

А. Н. ТИШИН¹, М. В. ПОКРОВСКИЙ², О. М. ТИШИНА³, В. И. ЯКУШЕВ², Н. В. ЗАБОЛОТСКИХ⁴

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОДИАРЕЙНОЙ АКТИВНОСТИ МОНТМОРИЛЛОНИТ-СОДЕРЖАЩЕГО ЭНТЕРОСОРБЕНТА

¹ БУЗ ОО Орловская областная клиническая больница, бульвар Победы, 10, г. Орел, Россия, 302028

² Кафедра фармакологии ФГАОУ ВО Белгородский государственный национальный исследовательский университет, ул. Победы, 85, г. Белгород, Россия, 308015

³ ФКУЗ «Медико-санитарная часть УМВД России по Орловской области», ул. Салтыкова-Щедрина, 37, г. Орёл, Россия, 302028

⁴ Кафедра нервных болезней и нейрохирургии с курсом нервных болезней и нейрохирургии ФПК и ППС ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, ул. Седина, 4 г. Краснодар, Россия, 350063

АННОТАЦИЯ

Цель. Провести изучение противодиарейной активности энтеросорбента на основе монтмориллонита на модели серотонин-индуцированной диареи.

Материалы и методы. Исследование проведено на лабораторных мышах обоего пола, острая диарея индуцировалась внутрибрюшинным введением серотонина гидрохлорида в дозе 0,32 мг/кг, энтеросорбент в виде водной суспензии вводили перорально в широком диапазоне доз за 30 минут до введения серотонина. В течение 4 часов учитывали время наступления диареи, количество дефекаций, содержание жидкости в каловых массах, проводили морфологическое исследование тонкой кишки.

Результаты. Введение серотонина приводило к развитию диареи у 100% животных в течении 12,8±1,2 минут, количество дефекаций увеличивалось в 2,5 раза по сравнению с интактными животными и составило 19,5±0,5 раз за 4 часа, дефекации были преимущественно влажными и жидкими. Применение энтеросорбента под шифром Crim_04 в максимальной используемой дозе приводило к задержке развития диареи до 73,6±4,1 минут, сокращению количества дефекаций до 9,4±0,1 и значительному уплотнению каловых масс. Противодиарейный эффект энтеросорбента подтвержден морфологически.

Заключение. Энтеросорбент на основе монтмориллонита под лабораторным шифром Crim_04 обладает дозозависимой противодиарейной активностью при моделировании серотонин-индуцированной диареи.

Ключевые слова: энтеросорбент, монтмориллонит, диарея, противодиарейная активность

Для цитирования: Тишин А.Н., Покровский М.В., Тишина О.М. и др. Экспериментальное изучение противодиарейной активности монтмориллонит-содержащего энтеросорбента. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2017; 24(5): 82-89. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-5-82-89

For citation: Tishin A.N., Pokrovskii M.V., Tishina O.M., Yakushev V.I., Zabolotskih N.V. Experimental study of the antidiarrhoeal activity of montmorillonite-containing enterosorbent. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2017; 24(5): 82-89. (In Russ., English abstract). DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-5-82-89

A. N. TISHIN¹, M. V. POKROVSKII², O. M. TISHINA³, V. I. YAKUSHEV², N. V. ZABOLOTSKIH⁴

EXPERIMENTAL STUDY OF THE ANTIDIARRHOEAL ACTIVITY OF MONTMORILLONITE-CONTAINING ENTEROSORBENT

¹ Orel Regional Clinical Hospital, Pobedy Boulevard, 10, Orel, Russia, 302028

² Department of Pharmacology, Belgorod National Research University, Pobedy str., 85, Belgorod, Russia, 308015

³ Medical-sanitary Part of the Ministry of Internal Affairs of Russia for Orel region, Saltykov-Shchedrin str., 37, Orel, Russia, 302028

⁴ Department of Nervous Diseases and Neurosurgery with the Course of Nervous Diseases and Neurosurgery FPC and Faculty FSBEI HE KSMU Ministry of Healthcare of Russia, Sedina str., 4 Krasnodar, Russia, 350063

ABSTRACT

Aim. To study the antidiarrhoeal activity of montmorillonite-based enterosorbent on the model of serotonin-induced diarrhea.

Materials and methods. The study was performed on laboratory mice of both genders, acute diarrhea was induced by intraperitoneal injection of serotonin hydrochloride at a dose of 0.32 mg/kg, enterosorbent as an aqueous suspension

was administered orally in a wide range of doses 30 minutes prior to serotonin administration. Within 4 hours, the time of diarrhea onset, the number of defecations, the fluid content in the fecal masses was considered. Morphological examination of the small intestine was carried out.

Results. The administration of serotonin led to the development of diarrhea in 100% of animals in $12,8 \pm 1,2$ minutes, the number of defecations increased 2,5 times compared to intact animals and was $19,5 \pm 0,5$ times within 4 hours, the fecal masses were predominantly wet and liquid. The use of enterosorbent under the Crim_04 cipher in the maximum dose led to a delay in the development of diarrhea to $73,6 \pm 4,1$ minutes, a reduction in the number of defecations to $9,4 \pm 0,1$ and a significant inspissation of stool. The antidiarrhoeal effect of enterosorbent was confirmed morphologically.

Conclusions. Montmorillonite-based enterosorbent under the laboratory cipher Crim_04 has a dose-dependent antidiarrhoeal activity in the modeling of serotonin-induced diarrhea.

Keywords: enterosorbent, montmorillonite, diarrhea, antidiarrhoeal activity

Введение

Одним из самых распространенных заболеваний, имеющим водное или пищевое происхождение, является диарея. По данным ВОЗ, диарея является одной из ведущих причин смертности в мире, занимая 8 место по частоте причин смерти. Не смотря на то, что смертность от диареи в последние годы сократилась, в 2015 г. в мире от диарейных заболеваний погибло 1,39 млн человек, большинство из которых дети. Ежегодно регистрируется более 1,7 млрд случаев диареи в мире, что делает диарею одним из наиболее распространенных заболеваний в мире. Эта статистика касается, главным образом, стран с низкими и средне-низкими доходами [1, 2].

При лечении диареи широко используются средства регидратационной терапии, антибактериальные и противовирусные средства. В качестве адъювантной терапии используется метод энтеросорбции [3, 4, 5]. Особый интерес в этом отношении представляет минеральное сырье, в частности монтмориллонит. Монтмориллонит относится к слоистым минералам из группы смектита. Среди энтеросорбентов минерального происхождения наибольшей популярностью обладает диоктаэдрический смектит, имеющий сходную с монтмориллонитом структуру. Благодаря своим свойствам диоктаэдрический смектит обладает противодиарейным, цитомукопротекторным действием, имеет высокую сорбционную активность в отношении токсинов бактерий при пероральном применении [6, 7]. Диосмектит с успехом используется в качестве адъювантной терапии диарей, включая вирусную, в том числе у детей [8-15].

Энтеросорбционные препараты на основе минерального сырья, главным образом смектит диоктаэдрический, пользуются повышенным спросом у населения России, значительно опережая другие энтеросорбенты [16]. В настоящий момент на российском фармацевтическом рынке представлены 4 лекарственных средства, обладающих энтеросорбционной активностью на основе минералов смектитовой группы. Однако все они производятся из субстанций зарубежного производства. Разработка лекарственных препаратов на основе отечественных субстанций является актуальной задачей для здравоохранения и фармацевтиче-

ской промышленности и согласуется со «Стратегией Фарма-2020» [17, 18].

Цель исследования: провести доклиническое изучение противодиарейной активности энтеросорбента на основе монтмориллонита под лабораторным шифром Crim_04 на модели серотонин-индуцированной диареи.

Материалы и методы

Работа была выполнена на базе ФГАОУ «Белгородский государственный университет» в лаборатории доклинических исследований. Все этапы исследования были выполнены в соответствии требованиям ГОСТ ИСО/МЭК 17025-2009, ГОСТ Р ИСО 5725-2002 и «Правилами лабораторной практики», утвержденными приказом Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 № 708н, с соблюдением «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» [Directive 2010/63/EU].

Объектом исследования явился опытный образец энтеросорбента на основе монтмориллонита крымского месторождения под лабораторным шифром Crim_04, предоставленный ООО «Крымфармамед». Опытный образец энтеросорбента Crim_04 представляет собой порошок от желтого- или серовато-белого цвета до серовато- или коричневатого-желтого цвета с запахом ванилина. В состав опытного образца входят монтмориллонит, модифицированный ионами серебра, ванилин, декстроза моногидрат, сахарин натрия, аэросил 200. Массовая доля монтмориллонита составляет 62,4%, содержание серебра – 0,15%. Размер наиболее часто встречающихся частиц в суспензии составляет 7,08 мкм. В качестве препаратов сравнения использовали энтеросорбент «Смекта», представленный как эталонный энтеросорбционные препарат минерального происхождения и препарат лоперамид, представленный как эталонный противодиарейный препарат.

Для изучения фармакологической активности энтеросорбента на основе монтмориллонита под лабораторным шифром Crim_04 были проведены исследования на 140 лабораторных мышах обоего пола массой 25 ± 2 г. Животные были получены из вивария ФГАОУ «Белгородский государственный университет». Условия содержания: в стандарт-

ных условиях в соответствии с санитарными правилами (№ 1045-73), утвержденными МЗ СССР 06.04.73г и приказом МЗ СССР №755 от 12.08.77 г. и ГОСТ Р 53434-2009.

Диарею у мышей вызывали внутрибрюшинным введением серотонина гидрохлорида (5-гидрокситриптамиин – 5-ГТ) (H9523, Sigma-Aldrich, США) в дозе 0,32 мг/кг (n=20 животных) [19]. Серотонина гидрохлорид применялся через 30 минут после внутрижелудочного введения энтеросорбентов и лоперамида. В группе интактных животных внутрибрюшинно применялся 0,9% раствор натрия хлорида 10 мл/кг (n=20 животных).

В экспериментальных группах животным внутрижелудочно однократно вводили водные суспензии энтеросорбентов Crim_04 в дозах 880 мг/кг, 1660 мг/кг, 3320 мг/кг и препарата «Смекта» в дозе 1660 мг/кг, лоперамида в эффективной дозе 10 мкг/кг, полученной с учетом пересчета доз на животных со средней терапевтической суточной дозы для человека, принимая во внимание массу мыши в 25 г и массу человека в 70 кг. В контрольной группе животные получали эквивалентное количество 0,9% раствора натрия хлорида.

После моделирования патологии мыши по одной располагались на белом листе бумаги для оценки времени наступления диареи и подсчета количества дефекаций через часовой интервал в течении 4 часов. Бумажное покрытие менялось каждый час. Учитывалось время наступления диареи, число дефекаций. Для подсчета выраженности ингибирования (БИ, СИ) диареи использовали формулу (1).

$$SI(\%) = \left[\frac{(Dk - Di)}{Dk} \right] \times 100\% \quad (1),$$

где Dk – количество влажных и жидких дефекаций в контрольной группе, Di – количество влажных и жидких дефекаций в исследуемых группах. Также осуществлялся подсчет коэффициента выраженности диареи (КВД, CSD). Для этого использовали балльную шкалу оценки дефекаций: 1 балл – нормальные экскременты, 2 – полужидкие, влажные дефекации, 3 балла – жидкие дефекации (рис. 1). Показатель рассчитывался по формуле (2).

$$CSD = \frac{(N \times 1 + S \times 2 + L \times 3)}{\Delta D} \quad (2),$$

где N – количество нормальных экскрементов, S – количество полужидких экскрементов, L – количество жидких экскрементов, ΔD – общее количество дефекаций за время наблюдения.

Стрессовые дефекации в начале эксперимента при подсчете общего количества каловых выходов в процессе эксперимента не учитывались.

По истечении 4 часов наблюдения животные

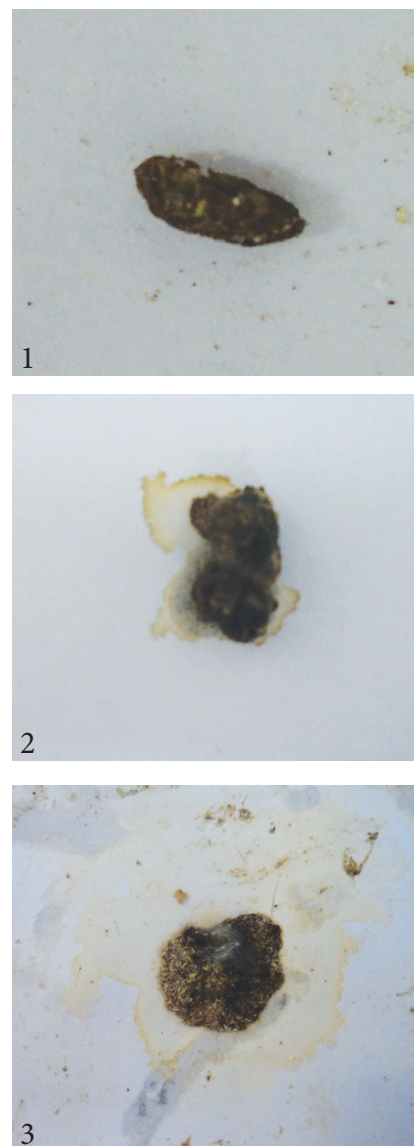


Рис. 1. Вид каловых масс у мышей (фото X5): 1 – нормальные каловые массы; 2 – полужидкие, влажные каловые массы; 3 – жидкие каловые массы.

Fig. 1. Appearance of mice fecal masses (photo X5): 1 – normal fecal masses; 2 – semi-liquid, wet fecal masses; 3 – liquid feces.

под наркозом выводились из эксперимента с последующим забором образцов тонкого кишечника для проведения патоморфологического исследования.

Для гистологического исследования у животных забирали участки ткани тонкого кишечника. При этом участки тканей фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, с последующей заливкой в парафин. Из полученных блоков готовили срезы толщиной 5-7 мкм. Окраску проводили гематоксилин-эозином. Микроскопическое исследование проводили на микроскопе «Микмед-6» (ЛОМО, Санкт-Петербург), анализ изображений осуществлялся с помощью программы «Микро-анализ Pro» (ООО «ЛОМО-Микросистемы», Санкт-Петербург).

Статистическую обработку данных, полученных в ходе эксперимента, проводили с использо-

ванием пакетов статистических программ Microsoft Excel 2010 и STATISTIKA 6.0 для Windows. Средние значения изучаемых показателей представлены в виде ($M \pm m$), где M – среднее арифметическое, а m – стандартная ошибка среднего. Для анализа различий показателей между группами использовали t -критерий Стьюдента. Достоверным считали различие сравниваемых показателей при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Было установлено, что внутрибрюшинное введение серотонина гидрохлорида в дозе 0,32 мг/кг в течении 15 минут вызывало диарею у 100% животных с выраженным повышением содержания жидкости в каловых массах. Применение энтеросорбента под шифром Crim_04, препарата «Смекта» и лоперамида значительно увеличивали время наступления диареи (рис. 2, А).

1660 мг/кг достоверно не отличались от эффекта диоктаэдрического смектита в такой дозе. Вместе с тем, энтеросорбент под шифром Crim_04 и препарат «Смекта» значительно уступали по времени наступления диареи лоперамиду.

За время наблюдения были выполнены подсчет количества дефекаций и оценка влияния на этот показатель применения энтеросорбента на основе монтмориллонита под шифром Crim_04 в дозах 880 мг/кг, 1660 мг/кг и 3320 мг/кг в сравнении с препаратом «Смекта» и лоперамидом (рис. 2, Б).

Было выявлено, что введение серотонина гидрохлорида вызывает значительное увеличение количества дефекаций за указанный период времени по сравнению с группой интактных животных. Применение энтеросорбента под шифром Crim_04 снижало количество дефекаций у мышей при моделировании серотонин-индуцированной

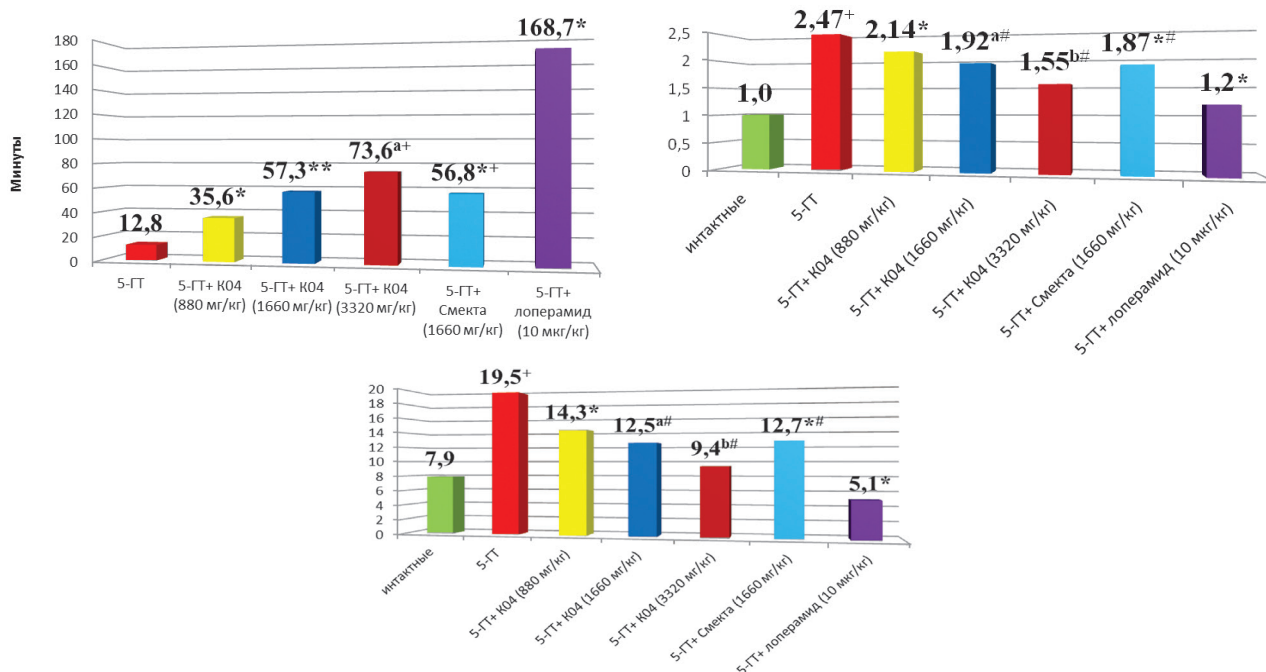


Рис. 2. Дозозависимое влияние энтеросорбента под шифром Crim_04 на время наступления диареи (А, минуты), количество дефекаций (Б, число), консистенцию каловых масс (В, усл. Ед.) при серотонин-индуцированной диарее у мышей.

Fig. 2. Dose-dependent influence of the enterosorbent under the Crim_04 code for the time of onset of diarrhea (A, minutes), the number of defecations (B, number), the consistency of fecal masses (B, cu) at serotonin-induced diarrhea in mice.

+ – при $p < 0,05$ в сравнении с группой интактных животных;

* – при $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой;

a – $p < 0,05$ в сравнении группой Crim_04 в дозе 880 мг/кг;

b – $p < 0,05$ в сравнении группой Crim_04 в дозе 1660 мг/кг;

– $p < 0,05$ в сравнении с группой лоперамида.

Как видно из рисунка (рис. 2, А) применение энтеросорбента под шифром Crim_04 значительно задерживало наступление диареи. Этот эффект был наиболее выражен при применении энтеросорбента в дозе 3320 мг/кг. При этом диарея наступала более чем в 5,5 раза позже, чем в контрольной группе. Показатели энтеросорбента под шифром Crim_04 в средней терапевтической дозе

диареи. Наиболее выраженным это влияние было при использовании субстанции в дозе 3320 мг/кг. Выраженность действия энтеросорбента Crim_04 в средней терапевтической дозе 1660 мг/кг достоверно не отличалась от противодиарейного эффекта «Смекты». Лоперамид значительно превосходил по ингибированию количества дефекаций при моделировании острой диареи энтеросорбен-

ты Crim_04 и «Смекта» и достоверно снижал количество дефекаций по сравнению с группой интактных животных. При этом было установлено, что применение энтеросорбента Crim_04 в дозе 3320 мг/кг вызывало ингибирование развития диареи на 52,1%, что выражается в уменьшении количества влажных и жидких дефекаций по сравнению с контрольной группой. Этот результат достоверно выше, нежели в группах где энтеросорбент применялся в дозах 880 мг/кг и 1660 мг/кг (26,7% и 35,9% соответственно). Для «Смекты» и лоперамида этот показатель составил 34,8% и 73,8% соответственно.

Анализ консистенции каловых масс в зависимости от содержания в них жидкости и подсчета на её основе коэффициента выраженности каловых масс при моделировании серотонин-индуцированной диареи при применении энтеросорбента под шифром Crim_04 в дозах 880 мг/кг, 1660 мг/кг и 3320 мг/кг представлен на рисунке 2, В.

При моделировании серотонин-индуцированной диареи было установлено значительное увеличение содержания в каловых массах жидкости, то есть наблюдалось увеличение количества дефекаций с преобладанием водянистых каловых масс. При внутрижелудочном введении энтеросорбента под шифром Crim_04 наблюдалось уменьшение коэффициента выраженности диареи, заключенного в уменьшении содержания жидкости в каловых массах, дефекации были преимущественно влажные. Наиболее этот эффект выражен в группах животных, получавших энтеросорбент Crim_04 в дозе 3320 мг/кг. Энтеросорбент

под шифром Crim_04 в средней терапевтической дозе не уступает по антидиарейному эффекту относительно консистенции каловых масс противодиарейной активности препарата «Смекта». Лоперамид показывал более выраженный противодиарейный эффект. При его применении содержание жидкости в каловых массах приближалось к таковому в группе интактных животных.

Морфологическое исследование включало в себя оценку микроскопической картины микропрепаратов тонкой кишки мышей, а так же измерение высоты ворсинок и их ширины у основания, глубины и ширины крипт и расчет отношения длины ворсинки к её ширине у основания и длины ворсинки к глубине крипт.

У животных контрольной группы с моделированием серотонин-индуцированной диареи наблюдались выраженные изменения структуры тонкой кишки. Макроскопически слизистая кишечника – набухшая, отечная, розово-серого цвета, отдельными участками гиперемирована, в особенности на верхушках складок. Поверхность слизистой оболочки покрыта слегка мутной, полужидкой слизью, которая хорошо смывается водой.

Микроскопически слизистая отечна, ворсинки отечны и гиперемированы. Определяется укорочение и деформирование ворсинок, гипертрофия крипт. На концах некоторых ворсинок наблюдается слущивание эпителия с обнажением собственной пластинки слизистой. Кровеносные сосуды слизистой и подслизистого слоя полнокровны. Мышечная и серозная оболочки кишечника без изменений. В просвете кишки большое количество слизи

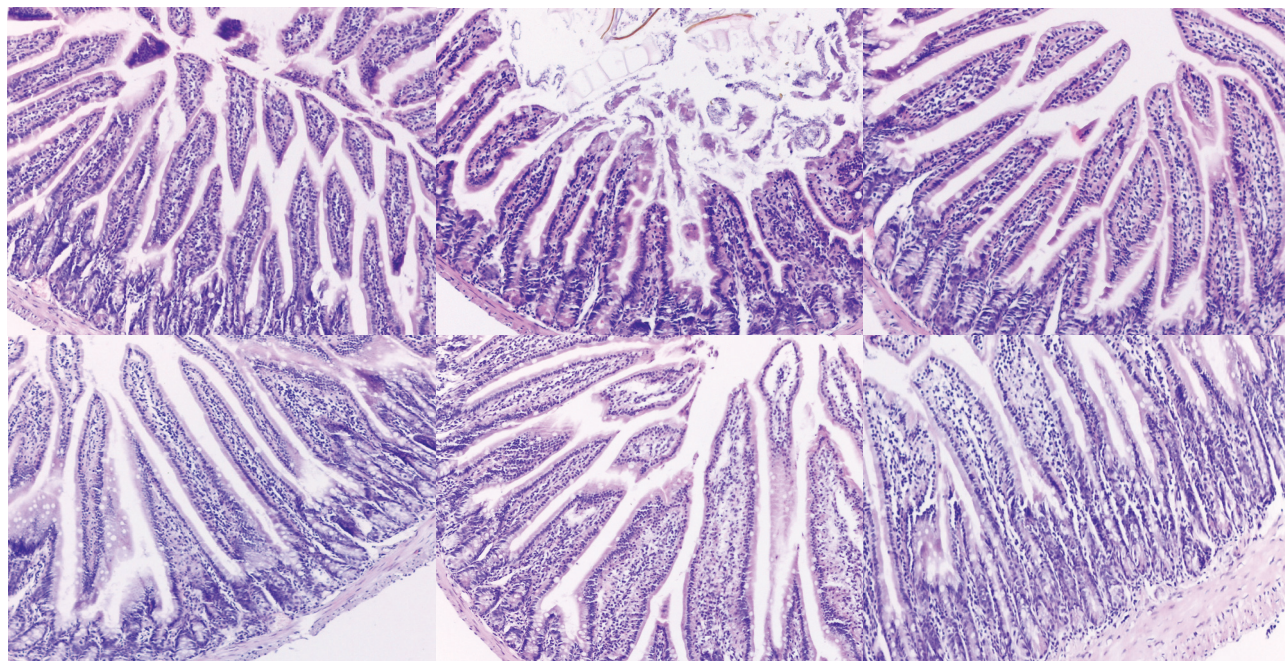


Рис. 3. Гистологическая структура тонкой кишки у мышей (микрофото $\times 100$): А – интактные животные; Б – контрольная группа; В – энтеросорбент Crim_04 в дозе 1660 мг/кг; Г – энтеросорбент Crim_04 в дозе 3320 мг/кг; Д – энтеросорбент «Смекта» 1660 мг/кг; Е – лоперамид 10 мг/кг. Окр. гематоксилином и эозином.

Fig. 3. Histological structure of the small intestine in mice (microphoto $\times 100$): А – intact animals; Б – control group; В – enterosorbent Crim_04 in a dose of 1660 mg/kg; Г – enterosorbent Crim_04 in a dose of 3320 mg/kg; Д – enterosorbent "Smecta" 1660 mg/kg; Е – loperamide 10 μ g/kg. Hematoxylin and eosin stained.

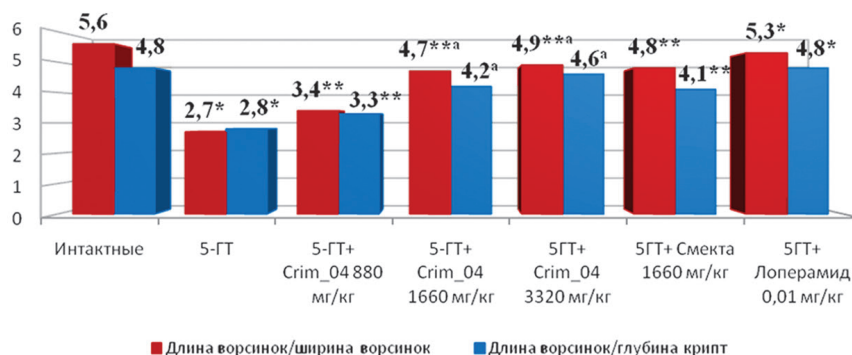


Рис. 4. Влияние энтеросорбента под шифром Crim_04 на отношение длины ворсинок к ширине ворсинок и длины ворсинок к глубине крипт в тонкой кишке мышей при моделировании серотонин-индуцированной диареи (усл. ед.).

Fig. 4. Influence of the enterosorbent under the Crim_04 cipher on the ratio of the length of the villi to the width of the villi and the length of the villi to the depth of crypt in the small intestine of mice at serotonin-induced diarrhea simulation (cu).

* – при $p < 0,05$ в сравнении с группой intactных животных;

** – при $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой;

a – $p < 0,05$ в сравнении с группой Crim_04 в дозе 880 мг/кг.

Таблица /Table

Морфометрические показатели тонкой кишки мышей при применении энтеросорбента под шифром Crim_04 на фоне моделирования серотонин-индуцированной диареи ($M \pm m$)

Morphometric indices of the small intestine of mice with the use of enterosorbent under the Crim_04 cipher on the background of serotonin-induced diarrhea modeling ($M \pm m$)

Серия	Доза (мг/кг)	Длина ворсинок (мкм)	Ширина ворсинок (мкм)	Глубина крипт (мкм)	Ширина крипт (мкм)
Интakтные	-	363,3±4,5	64,8±1,0	74,8±0,7	32,4±0,3
5-ГТ	0,32	251,1±2,1+	92,9±0,9+	90,6±0,8+	45,2±0,2+
5-ГТ+Crim_04	880	284,6±2,9*	83,4±1,1*	85,3±1,0	40,1±0,3*
	1660	342,8±2,1a	72,9±0,9a	81,2±0,7a	38,4±0,1a
	3320	348,7±2,3a	70,7±0,7a	76,1±0,5a	34,1±0,1a
5-ГТ+Смекта®	1660	343,1±1,8*	71,8±0,6*	82,3±0,6*	39,1±0,1*
5-ГТ+Лоперамид	0,01	359,4±2,3*	67,6±0,9*	75,3±0,9*	33,2±0,2*

Примечание: + – при $p < 0,05$ в сравнении с группой intactных животных; * – при $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой; a – $p < 0,05$ в сравнении группой Crim_04 в дозе 880 мг/кг.

(рис. 3, Б). Эти изменения не были характерны для группы intactных животных (рис. 3, А).

В группе животных, получавших энтеросорбент под лабораторным шифром Crim_04 в дозе 880 мг/кг на фоне серотонин-индуцированной диареи, патологические изменения в строении тонкого кишечника характеризовались наличием отека и умеренной гиперемии слизистой оболочки, единичными участками обнажения собственной пластинки слизистой, умеренное кровенаполнение сосудов слизистой и подслизистого слоя, гипертрофия крипт. Мышечная и серозная оболочки без патологии.

В группах животных, получавших энтеросорбент под лабораторным шифром Crim_04 в дозах 1660 мг/кг и 3320 мг/кг и препараты «Смекта» в дозе 1660 мг/кг и лоперамид в дозе 0,01 мг/кг при моделировании серотонин-индуцированной диареи, патологические изменения тонкой кишки

носили сходный характер и заключались в незначительном отеке слизистой оболочки. Участков гиперемии слизистой не наблюдалось. Явления слущивания эпителия были минимальны, участков обнажения собственной пластинки слизистой оболочки не наблюдалось. Кровенаполнение сосудов слизистой оболочки и подслизистого слоя было умеренным. Мышечный слой и серозная оболочка – без патологических изменений (рис. 3, В, Г, Д, Е).

При проведении морфометрических исследований было установлено, что в группе intactных животных длина и ширина ворсинок слизистой, а также глубина и ширина крипт находилась в пределах нормы, что свидетельствовало об отсутствии отека слизистой оболочки и подслизистого слоя и сохранении слизистой нормальных сорбционных свойств. В контрольной группе с моделированием серотонин-индуцированной диареи

выявлены значительные изменения размеров ворсинок и гипертрофия крипт с уменьшением высоты ворсинок в 1,4 раза по сравнению с интактными животными, увеличение ширины ворсинок у основания в 1,4 раза и глубины крипт в 1,2 раза. Применение энтеросорбента под шифром Crim_04 в дозе 3320 мг/кг значительно улучшало гистологическую картину тонкой кишки, приближая морфометрические показатели к уровню интактных животных. Энтеросорбент под шифром Crim_04 в дозе 3320 мг/кг значительно увеличивал отношение длины ворсинки к её ширине у основания, а также отношение длины ворсинки к глубине крипт, достигая по этому показателю уровня интактных животных. Это свидетельствует о значительном уменьшении отека, предотвращения развития деформации структурных элементов слизистой оболочки и сохранении её функции (рис. 4, табл.).

Для оценки противодиарейной активности энтеросорбента на основе монтмориллонита под лабораторным шифром Crim_04 использовали модель серотонин-индуцированной диареи. Для моделирования серотонин-индуцированной диареи применяли серотонина-гидрохлорид в дозе 0,32 мг/кг внутрибрюшинно однократно. Серотонин является важной сигнальной молекулой, регулирующей секрецию кишечного эпителия, моторику стенок желудочно-кишечного тракта [19, 20]. Механизм слабительного действия серотонина заключен, по-видимому, в стимуляции им 5-НТ₃-рецепторов. Это приводит к повышению моторики желудочно-кишечного тракта, повышению кишечной секреции, как следствие – накоплению в просвете кишки повышенного количества жидкости и её ускоренная эвакуация естественным путем [21, 22, 23]. При моделировании серотонин-индуцированной диареи отмечалось раннее начала развития диареи у мышей (12,8±1,2 минут), резкое увеличение количества дефекаций и содержания в каловых массах жидкости (19,5±0,5 и 2,47±0,02 соответственно по сравнению с группой интактных животных – 7,9±0,04 и 1,0±0,0 соответственно).

В нашем исследовании энтеросорбент на основе монтмориллонита под лабораторным шифром Crim_04 изучался с целью выявления у него противодиарейного эффекта. Противодиарейный эффект энтеросорбента под шифром Crim_04 носил дозозависимый характер. Наибольшую активность энтеросорбент под шифром Crim_04 показывал в дозе 3320 мг/кг, что проявлялось увеличением времени наступления диареи, уменьшением общего количества дефекаций с уменьшением содержания жидкости в каловых массах на фоне применения модели диареи, описанной выше. То есть монтмориллонит в составе энтеросорбента под шифром Crim_04 обладает известным цито-мукопротекторным действием в отношении слизистой оболочки кишечника.

Заключение

Энтеросорбент на основе монтмориллонита под лабораторным шифром Crim_04 обладает дозозависимой противодиарейной активностью при моделировании серотонин-индуцированной диареи. Это выражается в увеличении времени наступления диареи, уменьшении количества дефекаций и уменьшении количества жидкости в каловых массах. Одновременно морфометрически обнаружено предотвращение развития гипотрофии ворсинок слизистой и гипертрофии крипт.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. 10 ведущих причин смерти в мире / Всемир. орг. здравоохранения (ВОЗ). (Информ. бюл.). Женева, 2017. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/ru> (дата обращения 02.07.2017). [Top 10 causes of death worldwide. Org. Health (WHO). (Inform.). 2017, Geneva. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en> (circulation date 02.07.2017)].
2. Диарея / Всемир. Орг. Здравоохранения (ВОЗ). (Информационный бюллетень № 330). Женева, 2013. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/ru/> (дата обращения 14.07.2017). [Diarrhea / World. Org. Health (WHO). (Information Bulletin No. 330). 2013. Geneva. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330/en/> (circulation date 14.07.2017)].
3. Carretero M.I., Pozo M. Clay and non-clay minerals in the pharmaceutical and cosmetic industries part II. Active ingredients. *Appl. Clay Sci.* 2010; 47: 171-181.
4. Liashenko N.V. Peculiarities of enterosorption via nasointestinal probe using sorbent diosmectite. *Klin. Khir.* 2014; 12: 16-18.
5. Юлиш Е. И., Кривущев Б.И. Метод энтеросорбции в лечении синдрома интоксикации. *Здоровье ребенка.* 2011; 4(31): 76-81. [Yulish E. I., Krivushchev B.I. Metod ehnterosorbicii v lechenii sindroma intoksikacii. *Zdorov'e rebenka.* 2011; 4 (31): 76-81. (In Russ.)].
6. Тишин А.Н., Бесхмельницына Е.А., Якушев В.И. и др. Противодиарейная активность монтмориллонитсодержащего. *Смоленский медицинский альманах.* 2017; 1: 347-350. [Tishin A.N., Beskhmel'nicyna E.A., YAKushev V.I., Tishina O.M., Linnik M.S., Krivoruchenko V.B. Protivodiarejnaya aktivnost' montmorillonitsoderzhashchego. *Smolenskij medicinskij al'manah.* 2017; 1: 347-350. (In Russ.)].
7. Тишин А. Н., Покровский М. В., Тишина О. М. и др. Изучение сорбционной активности энтеросорбента на основе монтмориллонита по отношению к энтеротоксину E.coli на модели изолированных петель кишки. *Кубанский научный медицинский вестник.* 2017; 24(3): 106-113. DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-3-106-113. [Tishin A.N., Pokrovskii M.V., Tishina O.M., Sernov L.N., Provotorov V.YA., Beskhmel'nicyna E.A. Izuchenie sorbcionnoj aktivnosti ehnterosorbenta na osnove montmorillonita po otnosheniyu k ehnterotoksinu E.coli na modeli izolirovannyh petel' kishki. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik.* 2017; 24(3): 106-113. (In Russ., English abstract) DOI: 10.25207 / 1608-6228-2017-24-3-106-113].
8. Новокшенов А.А., Соколова Н.В. Клиническая эффективность этиопатогенетической терапии энтеросорбентами острых кишечных инфекций у детей. *Consilium Medicum. Педиатрия.* 2009; 1: 4-8. [Novokshonov A.A., Sokolova N.V. Klinicheskaya ehffektivnost' ehtiopatogeneticheskoy terapii ehnterosorbentami ostryyh kishhechnyyh infekcij u detej. *Sonsilium Medicum.*

Pediatrics. 2009; 1: 4-8. (In Russ.)).

9. Bui Quang Cu, Nguen Hoai Chao, Vesentsev A.I., Buhanov V.D., Sokolovsky P.V., Mihaylyukova M.O. The antibacterial properties of modified bentonite deposit tam bo. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2016; 2(3): 63-74. doi: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-63-74.

10. Bukhanov V.D., Vezentsev A.I., Filippova O.V., Nadezhdin S.V., Pankova O.N., Firsova T.I., Mikhaylyukova V.O., Tishin A.N. The influence of the concentration of montmorillonite containing sorbent and pH of the culture medium on the antibiotic sensitivity of *Escherichia coli*, as well as the effect of ground on growth of *Escherichia*. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2017; 3(1): 97-104. DOI: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-97-104.

11. Caihong Hu, Juan Song, Zhaotong You, Zhao Shuang Luan, Weifen Li Zinc oxide-montmorillonite hybrid influences diarrhea, intestinal mucosal integrity, and digestive enzyme activity in weaned pigs. *Biological trace element research*. 2012; 149: 190-196.

12. Khediri F., Mrad A.I., Azzouz M., Doughi H., Najjar T., Mathie-Fortunet H., Garnier P., Cortot A. Efficacy of diosmectite (smecta) in the treatment of acute watery diarrhea in adults: a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group study. *Gastroenterol Res Pract*. 2011; 11: 721-736.

13. Mujawar Q.M., Naganoor R., Ali M.D., Malagi N., Thobbi A.N. Efficacy of dioctahedral smectite in acute watery diarrhea in Indian children: a randomized clinical trial. *J Trop Pediatr*. 2012; 58: 63-67.

14. Tishin A.N., Krut U.A., Tishina O.M., Beskhmel'nitsyna E.A., Yakushev V.I. Physico-chemical properties of montmorillonite clays and their application in clinical practice (review). *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2017; 3(2): 119-128.

15. SMECTA, powder for oral solution in sachets (TRANSPARENCY COMMITTEE, Opinion 24 July 2013). Haute Autorité de Santé. https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-01/smecta_ct12417.pdf. (in French).

16. Бондарев А.В., Жилиякова Е.Т. Анализ спроса на адсорбционные кишечные препараты при помощи индекса Вышковского. *Фармация и фармакология*. 2014; 6(7): 114-116. [Bondarev A.V., Zhilyakova E.T. Analiz sprosa na adsorbionnye kishchnye preparaty pri pomoshchi indeksa Vyshkovskogo. *Farmaciya i farmakologiya*. 2014; 6(7): 114-116. (in Russ.)].

17. Жилиякова Е.Т., Самсонов А.А., Голубев Н.Н., Бондарев А.В. Обзор российских энтеросорбционных лекарственных средств. *Ремедиум*. 2014; 10: 40-47. [Zhilyakova E.T., Samsonov A.A., Golubev N.N., Bondarev A.V. Obzor rossijskih ehnterosorbcionnyh lekarstvennyh sredstv. *Remedium*. 2014; 10: 40-47. (in Russ.)].

18. Фарма-2020 – экспертная площадка открытого обсуждения [Электронный ресурс]. Стратегия развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 г.: URL: <http://www.pharma2020.ru/download/1594.html?pharma2020=0223e3cc41acc42e5/> (дата обращения 21.08.2017). [Farma-2020 – ehkspertnaya ploshchadka otkrytogo obsuzhdeniya [EHlektronnyj resurs]. Strategiya razvitiya farmacevitcheskoj promyshlennosti Rossijskoj Federacii na period do 2020 g.: URL: <http://www.pharma2020.ru/download/1594.html?pharma2020=0223e3cc41acc42e5/> (data obrashcheniya 21.08.2017). (in Russ.)].

19. Kadowaki M., Nagakura Y., Tomoi M., Mori J., Kohsaka M. Effect of FK1052, a potent 5-hydroxytryptamine 3- and 5-hydroxytryptamine 4 receptor dual antagonist, on colonic function in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1993; 266(1): 74-80.

20. Парфенов А.И. Четыре варианта патогенеза и терапии диареи. *Терапевтический архив*. 2015; 87(12): 5-12. [Parfenov A.I. CHetyre varianta patogeneza i terapii diarei. *Terapevticheskij arhiv*. 2015; 87(12): 5-12. (in Russ.)].

21. Shcherbakov P., Trubitsyna I., Kirova M. Serotonin and Acetylcholine associated damage to microcirculation in gastric mucosa and cytokine changes in rats. *Gastroenterology*. 2011; 140: 318-319.

22. Dong Y., Yang C., Wang Z., Qin Z., Cao J., Chen Y. The injury of serotonin on intestinal epithelium cell renewal of weaned diarrhea mice. *European Journal of Histochemistry*. 2016; 60(2689): 253-261.

23. Tishin A.N., Tishina O.M., Yakushev V.I., Beskhmel'nitsyna E.A., Linnik M.S., Krivoruchenko V.B. Preclinical study of pharmacological activity of enterosorbente on the basis of montmorillonite. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2017; 3(3): 37-54.

Поступила / Received 28.07.2017
Принята в печать / Accepted 03.09.2017

Авторы заявили об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflict of interest

Контактная информация: Тишин Антон Николаевич; тел.: 8(919) 436-09-96; e-mail: antoshatishin@yandex.ru; Россия, 302530, Орловская область, д. Жилина, улица Генерала Лаврова, д. 6, кв. 177.

Corresponding author: Anton N. Tishin; tel.: 8(919) 436-09-96; e-mail: antoshatishin@yandex.ru; Generala Lavrova str., 6, apt. 177, Zilina, Oryol region, Russia, 302530.

Благодарности: Исследование выполнено в ходе 1 этапа государственного контракта № 14.N08.11.0109 от 19.09.2016 «Доклинические исследования лекарственного средства – бактерицидного энтеросорбента на основе минерала монтмориллонита».

Acknowledgements: The study was carried out during the 1st stage of the state contract with the Ministry of Health of the Russian Federation No. 14.N08.11.0109 of 19.09.2016 "Preclinical studies of the drug – bactericidal enterosorbent on the basis of the montmorillonite mineral".