

ВЛИЯНИЕ ПОЛИСАХАРИДНОГО ПРЕПАРАТА «ИММЕРАН» НА ТЕЧЕНИЕ ЯЗВЕННОЙ БОЛЕЗНИ ЖЕЛУДКА И ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ

Генералов Е.А.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова
Ленинские горы, д. 1, стр. 2, г. Москва, 119991, РФ; e-mail: generals1179@gmail.com

Поступила в редакцию: 23.06.2019

Аннотация. В проведенном исследовании изучалось влияние полисахаридного противоязвенного регенераторно-репаративного препарата «Иммеран», экстрагированного из *Solanum tuberosum L.*, на течение язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки в модели Окабэ у белых крыс породы Wistar. Вместе с тем изучалось влияние полисахаридного препарата на уровень цитокинов в сыворотке крови крыс. Обнаружено, что «Иммеран» модулирует уровень про- и противовоспалительных цитокинов согласованно с периодом развития болезни – в деструктивной фазе и фазе заживления язвенного дефекта. Уровень цитокинов IL-1b и IFN- γ на 4 день течения язвенной болезни являлся высоким, а IL-4 – низким, введение препарата «Иммеран» приводило обратному эффекту, что положительно сказывалось на ранозаживлении. Параллельно с этим проводили гистологическое изучение язвенного дефекта, на котором обнаружено значительное изменение в процессах регенерации слизистой оболочки желудка под действием полисахаридного препарата «Иммеран». В том числе определяли язвенный индекс и патоморфологические изменения стенки желудка после забоя животных. Обнаружено, что применение препарата «Иммеран» в модели хронической язвы достоверно улучшает состояние подопытных при двух-, а острой – при трехкратном введении.

Ключевые слова: «Иммеран», полисахарид, язвенный дефект, IL-1b, IL-4, IFN- γ .

ВВЕДЕНИЕ

Язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки является хроническим, рецидивирующим, мультифакторным и одним из широко распространенных заболеваний желудочно-кишечного тракта. Несмотря на недавние успехи в изучении патогенеза течения язвенной болезни и сравнительные успехи в купировании и лечении проявлений язвенной болезни заболеваемость распространенность данного заболевания в популяции весьма высока – до 10% в странах Европы, а в некоторых странах мира выше [1].

Стандартным подходом в лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки является прямое воздействия на предрасполагающие и раздражающие факторы, такие как: кислотность желудка (ингибиторы протонной помпы), количество *Helicobacter pylori* (антибиотикотерапия), раздраженность стенки желудка (обволакивающие и противовоспалительные средства) и др. [2] При этом схемы лечения язвенной болезни многокомпонентной сочетанной терапией чаще всего нарушаются пациентами в силу психологических факторов и негативных побочных явлений. Вместе с тем лишь относительно недавно стал развиваться подход иммунотерапии язвенного дефекта, основанный на регулировании уровня про- и противовоспалительных цитокинов в организме больного, а также уровне Т-хелперов (Th) первого и второго типов [3-5]. Вместе с тем показано, что полисахариды из природных источников могут оказывать благотворное действие на процессы ранозаживления, например, экстрагированные полисахариды из *Radix Hedysari* могут запускать процессы регенерации в периферических нейронах крыс [6], полисахариды, выделенные из фруктов, оказывают гастропротективное и ранозаживляющее действие [7], а полисахариды из *Helianthus tuberosus L.* – колониестимулирующее, радиопротекторное и иммуномодулирующее действие [8]. В связи с этим возникает необходимость получения биологически активного препарата из сравнительно дешевого растительного сырья, способного к нормализации иммунного ответа при язвенной болезни желудка, низкотоксичного и способного активировать процессы регенерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Полисахаридный препарат «Иммеран» имеет молекулярную массу около 70 кДа, и имеет моносахаридный состав в пределах: глюкоза 57,3%, арабиноза 14,7%; галактоза 30,2%; уроновых кислот 6,4%, а также в минорных количествах ксилозы и маннозы и содержит в своем составе около 5% белка.

Опыты проводили на 190-210 г крысах линии Wistar обоего пола. Производитель – филиал «Андреевка» ГУ «Научный центр биомедицинских технологий» РАМН. Каждая группа состояла из 5 животных. За сутки до операции прекращалась подача пищи с сохранением свободного доступа к воде, после операции корм давали в стандартном режиме. Через 3 и 10 суток крысы забивали – группы модели острой и хронической язвы соответственно.

Полисахаридный препарат «Иммеран» (ЛП-004128 2017-02-08) вводили через зонд в дозе 0.5 мг/животное через 30 минут после операции – первое введение, в модели острой язвы: раз в сутки 3 раза и однократно, в модели хронической язвы: ежедневно 3 суток и на 5 сутки однократно, двукратно – в первые и 6

сутки. В группе контроля выбраны крысы с введением препарата «Солкосерил» (ежедневно внутримышечно 21 мг/0,5 мл на животное) – положительный контроль и трехкратное введение 0,9% раствора NaCl.

Для изучения действия препарата «Иммеран» использовали модель Окабэ экспериментальной ацетатной язвы [9]. У животных, находящихся под общим наркозом, извлекали желудки и накладывали кольца с внутренним $d = 0,5$ см, внутрь которого наносили 0,02 мл концентрированной уксусной кислоты на 25-30 сек. После чего зашивали брюшную стенку послойно. В дальнейшем, после забоя животных, желудок наполняли 1% раствором формалина. Проводили оценку язвенного индекса по площади пораженного участка (см^2). Вместе с тем наборами ELISE-kit оценивали концентрацию цитокинов в сыворотки крови крыс. С этой целью использовали спектрофотометр Multiscan.

Гистологические препараты готовили из кусочков передней стенки желудка. Ткани помещали в один блок, декальцинировали, проводили и помещали в раствор целлоид-парафина. После чего получали срезы с использованием микротомы. Окрашивание проводили гематоксилинэозином по Ван-Гизону, шик-реакцией, альтиановым синим и толуидиновым синим.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ВЫВОДЫ

Полученные данные демонстрируют, что применение препарата «Иммеран» в разной степени эффективно во всех экспериментальных группах.

В результате проведенного эксперимента были получены следующие данные, представленные в таблицах 1, 2 и на рисунке 1. В модели острой токсичности наилучший результат продемонстрировал препарат Иммеран при трехкратном введении, что выразилось в стимуляции ранозаживления язвенного дефекта почти в 2,5 раза эффективнее, чем у препарата сравнения «Солкосерил» и почти в 3,5 раза эффективнее контроля.

Вместе с тем в модели хронической язвы желудка крыс препарат «Иммеран» в схеме двукратного применения стимулировал ранозаживление в 1,8 раза эффективнее препарата «Солкосерил» и в 3,8 раза эффективнее, чем в контрольной группе. Введение полисахаридного препарата «Иммеран» в четырехкратной схеме так же приводило к ускоренному заживлению язвенного дефекта по сравнению с контрольными группами.

Динамика показателей уровней цитокинов в сыворотки крови крыс также была оценена. В результате получено, что препарат «Иммеран» модулирует уровень концентрации про- (IFN- γ , IL-1b) и противовоспалительных цитокинов (IL-4). Наблюдалась фазность изменений их концентрации в зависимости от периода регенераторно-репаративных процессов в заживлении язвенного дефекта. Модулирующее действие на провоспалительные цитокины, в свою очередь, приводит к тому, что снижается цитотоксический эффект, интоксикация и, как следствие, ускоряется ранозаживление.

С другой стороны, концентрация противовоспалительного цитокина IL-4 начинает возрастать и к 10 суткам достигает своего максимума при падении концентрации провоспалительных цитокинов. Такие результаты свидетельствуют об иммунопосредованном воздействии полисахаридного препарата на течение язвенной болезни, а именно – регуляции клеточного и гуморального иммунитета, которые гиперактивированы за счет повреждения тканей. Более того периодичность выработки антител, Т-клеточного ответа, увеличение популяции Th2 типа или Th1 типа равна 7 и 14 суткам.

Таблица 1. Язвенный индекс при введении препарата «Иммеран» в модели острой язвы.

	Препарат	Схема введения	ЯИ, см^2	
1	Иммеран	Ежедневно, 3 раза	$0,121 \pm 0,03$	$P < 0,05$
2	Иммеран	Однократно в 1-е сутки	$0,23 \pm 0,04$	$P > 0,05$
3	Физ. р-р	Ежедневно, 3 раза	$0,417 \pm 0,081$	
5	Солкосерил	Ежедневно, 3 раза	$0,31 \pm 0,07$	

Таблица 2. Язвенный индекс при введении препарата «Иммеран» в модели хронической язвы.

	Препарат	Схема введения	ЯИ, см^2	
1	Иммеран	Ежедневно, 3 раза и однократно на 5-е сутки	$0,057 \pm 0,01$	$P < 0,05$
2	Иммеран	Однократно на 6-е сутки	$0,063 \pm 0,012$	$P < 0,05$
3	Иммеран	Двукратно в 1-е и 6-е сутки	$0,037 \pm 0,007$	$P_1 < 0,05$ $P_2 < 0,05$ (с +-контролем)
4	Физ. р-р, P_1	Двукратно в 1-е и 6-е сутки	$0,14 \pm 0,03$	
5	Солкосерил, P_2	Двукратно в 1-е и 6-е сутки	$0,068 \pm 0,008$	

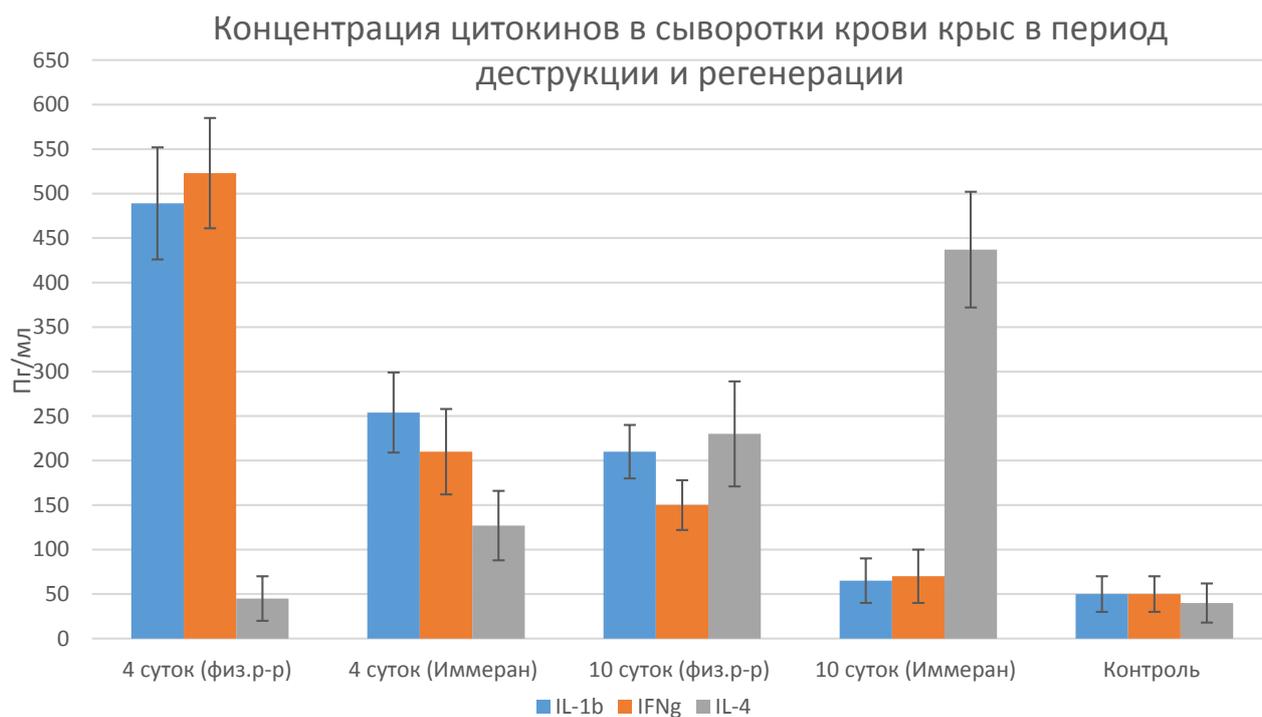


Рисунок 1. Концентрация цитокинов в сыворотке крови в период деструкции (4 суток) и в период регенераторно-репаративных процессов (10 суток)

На рисунке 2 представлены характерные гистологические картины для данного эксперимента. Гистологическая картина в контрольной группе отличалась тем, что дно язвы было обширным с некоторым количеством некротических масс, низким содержанием коллагеновых волокон, грануляционная ткань на раннем этапе формирования и находится под негативным действием некротических масс, также обнаружено большое количество кист и расширения железистых протоков по краям язвенного дефекта.

Одновременно с этим в группах подопытных животных, получавших препарат «Иммеран», патоморфологически ткани с язвенными дефектами значительно отличались от контроля с введением физиологического раствора. Так отмечалось уплощение язвенного дефекта, сильное истончение слоя или полное отсутствие некротических масс и его обильная инфильтрация лейкоцитами. При этом элиминация некротических масс в основном происходила в группах с введением препарата «Иммеран», чем в группах с введением препарата «Солкосерил». С другой стороны, отмечается улучшение микроциркуляционного потенциала, за счет увеличения числа фибробластов и новообразованных сосудов в грануляционной ткани, в сравнении с контрольной группой. В контрольной группе наблюдалась картина образования фибриноидного некроза и ростом колоний микробов.

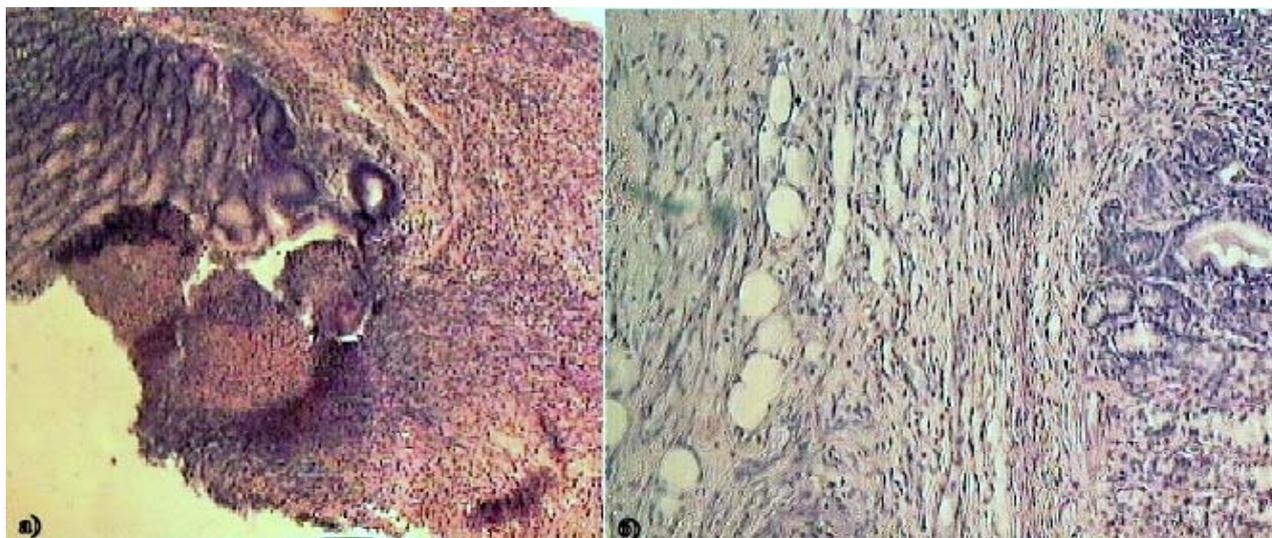


Рисунок 2. Гистологическая картина состояния язвенного дефекта на 10-е сутки: а) контроль с физ. раствором, б) введение препарата «Иммеран»

Помимо прочего следует отметить, что в опытных группах происходило наслоение уплощенного эпителия на поверхность дна язвенного дефекта и формирование структур пилорического типа. Окрашивание позволило обнаружить высокое содержание кислых и нейтральных глюкозамингликанов в эпителии, расположенном дистальнее язвенной ямки, покрытой новообразованной слизистой. Наблюдалось формирование фундальной слизистой – увеличенное содержание главных и париетальных клеток. Гистологически подслизистый слой демонстрирует большое количество тонких коллагеновых волокон и фибробластов. Все эти признаки свидетельствуют о более быстром и надежном заживлении.

ВЫВОДЫ

Препарат «Иммеран» обладает ярко выраженными регенераторно-репараторными свойствами, обусловленными влиянием на иммунокомпетентные клетки, которые продуцируют про- и противовоспалительные цитокины. Для эффективного заживления язвенного дефекта в модели «острой» язвы достаточно трех введений, а «хронической» - двух и не требует ежедневного приема. При этом регенераторные процессы в слизистой развиваются быстрее, слизистая более дифференцирована, обнаруживаются элементы восстановления железистой ткани и сосудистой сетки, что улучшает кровоток и трофику тканей. Введение препарата «Иммеран» приводит к изменению глубины язвенного дефекта и отсутствию грубой рубцовой ткани, что существенно снижает риск рецидива и эффективнее восстанавливает работу органа. Более того применение препарата «Иммеран» приводит к значительному снижению провоспалительных цитокинов с одновременным повышением противовоспалительных цитокинов, что согласуется с изменением язвенного индекса и патоморфологической картиной язвенного дефекта.

Список литературы / References:

1. Габбасова Л.В., Волевач Л.В., Палтусов А.И. и др. *Язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки у лиц молодого возраста: Монография*. БГМУ Минздрава России. Тамбов: ООО «Консалтинговая компания Юком», 2017, 48 с. [Gabbasova L.V., Volevach L.V., Paltusov A.I. et al. *Duodenal ulcer in young people: Monograph*. BSMU Ministry of Health of Russia. Tambov: Consulting Company Ucom LLC, 2017, 48 p. (In Russ.)] DOI: 10.17117/mon.2017.11.01.
2. Ивашкин В.Т., Шептулин А.А., Маев И.В. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению язвенной болезни. *Рос. Журн. Гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.*, 2016, т. 26, № 6, с. 40-54. [Ivashkin V.T., Sheptulin A.A., Maev I.V. et al. Diagnostics and treatment of peptic ulcer: clinical guidelines of the Russian gastroenterological Association. *Ross. Z. gastroenterol., gepatol., koloproktol.*, 2016, vol. 26, no. 6, pp. 40-54.]
3. Bagheri N., Salimzadeh L., Shirzad H. The role of T helper 1-cell response in Helicobacter pylori-infection. *Microb Pathog*, 2018, vol. 123, pp. 1-8. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.06.033.
4. Mahdi B.M. Role of Immunity in Gastric Ulcer. *Journal of Gastroenterology and Hepatology Research*, 2013, vol. 2, no. 10, pp. 803-806. DOI:10.6051/j.issn.2224-3992.2013.02.347.
5. Larussa T., Leone I., Suraci E., et al. Helicobacter pylori and T Helper Cells: Mechanisms of Immune Escape and Tolerance. *Journal of Immunology Research*, 2015, vol. 12, pp. 1-10. DOI: 10.1155/2015/981328.
6. Wei S.Y., Zhang P.X., Han N., et al. Effects of Hedysari polysaccharides on regeneration and function recovery following peripheral nerve injury in rats. *Am. J. Chin. Med.*, 2009, vol. 37, no. 1, pp. 57-67. DOI: 10.1142/S0192415X09006618.
7. Khan M.S.A., Khundmiri S.U.K., Khundmiri S.R. Fruit-Derived Polysaccharides and Terpenoids: Recent Update on the Gastroprotective Effects and Mechanisms. *Front Pharmacol.*, 2018, vol. 9, p. 569. DOI: 10.3389/fphar.2018.00569.
8. Генералов Е.А. Водно-растворимый полисахарид из Helianthus tuberosus L.: радиозащитная, колониестимулирующая и иммуномодулирующая активность. *Биофизика*, 2015, т. 60, № 1, с. 73-79. [Generalov E.A. Water-soluble polysaccharide from Helianthus tuberosus L.: radioprotective, colony-stimulation and immunomodulation activities. *Biofizika*, 2015, vol. 60, no. 1, pp. 73-79. (In Russ.)]
9. Okabe S., Amagase K. An Overview of Acetic Acid Ulcer Models – The History and State of the Art of Peptic Ulcer Research. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 2005, vol. 28, no. 8, pp. 1321-1341. DOI: 10.1248/bpb.28.1321.

EFFECTS OF THE IMMERAN POLISACCHARIDE DRUG ON THE COURSE OF THE PERSONAL ACCIDENT OF THE STOMACH AND THE DUALCYTHERNAL TABLE**Generalov E.A.***Lomonosov Moscow State University**Leninskie Gory, Moscow, 119991, Russia; email: generals1179@gmail.com*

Abstract. In the conducted study the effect of the polysaccharide anti-ulcer regenerative-reparatory drug «Immeran», extracted from *Solanum tuberosum L.*, on the course of gastric ulcer and duodenal ulcer in the Okabe model in Wistar white rats was studied. At the same time, the effect of the polysaccharide preparation on the level of cytokines in the serum of rats was studied. «Immeran» has been found to modulate the level of pro- and anti-inflammatory cytokines consistently with the period of development of the disease – in the destructive and healing phases of the ulcer. The level of cytokines IL-1b and IFN- γ on day 4 of the course of peptic ulcer was high, and IL-4 was low, the administration of «Immeran» resulted in the opposite effect, which had a positive effect on wound healing. In parallel with this, a histological study of the ulcerative defect was performed, on which a significant change was found in the processes of regeneration of the gastric mucosa under the action of the polysaccharide preparation «Immeran». Including determined the ulcer index and pathological changes in the stomach wall after slaughter of animals. It was found that the use of the drug «Immeran» in the model of chronic ulcer reliably improves the condition of the experimental patients with two, and acute - with a threefold administration.

Key words: *Immeran, polysaccharide, ulcerative defect, IL-1b, IL-4, IFN- γ .*