

УДК 547.458:616.33-002.44-092.6

С.Г. Крылова¹, Л.А. Ефимова¹, М.Ю. Хотимченко², З.К. Вымятина¹, Е.П. Зуева¹, Е.Н. Амосова¹, Т.Г. Разина¹, К.А. Лопатина¹, Ю.С. Хотимченко³

¹ НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (634028 г. Томск, пр-т Ленина, 3), ² Владивостокский государственный медицинский университет (690950 г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), ³ Институт биологии моря имени А.В. Жирмунского ДВО РАН (690041 г. Владивосток, ул. Пальчевского, 17)

ВЛИЯНИЕ ПЕКТАТА КАЛЬЦИЯ И МААЛОКСА НА СЕКРЕТОРНУЮ И ЗАЩИТНУЮ ФУНКЦИЮ ЖЕЛУДКА КРЫС С ЛИГИРОВАННЫМ ПРИВРАТНИКОМ ПО МЕТОДУ Н. SHAY

Ключевые слова: пектат кальция, экспериментальный ulcerогенез.

На модели язвообразования по методу Н. Shay у 34 крыс показано выраженное противоязвенное действие пектата кальция, сравнимое с действием маалокса. Результаты биохимического анализа желудочного секрета, характеризующие секреторную и защитную функции желудка, позволяют сделать вывод о комплексном гастропротекторном эффекте этого полисахарида. Механизм защитного действия, по мнению авторов, реализуется в следующей цепочке реакций: умеренная стимуляция секреции протеолитических ферментов и соляной кислоты — активация хеморецепторов слизистой оболочки — индукция синтеза гликопротеинов и обновление добавочных клеток — повышение защитных свойств слизистой оболочки.

Пектины относятся к классу сложных полисахаридов и являются структурными компонентами клеточной стенки всех высших растений, обеспечивая межклеточную адгезию в растительных тканях подобно коллагену в животных. Основной областью использования пектинов является пищевая промышленность, но исследованиями последних лет выявлен широкий спектр их фармакологических эффектов (гиполипидемический, антимикробный, бактерицидный, иммуномодулирующий, антимуtagenный, противоопухолевый, гепатопротекторный, дезинтоксикационный, противовирусный), по ряду которых сложные полисахариды являются более эффективными или предпочтительными, чем имеющиеся лекарственные средства [6, 7, 8]. Вышеприведенные факты, а также широкий круг потенциальных показаний для применения полисахаридов позволяют, на наш взгляд, поставить перед фармацевтической и фармакологической науками задачу, связанную с разработкой новых лекарственных препаратов на основе пектинов.

Некрахмальный полисахарид пектат кальция представляет несомненный интерес в качестве потенциального источника новых лекарственных средств. Известны экспериментальные данные по оценке его сорбционной активности, которые позволяют рекомендовать препараты на основе этого полисахарида для клинических исследований с целью создания новых средств профилактики и фармакотерапии хронических отравлений тяжелыми металлами [7]. Ранее нами показано, что пектат кальция повышает резистентность слизистой оболочки желудка и двенадцатиперстной кишки животных к ulcerогенам при лечеб-

но-профилактическом внутрижелудочном введении [4, 11]. При этом гастрозащитная активность пектата кальция была сопоставима или превосходила эффекты препаратов сравнения: фамотидина, облепихового масла и маалокса на различных модельных системах.

Все вышесказанное определило целесообразность выполнения настоящей работы: исследование противоязвенного действия пектата кальция и его влияния на секреторную и защитную функцию желудка крыс с лигированным привратником по методу Н. Shay.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на 34 крысах-самках массой 200–250 г разведки лаборатории экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (сертификат). Содержание животных осуществляли в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Пектат кальция вводили профилактическим курсом в дозах 25 и 50 мг/кг, маалокс — в эффективной терапевтической дозе (317 мг/кг), рассчитанной по Е.И. Freireich однократно в течение 7 суток, причем последнее введение препаратов выполнялось за 1 час до ulcerогенного воздействия [1, 3]. Выбор препарата сравнения и эффективных доз обусловлен данными литературы и предварительными исследованиями. Для моделирования язвообразования по Н. Shay проводили лапаротомию по белой линии живота под легким эфирным наркозом, накладывали лигатуру на область привратника, затем ткани ушивали послойно [3]. Эвтаназию животных осуществляли передозировкой эфирного наркоза через 4 часа после операции. В слизистой оболочке выделенных желудков макроскопически определяли число и площадь дефектов, которые дифференцировали на точечные, крупные и полосовидные. Подсчитывали количество и среднюю площадь каждого вида язв, степень повреждения слизистой оболочки характеризовали на основании расчетов суммарной площади язвенных поражений у каждой крысы. Тяжесть поражения определяли по отношению степени повреждения в опытной группе к степени повреждения в контроле. Желудочное содержимое переносили в пробирки, предварительно накладывая зажим на пищевод, и центрифугировали в течение 10 мин при 1500 об./мин. Определяли объем, в каждой из полученных порций

Таблица 1

Влияние пектата кальция и маалокса на развитие язв в слизистой оболочке желудка

Группа животных	Доля животных с язвами, %	Количество изъязвлений			Кол-во язв на особь	Индекс Паулса	ПА ²
		крупных	полосовидных	точечных			
Контроль (n=9)	78	6,44±1,67	2,33±0,60	1,44±0,67	10,22±2,19	7,96	—
Маалокс (n=7)	43	0,57±0,20 ¹	1,00±0,31	1,57±0,87	3,14±0,89 ¹	1,35	5,9
Пектат, 25 мг/кг (n=9)	67	3,22±1,28	1,11±0,46	1,11±0,51	5,44±1,78 ¹	3,64	2,2
Пектат, 50 мг/кг (n=9)	56	4,0±1,52	0,67±0,44 ¹	0,67±0,44	5,34±1,47	2,99	2,7

¹ Разница с контролем статистически значима.² Противоязвенная активность, баллы.

Таблица 2

Влияние пектата кальция и маалокса на выраженность повреждения слизистой оболочки желудка

Группа животных	Площадь язв, мм ²			Степень повреждения, мм ²	Тяжесть повреждения, %
	крупных	полосовидных	точечных		
Контроль (n=9)	4,45±2,45	10,22±3,23	3,22±0,83	17,89±3,57	0
Маалокс (n=7)	4,03±2,17	5,00±1,87	0,50±0,19 ¹	9,54±2,67 ¹	53
Пектат, 25 мг/кг (n=9)	2,44±1,18	6,60±3,02	1,72±0,64	10,76±3,76 ¹	60
Пектат, 50 мг/кг (n=9)	1,74±1,06	2,56±1,36 ¹	2,00±0,76	6,30±1,45 ¹	35

¹ Разница с контролем статистически значима.

измеряли водородный показатель желудочного сока с помощью электронного иономера. Для изучения механизма противоязвенного действия использовали биохимические методики: исследование протеолитической активности желудочного сока по методу Ансона—Мирского в модификации А.М. Уголева (1969), расчет содержания фукозы по методу Дише—Шеттлза (1948), количественное определение нуклеиновых кислот по методу М.Г. Трудюлюбовой [3, 5].

Полученные данные представлены в виде среднего значения и его стандартной ошибки. Малый объем выборки послужил основанием для применения непараметрических критериев для оценки достоверности их различий (критерий Вилкоксона—Манна—Уитни).

Результаты исследования и обсуждение полученных данных. Перевязка привратника по Н. Shay способствовала образованию язвенных деструкций у всех крыс контрольной группы. Слизистая оболочка желудка характеризовалась выраженной васкуляризацией и наличием участков воспаления. Гастропротекторное действие маалокса выражалось в снижении площади точечных деструкций в 6,4 раза, количества крупных изъязвлений — в 11,3 раза, среднего количества язв на одно животное — в 3,3 раза относительно контроля и тяжести повреждения — на 47%. Следует отметить и высокий показатель противоязвенной активности маалокса (табл. 1). Снижение интенсивности язвообразования отмечалось и после курсового профилактического использования пектата кальция. Так, введение полисахарида в дозе 25 мг/кг приводило к достоверному снижению среднего числа язв в 1,9 раза. Несмотря на то что уменьшение площади всех видов деструкций в этой группе животных носило характер тенденции, степень повреждения слизистой оболочки статистически достоверно снижалась в 1,7 раза, а тяжесть пов-

реждения — на 47% по сравнению с контрольными значениями (табл. 2).

Курсовое применение пектата кальция в дозе 50 мг/кг приводило к достоверному снижению количества и площади полосовидных язв в 3,5 и 4 раза соответственно, а ингибция развития крупных деструкций в 2,6 раза носила характер тенденции. При этом показатель тяжести повреждения уменьшался до 35%, что несколько превосходило аналогичные значения для групп, получавших пектат в дозе 25 мг/кг и препарат сравнения. Противоязвенная активность при использовании обеих доз полисахарида оказалась выраженной и сопоставимой (табл. 2).

Используемая модель ulcerогенеза позволяет одновременно оценить противоязвенное действие и влияние препарата на секреторную и защитную функции желудка, на основании чего можно судить о механизме действия лекарственного средства [3]. Обращали на себя внимание похожие фармакологические эффекты и результаты биохимического анализа составляющих желудочного секрета при экспериментальном исследовании некрахмального полисахарида и маалокса, что позволяет думать об антацидном действии пектата кальция (табл. 1–3). В пользу данного предположения свидетельствует доказанная высокая сорбционная способность пектата кальция и наличие ионов кальция в составе его молекулы [8]. Не исключено, что часть ионов кальция под влиянием соляной кислоты отщепляется и вступает с ней в реакцию нейтрализации. Таким образом, если известный механизм действия маалокса ограничивается химической нейтрализацией кислоты за счет входящих в его состав магния и алюминия [1], то антацидный эффект пектата кальция, на наш взгляд, основан на двух компонентах — адсорбции и химической нейтрализации кислотности желудочного секрета. Несмотря на то что общий объем

Таблица 3

Влияние пектата кальция и маалокса на секреторную и защитную функцию желудка

Группа животных	Объем слизи, мл	pH	Протеолитические ферменты, мкмоль/мл	Нуклеиновые кислоты, мг%	Фукоза, мкмоль/мл
Контроль (n=9)	0,073±0,017	3,33±0,33	6,50±1,84	10,96±3,39	11,5±2,72
Маалокс (n=7)	0,069±0,005	3,74±0,56	24,42±8,71 ¹	26,54±2,31 ¹	7,21±0,76
Пектат, 25 мг/кг (n=9)	0,157±0,008 ¹	2,08±0,15 ¹	9,67±2,70	36,3±4,54 ¹	11,58±2,13
Пектат, 50 мг/кг (n=9)	0,080±0,010	3,03±0,42	18,07±4,17 ¹	43,05±0,64 ¹	24,72±5,15 ¹

¹ Разница с контролем статистически значима.

желудочной слизи в результате введения полисахарида (50 мг/кг) не увеличился по сравнению с контролем, статистически значимое повышение концентрации фукозы свидетельствовало в пользу выраженного цитопротекторного действия исследуемого соединения (табл. 3). Усиление регенерации слизистой оболочки может быть обусловлено значительным повышением содержания в желудочном соке нуклеиновых кислот после применения пектата кальция. Согласно данным литературы, повышение концентрации ДНК и РНК в свободном состоянии является маркером распада клеток, но, с другой стороны, известно, что появление свободных нуклеиновых кислот включает механизм отрицательной обратной связи, в результате чего активируется синтез новых добавочных клеток желудка [2, 9, 10]. Напротив, в случае применения маалокса наблюдалось некоторое снижение концентрации фукозы на фоне достоверного увеличения уровня нуклеиновых кислот и протеолитических ферментов.

Анализ биохимических показателей желудочного сока, характеризующих секреторную и защитную функции, позволяет сделать вывод о комплексном гастропротекторном эффекте пектата кальция. Его механизм, на наш взгляд, реализуется в следующей цепочке реакций: умеренная стимуляция секреции протеолитических ферментов и соляной кислоты → активация хеморецепторов слизистой оболочки → индукция синтеза гликопротеинов и обновление добавочных клеток → повышение защитных свойств слизистой оболочки желудка. Необходимо подчеркнуть, что параллельно происходит инактивация избыточного количества соляной кислоты. Однако последнее действие характерно только для пектата кальция в дозе 50 мг/кг, тогда как при использовании меньшей концентрации отмечалось достоверное снижение кислотности сока и уровня протеолитических ферментов, аналогичное таковому контрольной группы.

Резюмируя вышесказанное, можно сделать вывод о том, что противоязвенное действие пектата кальция обусловлено его антацидным и цитопротекторным эффектами. Учитывая ранее полученные экспериментальные данные, можно сделать вывод о перспективности дальнейшего доклинического изучения этого некрахмального полисахарида на других моделях экспериментального ulcerogenesis.

Литература

1. Венгеровский А.И. Лекции по фармакологии для врачей и провизоров. Томск: СТТ, 2001. 576 с.

- Дятлов Н.М., Смирнов К.В., Новиков Н.Г. Язвенная болезнь и симптоматические язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. СПб.: Питер, 2004. 274 с.
- Крылова С.Г. Растения Сибири и Дальнего Востока в терапии язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Томск, 2005. 50 с.
- Крылова С.Г., Хотимченко Ю.С., Зуева Е.П. и др. Гастропротективное действие некрахмальных полисахаридов природного происхождения // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2006. Т. 142, № 10. С. 437–441.
- Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. М.: Медицина, 1977. 372 с.
- Хотимченко Ю.С., Ковалев В.В., Савченко О.В., Зиганшина О.А. Физико-химические свойства, физиологическая активность и применение альгинатов – полисахаридов бурых водорослей // Биология моря. 2001. Т. 27, № 3. С. 151–162.
- Хотимченко Ю.С., Кропотов А.В., Хотимченко М.Ю. Фармакологические свойства пектинов // Эфферентная терапия. 2001. Т. 7, № 4. С. 22–36.
- Хотимченко Ю.С., Ермак И.М., Бедняк А.Е. и др. Фармакология некрахмальных полисахаридов // Вестник ДВО РАН. 2005. № 1. С. 72–81.
- Чернин В.В. Язвенная болезнь. Тверь: РИЦ ТГМА, 2000. 288 с.
- Яццкий Н.А., Седов В.М., Морозов В.П. Язвы желудка и 12-перстной кишки. М.: Медэкспресс-информ, 2002. 348 с.
- Khotimchenko M., Zueva E., Krylova S. et al. Gastroprotective activity of pectins against acute indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats. Gastroprotective activity of pectins against acute indomethacin-induced gastric mucosal injury in rats // Acta Pharm. Sinica (The 15th World Cong. of Pharm., China). 2006. P. 242.

Поступила в редакцию 26.01.2009.

INFLUENCE OF CALCIUM PECTATE AND MAALOX UPON SECRETORY AND PROTECTIVE FUNCTION OF RAT'S STOMACH WITH PYLORUS LIGATED ACCORDING TO THE METHOD OF H. SHAY

S.G. Krylova¹, L.A. Efimova¹, M.Yu. Khotimchenko², Z.K. Vymyatnina¹, E.P. Zueva¹, E.N. Amosova¹, T.G. Razina¹, K.A. Lopatina¹, Yu.S. Khotimchenko²

¹ Scientific-Research Institute of Pharmacology of Tomsk Scientific Centre, RAMS, Siberian Branch (3 Lenina Av. Tomsk 634028 Russia), ² Vladivostok State Medical University (2 Ostryakov Av. Vladivostok 690950 Russia), ³ Institute of Marine Biology, FEB RAS (17 Palchevsky St. Vladivostok 690041 Russia)

Summary — Using the model of ulceration according to the method of H. Shay, 34 rats showed severe antiulcer action of Calcium Pectate, which may be comparable to Maalox action. The results from biochemical analysis of gastric secretion describing the stomach secretory and protective function allow making a conclusion that such polysaccharide is of complex gastroprotective effect. In the authors' opinion, mechanism of protective effect is implemented in the following response chain: moderate stimulation of secretion of proteolytic enzymes and hydrochloric acid — activation of mucosa chemoreceptors — induction of glycoproteins synthesis and regeneration of accessory cells — enhancement of mucosa protective properties.

Key words: calcium pectate, experimental ulcerogenesis.

Pacific Medical Journal, 2009, No. 4, p. 65–67.