, однако их еще только предстоит изучить.

Наконец, оценивая эффект мизопростола, по совокупности полученных данных следует

заключить, что данный препарат не оказывает положительного гастропротекторного действия, а в ряде показателей даже проявляет тенденцию к усугублению патологии. С одной стороны, это выглядело довольно странным, учитывая, что мизопростол, являясь аналогом простагландина E, стимулирует выработку защитной слизи в желудке, которая препятствует агрессивному влиянию соляной кислоты. С другой стороны, не исключено, что при профилактическом применении препарата в условиях нормальной физиологической выработки защитной слизи до введения индометацина мизопростол не оказал существенного стимулирующего влияния на этот процесс. Возможно, более выраженное действие данный препарат может оказывать при лечебном применении.

Суммируя вышеизложенное, отметим, что полученные результаты исследования указывают на высокую противоязвенную активность пептидного комплекса из тканей свиных почек, сопоставимую по силе с широко применяемым ингибитором H_2 -гистаминовых рецепторов ранитидином.

Выводы:

1. Пептидный комплекс обладает выраженным гастропротекторным действием, что выражается в уменьшении числа и глубины эрозий СОЖ, снижением индекса Паулса для полосовидных эрозий, увеличением толщины слизистой.
2. По эффективности гастропротекторного действия пептидный комплекс уступает омепразолу, превосходит мизопростол. Достигается эффект, близкий к эффекту ранитидина.

Список литературы:

1. Лоренц С.Э., Жариков А.Ю., Бобров И.П., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Киселев В.И. Гастропротекторное действие пептидного комплекса из тканей свиных почек при экспериментальной «индометациновой» язве у крыс. Сибирский научный медицинский журнал. 2017; 6(37): 5-9.
2. Новиков В.Е., Крюкова Н.О., Крикова А.В. НПВН-индуцированные гастропатии и их профилактика. Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2008; 6(1):26-30.
3. Ивянская Е.В. Исследование антиульцерогенного действия деанола ацеглумата, мексидола и их комбинации с омепразолом, мизопростолом и ранитидином на фоне аллоксанового диабета: диссертация ... кандидата медицинских наук. Старая Купавна, 2010.
4. Саватеева-Любимова Т.Н., Сивак К.В., Малинин В.В. Гастропротекторная активность аналогов дипептида глутамил-триптофана и мелатонина. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2012; 75(2): 17-21.

5. Лузина Е.В. Лечение и профилактика эрозивно-язвенных поражений желудка и двенадцатиперстной кишки, вызванных приемом нестероидных противовоспалительных препаратов. Клиническая медицина. 2014; (9): 21-25

6. Хасина Э.И., Моисеенко Л.И. Протективное действие пектина из амаранта багряного при гастропатии, индуцированной нестероидными противовоспалительными препаратами. Тихоокеанский медицинский журнал. 2013; (2): 18-21.

Таблица 1

Влияние пептидного комплекса из тканей свиных почек, омега-3, ранитидина и мизопростол на показатели морфофункционального состояния слизистой оболочки желудка при экспериментальной индометациновой язве

Показатель	Контроль заболевания	Гастропротекторы			
		Пептидный комплекс	Омега-3	Ранитидин	Мизопростол
Число повреждений СОЖ	9,6±1,7	6,8±1,2	<u>1,4±0,4*</u> (p _{кон} =0,0003) (p _{п.к.} =0,0009)	11,4±2,8	14,6±2,8* (p _{п.к.} =0,03)
Число полосовидных эрозий	4,8±0,9	2,2±1,0	-	6,5±2,2* (p _{п.к.} =0,03)	8,0±2,1* (p _{п.к.} =0,05)
Число полосовидных эрозий (%)	51,1	32,4	-	45,6	42,5
Число точечных эрозий	4,6±1,4	4,6±1,2	1,4±0,4	6,2±1,6	9,2±1,7* (p _{п.к.} =0,05)
Число точечных эрозий (%)	48,9	67,6	100	54,4	57,5
Индекс Паулса для полосовидных эрозий	24	6,6	0	5,2	6,4
Индекс Паулса для точечных эрозий	16,8	16,8	1,0	6,2	9,2
Толщина СОЖ (мкм)	335,6±12,4	<u>406,7±14,4</u> (p _{кон} =0,001)	<u>609,7±13,7*</u> (p _{кон} <0,000001) (p _{п.к.} <0,000001)	<u>496,1±25,2*</u> (p _{кон} =0,00001) (p _{п.к.} =0,01)	<u>391,5±10,7</u> (p _{кон} =0,003)
Глубина эрозий (мкм)	385,75±23,7	<u>207,8±13,6</u> (p _{кон} <0,000001)	<u>115,8±5,2*</u> (p _{кон} =0,000002) (p _{п.к.} =0,0009)	<u>283,9±17*</u> (p _{кон} =0,002) (p _{п.к.} =0,001)	<u>321,9±20,6*</u> (p _{кон} =0,05) (p _{п.к.} =0,00005)
Плотность воспалительного инфильтрата в СОЖ в 1 мм ²	1333,3±70,5	<u>1720,0±115,5</u> (p _{кон} =0,05)	1040±211,7* (p _{п.к.} =0,001) (p _{п.к.} =0,04)	1520±122,2* (p _{п.к.} =0,05)	<u>2106,7±70,5</u> (p _{кон} =0,001)

Примечание: подчеркнуты изменения, достоверные относительно контрольной группы, *- изменения достоверны относительно группы, получавшей пептидный комплекс.

Контактная информация

Автор, ответственный за переписку: Лоренц Самира Эльшадовна, преподаватель кафедры фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул. 656038, г. Барнаул, пр-т Ленина, д. 40. Тел.: (3852) 566891. E-mail: pharm_s@mail.ru

Информация об авторах

Жариков Александр Юрьевич, д.б.н., заведующий кафедрой фармакологии Алтайского го-

сударственного медицинского университета, г. Барнаул. 656038, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40. Тел.: (3852) 566869. Email: zharikov_a_y@mail.ru

Бобров Игорь Петрович, с.н.с. морфологической лаборатории Центра медико-биологических исследований Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул. 656038, г. Барнаул, пер. Некрасова, 65. Тел.: (3852) 669927. E-mail: science@agmu.ru

Мазко Олеся Николаевна, к.м.н., с.н.с. лаборатории биомедицины Центра медико-биологических исследований Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул. 656038, г. Барнаул, пер. Некрасова, 65.
Тел.: (3852) 669927.
E-mail: olesia.mazko@yandex.ru

Макарова Олеся Геннадьевна, к.м.н., с.н.с. лаборатории биомедицины Центра медико-биологических исследований Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул. 656038, г. Барнаул, пер. Некрасова, 65.
Тел.: (3852) 669927.
E-mail: olesia552@mail.ru

Жарикова Ганна Викторовна, преподаватель кафедры общей и биологической химии, клинической лабораторной диагностики, лаборант лаборатории биомедицины Центра медико-биологических исследований Алтайского государственного медицинского университета, г. Барнаул. 656038, г. Барнаул, пер. Некрасова, 65.
Тел.: (3852) 669927.
E-mail: ganna1704@mail.ru