

© Коллектив авторов

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ, АНТИОКСИДАНТОВ И ГЕПАТОПРОТЕКТОРОВ ДЛЯ КОРРЕКЦИИ НАРУШЕНИЙ В ПЕЧЕНИ, ЭРИТРОЦИТАХ И ИММУННОЙ СИСТЕМЕ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

С.А. Долгарева, А.В. Сорокин, Н.А. Конопля, О.Н. Бушмина, Н.А. Быстрова, А.И. Овод*

Курский государственный медицинский университет,
305041, Курск, ул. К. Маркса, 3; эл. почта: dolgareva-svetlana@yandex.ru

При 60-дневной интоксикации этанолом в эксперименте изучена эффективность трёх различных сочетаний иммуномодулятора с антиоксидантом и мембранопротектором в коррекции метаболических и иммунных нарушений. Выявлено развитие биохимических синдромов поражения печени: цитолитического, внутрипеченочного, внутриклеточного холестаза, токсического поражения печени по некротическому типу, недостаточности синтетических процессов и воспалительного. Установлено развитие оксидантного стресса и активация перекисного окисления липидов на системном (плазма крови) и локальном уровне (эритроциты). Определена супрессия формирования адаптивного иммунитета и фагоцитарных возможностей нейтрофилов при повышении их кислородзависимой активности, что свидетельствует о наличии и возможном прогрессировании воспалительного процесса на системном уровне. Выявлено нарушение метаболической активности эритроцитов, снижение в плазме крови стабильных метаболитов оксида азота, что говорит о некомпенсированном его расходе, вызывающем вазоконстрикцию и тромбоз, которые могут дополнительно возникать вследствие установленного повышения протромбинового индекса. Применение сочетаний “Лонгидаза”, “Мексикор”, “Эссенциале форте Н” или “Глутоксим”, “Мексидол”, “Тептрал” оказалось более эффективным в коррекции иммунометаболических нарушений при хронической алкогольной интоксикации, чем “Гепон”, “Типоксен” и “Фосфоглив”.

Ключевые слова: этанол; интоксикация; метаболические нарушения; фармакологическая коррекция

DOI: 10.18097/PBMC20186404360

ВВЕДЕНИЕ

Одной из важных медико-социальных проблем является хронический алкоголизм и связанные с ним заболевания. Злоупотребление алкоголем относится к числу основных этиологических факторов хронических заболеваний в мире. В России за минувшие два десятилетия потребление алкоголя в расчёте на душу населения увеличилось в 1,5 раза и достигло 18 литров абсолютного алкоголя (чистого спирта), что в два раза выше того уровня, который Всемирная организация здравоохранения признала особо опасным для здоровья людей. По оценкам экспертов, число людей, потребляющих данное количество алкоголя, составляет около 5 млн. человек, или 3,4% от всего населения России [1-4]. Мозг, печень и органы желудочно-кишечного тракта подвергаются серьёзному негативному воздействию этанола и его суррогатов. Поджелудочная железа и печень наиболее чувствительны к действию алкоголя, являющегося одним из ведущих этиологических факторов в патологии панкреато-билиарной системы [5, 6].

Известно, что нарушения иммунного гомеостаза, оксидантный стресс и эндотелиальная дисфункция лежат в основе патогенеза сердечно-сосудистой патологии, заболеваний легких, выделительной и половой систем, желудочно-кишечного тракта, печени, поджелудочной железы [7-9]. В основе нарушений, ведущих к эндотелиальной дисфункции, лежат изменения продукции синтезируемых сосудистыми эндотелиальными клетками различных биологически активных соединений, среди которых

наибольшее значение имеют активные формы кислорода, избыточная продукция которых или снижение факторов антиоксидантной защиты приводят к развитию оксидантного стресса, активации перекисного окисления липидов (ПОЛ), кислородзависимой активности нейтрофилов, торможению эндотелийзависимой вазодилатации, увеличению синтеза адгезивных молекул, повышению агрегации тромбоцитов и тромбообразования. Конечные продукты ПОЛ, включая ненасыщенные альдегиды и другие метаболиты, обладают сильными цитотоксическими, иммуносупрессорными и мутагенными свойствами [7, 10, 11].

В настоящее время уделяется большое внимание изучению структуры и функции эритроцитов, являющихся своего рода “клеточным дозиметром” действия факультативных и облигатных экзо- и эндогенных факторов, являющихся причиной возникновения и развития различных заболеваний. Основными функциями эритроцитов циркулирующей крови являются: питательная, защитная, буферная, газотранспортная, гуморальная, транспортная, гомеостатическая, дезинтоксикационная, участие в метаболизме гормонов, лекарственных препаратов, регуляция сосудистого тонуса. Известна важная роль эритроцитов в поддержании иммунного гомеостаза при патологии печени и поджелудочной железы [12, 13]. В условиях хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) изменениям иммунного гомеостаза, структурно-функциональных свойств эритроцитов, роли оксидантного стресса посвящено небольшое количество исследований [14, 15].

Целью исследования стало изучение фармакологической коррекции метаболических и иммунных нарушений при экспериментальной хронической алкогольной интоксикации.

МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на 162 половозрелых крысах-самцах Вистар массой 150-200 г, не имевших внешних признаков заболевания, в одно и то же время суток с 8 до 12 ч. Содержание и забой животных проводили согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). Хроническую алкогольную интоксикацию (ХАИ) вызывали принудительным внутрижелудочным введением этанола в дозе 2,92 г/кг через 24 ч в течение 60 дней. Экспериментальных животных делили на 5 групп по 11-12 особей в каждой: 1-я группа – контрольная (внутрижелудочное введение 0,9% раствора хлорида натрия через 24 ч в течение 60 дней в дозе 3 мл/кг); 2-я группа – ХАИ; 3-я группа – ХАИ с введением препаратов Гепон (ООО “Имма-фарма”, Россия, 1 мг/кг, внутрижелудочно в 1% крахмальной суспензии, №15), Гипоксен (ЗАО “Корпорация Олифен”, Россия, 128 мг/кг, внутривенно, №15) и Фосфоглив (ОАО “Фармстандарт Лексредства”, Россия, 1500 мг/кг лецитина, 800 мг/кг глицерилфосфата, №15) и Фосфоглив (ОАО “Фармстандарт Лексредства”, Россия, 1500 мг/кг лецитина, 800 мг/кг глицерилфосфата, №15) и Фосфоглив (ОАО “Фармстандарт Лексредства”, Россия, 1500 мг/кг лецитина, 800 мг/кг глицерилфосфата, №15); 4-я группа – ХАИ с введением препаратов Лонгидаз (ООО “НПО Петровас Фарм”, Россия, 100 МЕ, через 48 ч, №10), Мексикор (ООО “ЭкоФармИнвест”, Россия, 50 мг/кг внутривенно, через 24 ч, №15) и Эссенциале форте Н (“Nattermann & Cie”, Германия, 5 мг в пересчёте на фосфатидилхолин, растворённых в 1 мл оливкового масла, внутрижелудочно, через 24 ч, №30); 5-я группа – ХАИ с введением препаратов Глутосим (ЗАО “ФАРМА ВАМ”, Россия, 32 мг/кг, внутримышечно, №10), Мексидол (ООО “НПК Фармасофт”, Россия, 5 мг/кг, внутримышечно, №15) и Гептрал (“Abbott”, Италия, 34 мг/кг, внутривенно, №15). Последнее введение препаратов заканчивали вместе с алкоголизацией, забой экспериментальных животных осуществляли через 24 ч после последнего введения этанола и препаратов.

Расчёт дозировок препаратов для введения экспериментальным животным проводили при помощи коэффициентов пересчёта доз (мг/кг на мг/м²) для крысы и человека в зависимости от массы тела. Смертность экспериментальных животных во 2-й группе составила 4%, в 3-5-й группах менее 1%.

Забор крови у экспериментальных животных осуществляли под наркозом, путём внутрисердечной инъекции. Плазму и эритроциты получали из гепаринизированной крови путём центрифугирования в течение 5 мин при 400 g.

Для оценки функционального состояния гепатоцитов в плазме крови определяли стандартными методами клинической биохимии на автоматическом биохимическом анализаторе “COBAS c311” (“Roche”, Германия) реагентами Analyticon® Biotechnologies AG (Германия) активность ферментов – аспартат-

аланинаминотрансфераз (АСТ, АЛТ) [16], щелочной фосфатазы (ЩФ) [16], гамма-глутаминтранспептидазы (ГГТ) [16], содержание билирубина [17]. Тимоловую пробу (ТП) проводили по общепринятой методике [17]. Протромбиновый индекс (ПТИ) определяли клоттинговым методом на полуавтоматическом анализаторе показателей гемостаза Start 4 (“Stago”, Франция) с применением реагентов “Human” (Германия) [18]. Концентрацию фибриногена [19] определяли клоттинговым методом по Клаусс на полуавтоматическом анализаторе показателей гемостаза Start 4 реагентами Diagnostica Stago (Франция).

Интенсивность процессов ПОЛ оценивали по содержанию в плазме крови и эритроцитах ацилгидроперекисей (АГП) [20] и малонового диальдегида (МДА) [21] с помощью набора ТБК-Агат (“Агат-Мед” Россия), с использованием спектрофотометра PD-303 (“ApeI”, Япония) при длине волны 535 нм и 570 нм. Для оценки состояния антиоксидантной системы определяли методом прямого/конкурентного твёрдофазного иммуноферментного анализа (ИФА) с детекцией продуктов реакции в диапазоне длины волны 405-630 нм с применением готовых к использованию коммерческих наборов: активность супероксиддисмутазы (СОД) [22] (“Bender Medsystems”, Австрия) и каталазы [22] (“Cayman Chemical”, США). Общую антиокислительную активность (ОАА) определяли методом, основанным на степени ингибирования аскорбат- и ферроиндуцированного окисления твина-80 до МДА [23]. Уровень стабильных метаболитов оксида азота (СМ_{ОН}) [24] выявляли с помощью набора для твёрдофазного ИФА фирмы “R&D” (Англия). Регистрацию всех результатов ИФА осуществляли при помощи микропланшетного фотометра Sunrise (“Tecan”, Австрия). Кроме этого определяли сорбционную способность эритроцитов (ССЭ) и сорбционную емкость их гликокаликса (СЕГ) [25].

Для развития гуморального иммунного ответа (ГИО) антиген – эритроциты барана (ЭБ) вводили за 5 суток последнего введения этанола и препаратов, внутривенно, однократно из расчёта 2×10^6 клеток на кг массы тела. Выраженность ГИО оценивали на пятые сутки после иммунизации путём определения в селезёнке числа антителообразующих клеток (АОК) [26]. Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) индуцировали за 5 суток до последнего введения этанола и препаратов внутривенным введением 10^8 ЭБ в 0,5 мл 0,15 М раствора натрия хлорида (сенсibilизирующая доза). Через 4 суток в подушечку стопы правой лапки вводили 10^6 ЭБ в 0,1 мл 0,15 М раствора хлорида натрия (разрешающая доза). Спустя 24 ч выделяли регионарный (по месту введения ЭБ) и контрлатеральный подколенный лимфоузлы. О выраженности ГЗТ судили по разнице масс (РМ) регионарного и контрлатерального лимфатических узлов и по разнице количества (РК) в них кариоцитов [26].

Выделение нейтрофилов из полученной крови проводили на градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho=1,078$). Их фагоцитарную активность оценивали

по общепринятой методике, определяя фагоцитарный индекс (ФИ), фагоцитарное число (ФЧ) и индекс активности фагоцитоза (ИАФ) [26]. Активность кислород-зависимых систем нейтрофилов оценивали на спектрофотометре PD-303 по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ-тест), спонтанного (НСТ-сп.) и стимулированного неопсонизированным зимозаном (НСТ-ст. н/з) и опсонизированным зимозаном (НСТ-ст. о/з), с расчётом функционального резерва в ответ на стимуляцию неопсонизированным зимозаном (КАн), функционального резерва в ответ на стимуляцию опсонизированным зимозаном (КАо) и степень дискретности ответа на опсонизированный и неопсонизированный зимозан (КО) [27].

Степени расстройств для лабораторных показателей и их изменения под влиянием фармакологических средств рассчитывали по специальным формулам (1 и 2) [28]:

$$\left[\frac{\text{Показатель животного в опыте}}{\text{Показатель здорового животного}} - 1 \right] \times 100\% \quad (1)$$

Примечание: Статистически достоверные изменения лабораторных показателей в интервале от 15% до 33% оценивались как 1-я степень изменений, от 34% до 66% как 2-я степень, выше 66% как 3-я степень [28].

$$\left[1 - \frac{\% \text{ животных со 2-3 степенью расстройств показателей после введения препаратов}}{\% \text{ животных со 2-3 степенью расстройств показателей без введения препаратов}} \right] \times 100\% \quad (2)$$

Статистическую обработку результатов проводили путём вычисления медианы (Ме) и 25 и 75 перцентилей с помощью пакета компьютерной программы Statistica 8. Существенность различий оценивали по U-критерию Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ХАИ в течение 60 дней вызывает развитие основных биохимических синдромов поражения печени: цитолитического (повышение активности АЛТ в 1,8 раз и АСТ в 2,2 раза), внутрипеченочного, внутриклеточного холестаза (повышение активности ЩФ в 1,8 раз, ГГТ в 3,5 раза и содержания билирубина в 2,8 раз), токсического поражения печени по некротическому типу (повышение активности ГГТ, значение отношения ГГТ/АСТ меньше 1, коэффициента де Ритиса выше 1), недостаточности синтетических процессов (снижение уровня фибриногена в 1,25 раза), воспалительного (повышение ТП в 1,36 раза), при активации свертывающей системы крови (повышение ПТИ в 1,17 раза) (табл. 1).

Применение в условиях ХАИ препаратов Гепон, Гипоксен и Фосфоглив нормализовало ПТИ и содержание фибриногена, корректировало в сторону контрольных животных, но не до их уровня, активность исследованных ферментов за исключением ГГТ, концентрацию билирубина и фибриногена, ТП, при неизменённых коэффициентах АСТ/АЛТ и ГГТ/АСТ. Введение препаратов Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н, по сравнению с предыдущим сочетанием препаратов, нормализует дополнительно ТП

и в ещё большей степени корректирует активность ГГТ. Использование препаратов Глутоксим, Мексидол и Гептрал дополнительно (по сравнению с Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н) приближало в сторону контроля, но не до его уровня, активность АЛТ, коэффициент ГГТ/АСТ и концентрацию билирубина (табл. 1).

60-дневное принудительное поступление этанола выявило развитие оксидантного стресса и активацию ПОЛ на системном (плазма крови) и локальном уровне (эритроциты). Об этом свидетельствовало повышение в плазме крови и эритроцитах уровня МДА соответственно в 2,6 и 2,2 раза, АГП в 2,9 и 3,67 раза, снижение факторов антиоксидантной системы: ОАА в 1,26 и 1,23 раза, активности СОД в 1,32 и 1,81 раза, каталазы в 1,32 и 1,46 раза. Кроме этого, в плазме крови выявлено снижение концентрации SM_{NO} в 1,9 раз и изменение сорбционных свойств эритроцитов (снижение СЕЭ в 1,46 раз и повышение СЕГ в 1,31 раза) (табл. 2).

Введение при ХАИ комбинации препаратов Гепон, Гипоксен и Фосфоглив снижает интенсивность ПОЛ на системном уровне (снижение в плазме крови, но не до уровня контроля, содержания МДА и АГП), корректирует в сторону показателей контрольных животных концентрацию SM_{NO} в плазме крови, нормализует в эритроцитах ОАА, корректирует активность антиоксидантных ферментов и СЕЭ. Использование другой комбинации препаратов (Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н), оказалось более эффективным, так как по сравнению с предшествующей группой нормализует активность каталазы в плазме крови, СЕГ и активность СОД и каталазы в эритроцитах, и в ещё большей степени корректирует ОАА, концентрацию МДА, активность СОД в плазме, уровень продуктов ПОЛ в эритроцитах. По сравнению с данной схемой фармакокоррекции, применение препаратов Глутоксим, Мексидол, Гептрал дополнительно нормализует ОАА, активность СОД, содержание SM_{NO} , корректирует концентрацию АГП в плазме крови и в большей степени приближает к значениям контроля уровень МДА и СЕЭ в эритроцитах (табл. 2).

При изучении формирования адаптивного иммунного ответа, индуцированного ЭБ, при ХАИ установлена супрессия развития его гуморальной (ГИО) и клеточной форм (ГЗТ). Об этом свидетельствовало снижение иммунных АОК в селезенке, РМ и РК. Введение препаратов Гепон, Гипоксен и Фосфоглив корректирует в сторону контрольных крыс один из показателей ГЗТ (РМ), использование комбинации препаратов Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н дополнительно корректирует в сторону контроля количество иммунных АОК, применение препаратов Глутоксим, Мексидол, Гептрал нормализует формирование ГИО и ГЗТ на ЭБ (табл. 3).

Длительная интоксикация этанолом неоднозначно влияла на одну из важнейших систем врожденного иммунитета – функционально-метаболическую активность нейтрофилов периферической крови. Установлено снижение активности и интенсивности фагоцитоза (снижение ФП, ФЧ и ИАФ)

Таблица 1. Фармакологическая коррекция функциональной активности гепатоцитов при хронической алкогольной интоксикации (Ме (k25%; k75%))

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Интоксикация этанолом				
		Контроль	Без введения препаратов	Введение «Гепон», «Гипоксен» и «Фосфоглив»	Введение «Лонгидаза», «Мексикор» и «Эссенциале форте Н»	Введение «Глутоксим», «Мексидол» и «Гептрал»
АСТ	Е/л	21,17 [15,88; 24,12]	44,91* ¹ [40,16; 48,89]	32,26* ^{1,2} [27,05; 39,16]	31,94* ^{1,2} [28,40; 35,39]	34,73* ^{1,2} [30,41; 41,85]
АЛТ	Е/л	23,04 [16,37; 27,44]	39,20* ¹ [33,77; 45,72]	27,75* ^{1,2} [25,39; 31,18]	26,57* ^{1,2} [24,80; 28,17]	24,16* ¹⁻⁴ [19,28; 26,62]
Коэффициент де Ритиса	АСТ/АЛТ	0,92 [0,91; 0,97]	1,16* ¹ [1,21; 1,35]	1,16* ¹ [1,28; 1,61]	1,2* ¹ [1,01; 1,35]	1,44* ¹ [1,28; 1,56]
ЩФ	Е/л	238,80 [192,51; 264,13]	408,45* ¹ [381,83; 441,82]	353,02* ^{1,2} [326,45; 379,67]	336,61* ^{1,2} [298,91; 360,06]	358,07* ^{1,2} [310,43; 381,38]
ГГТ	Е/л	6,11 [4,86; 6,87]	18,45* ¹ [13,13; 23,26]	16,51* ¹ [12,353; 18,82]	13,20* ¹⁻³ [11,29; 15,12]	12,05* ¹⁻³ [9,26; 14,89]
Коэффициент ГГТ/АСТ	ГГТ/АСТ	0,29 [0,24; 0,41]	0,41* ¹ [0,26; 0,51]	0,51* ¹ [0,38; 0,71]	0,41* ¹ [0,34; 0,56]	0,35* ¹⁻⁴ [0,29; 0,39]
Билирубин	мкмоль/л	5,84 [1,98; 8,45]	14,77* ¹ [12,88; 16,93]	9,83* ^{1,2} [7,38; 11,73]	9,60* ^{1,2} [8,21; 11,01]	8,02* ¹⁻⁴ [6,79; 9,56]
ПТИ	%	60,04 [55,40; 64,09]	68,83* ¹ [62,40; 72,72]	60,16* ² [57,65; 61,74]	60,90* ² [57,16; 66,44]	58,62* ² [53,23; 64,58]
Фибриноген	г/л	3,24 [2,92; 3,75]	2,66* ¹ [2,59; 2,70]	3,04* ² [2,79; 3,34]	3,92* ² [2,57; 5,14]	3,22* ² [3,11; 3,32]
Тимоловая проба	Ед. S-N	3,04 [2,81; 3,32]	4,31* ¹ [4,08; 4,53]	3,93* ^{1,2} [3,05; 4,64]	3,13* ^{2,3} [2,94; 3,21]	3,09* ^{2,3} [2,99; 3,19]

Примечание: здесь и в таблицах 2-3 звёздочкой отмечены достоверные отличия медиан ($p < 0,05$), в скобках указаны процентилю 25% и 75%; цифры рядом со звёздочкой - по отношению к показателям какой группы даны отличия.

при одновременном повышении кислородзависимой метаболической активности полиморфноядерных лейкоцитов. Наряду с этим выявлено снижение функционального резерва (снижение КАН и КАо) нейтрофилов (табл. 3).

Использование комбинации препаратов Гепон, Гипоксен и Фосфоглив при ХАИ частично изменяет в сторону контрольных крыс фагоцитарную активность, НСТ-сп., КАН, КАо, КО и нормализует НСТ-ст. н/з полиморфноядерных лейкоцитов. Введение препаратов Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н ещё в большей степени корректирует параметры активности и интенсивности фагоцитоза (ФП, ФЧ, ИАФ) и кислородзависимой активности нейтрофилов (НСТ-сп., КАо). Применение препаратов Глутоксим, Мексидол, Гептрал дополнительно к предыдущей схеме фармакотерапии нормализует НСТ-ст. о/з, КАН и корректирует НСТ-сп. (табл. 3).

Применение трёх схем фармакологической коррекции нарушений при ХАИ, включающих различные иммуномодуляторы, гепатопротекторы и антиоксиданты, закономерно поставило вопрос об их сравнительной эффективности.

Анализируя полученные данные при хронической интоксикации этанолом, можно заключить, что у экспериментальных животных оказались изменёнными 97,1% исследованных лабораторных параметров, характеризующих функциональную активность гепатоцитов, клеточную и гуморальную формы адаптивного иммунитета, ПОЛ, антиоксидантную защиту, функционально-метаболическую активность нейтрофилов и эритроцитов периферической крови. Введение препаратов Гепон, Гипоксен и Фосфоглив нормализовало 11,4%, корригировало 54% и оставило без изменений 34,3% исследованных лабораторных параметров. Сочетание препаратов Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н оказалась более эффективным, так как нормализовало 25,7%, корригировало в сторону контроля 62,9% и оставило первоначально изменёнными 11,4% показателей. Использование комбинации препаратов Глутоксим, Мексидол, Гептрал нормализовало 51,4%, корригировало 45,7% и оставило первоначально изменёнными 2,9% лабораторных исследованных параметров (табл. 4).

Для качественного сопоставления изменённых иммунометаболических показателей проведён их анализ по степеням их изменений от значений контроля [28].

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

Таблица 2. Фармакологическая коррекция метаболических нарушений при хронической алкогольной интоксикации (Me (k25%; k75%))

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Контроль	Интоксикация этанолом			
			Без введения препаратов	Введение «Гепон», «Гипоксен» и «Фосфоглив»	Введение «Лонгидаза», «Мексикор» и «Эссенциале форте Н»	Введение «Глутоксим», «Мексидол» и «Гептрал»
Плазма крови						
МДА	мкмоль/л	2,38 [2,10; 2,43]	5,48* ¹ [4,44; 7,33]	4,00* ^{1,2} [2,32; 5,24]	2,63* ¹⁻³ [2,01; 3,92]	3,00* ¹⁻³ [1,66; 4,35]
АГП	усл. ед.	0,27 [0,21; 0,29]	0,70* ¹ [0,59; 0,78]	0,47* ^{1,2} [0,38; 0,54]	0,44* ^{1,2} [0,35; 0,59]	0,31* ¹⁻⁴ [0,25; 0,35]
ОАА	%	44,12 [40,05; 48,24]	34,16* ¹ [28,78; 39,04]	35,52* ¹ [30,00; 39,99]	40,04* ¹⁻³ [37,24; 43,35]	43,67* ^{2,3} [39,83; 46,06]
СОД	усл. ед./мл	10,06 [8,44; 11,02]	6,91* ¹ [6,41; 7,52]	7,06* ¹ [6,30; 8,05]	8,05* ^{1,2} [7,50; 9,23]	8,33* ^{2,3} [6,79; 9,89]
Каталаза	мкат/л	14,20 [10,22; 16,38]	9,93* ¹ [6,80; 12,39]	10,16* ¹ [8,37; 12,11]	11,36* ² [9,98; 13,36]	13,04* ^{2,3} [11,94; 13,65]
СМ _{NO}	мкмоль/л	7,81 [6,68; 9,04]	3,73* ¹ [3,32; 4,04]	4,26* ^{1,2} [3,77; 4,71]	4,41* ^{1,2} [3,70; 5,09]	6,32* ²⁻⁴ [4,98; 7,09]
Эритроциты						
МДА	ммоль/л	0,36 [0,24; 0,41]	0,68* ¹ [0,57; 0,78]	0,67* ¹ [0,60; 0,79]	0,50* ¹⁻³ [0,43; 0,54]	0,44* ¹⁻⁴ [0,42; 0,48]
АГП	усл. ед	0,14 [0,09; 0,17]	0,44* ¹ [0,36; 0,50]	0,38* ¹ [0,33; 0,42]	0,20* ¹⁻³ [0,09; 0,26]	0,20* ¹⁻³ [0,17; 0,23]
ОАА	%	40,05 [35,05; 43,50]	31,07* ¹ [28,39; 34,29]	37,05* ² [35,40; 38,82]	40,46* ² [35,92; 46,63]	40,12* ² [36,09; 43,76]
СОД	усл.ед/мл	33,02 [28,11;36,01]	17,74* ¹ [12,80; 21,73]	24,04* ^{1,2} [22,16; 25,74]	29,20* ^{2,3} [27,28; 31,72]	28,10* ^{2,3} [23,07; 32,71]
Каталаза	мкат/л	12,17 [8,98; 14,02]	8,14* ¹ [6,54; 8,75]	9,94* ^{1,2} [8,42; 11,90]	10,56* ² [9,22; 12,62]	11,33* ² [10,21; 11,92]
ССЭ	%	54,02 [49,50; 56,17]	35,38* ¹ [32,62; 37,31]	42,45* ^{1,2} [38,46; 48,40]	41,58* ^{1,2} [34,21; 48,33]	50,90* ²⁻⁴ [42,61; 56,53]
СЕГ	10 ¹² г/эр	3,11 [2,75; 3,27]	3,79* ¹ [2,97; 4,66]	3,53* ¹ [3,25; 3,82]	2,60* ^{2,3} [0,69; 4,65]	3,01* ^{2,3} [2,70; 3,27]

Этанольная интоксикация в течение 60 дней приводит к изменению 97,1% лабораторных показателей от значения контрольных животных, из которых 48,6% с I степенью изменений, а 20,0% и 28,6% соответственно со II и III, при которых требуется применение различных методов коррекции [14, 28]. Применение схемы фармакологической коррекции Гепон, Гипоксен и Фосфоглив снижало количество измененных показателей от значений контроля до 88,6% и несколько изменяло их качественно: со II и III степенью изменений оказалось 17,1% и 20,0%, а с I степенью 51,4%. После введения препаратов Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н измененными остались 74,3% исследованных лабораторных параметров, из которых соответственно с I, II и III степенью выявлено 45,7% 17,1% и 11,4%. Использование

комбинации препаратов Глутоксим, Мексидол, Гептрал оказалось наиболее эффективным, так как снижало измененные от контроля показатели до 48,6%, а в качественном отношении по степеням расстройств с требуемой обязательной коррекцией со II и III степенью выявлено соответственно 17,1% и 8,6% лабораторных параметров (табл. 5).

При выявлении корректирующих эффектов исследуемых сочетаний препаратов при ХАИ по иммунометаболической эффективности композиция Лонгидаза, Мексикор и Эссенциале форте Н оказалась менее значимой по сравнению с комбинацией препаратов Глутоксим, Мексидол, Гептрал (соответственно 41,2 и 47,1 баллов) и значительно эффективнее сочетания препаратов Гепон, Гипоксен и Фосфоглив (23,5 баллов) (табл. 6).

Таблица 3. Фармакологическая коррекция иммунных нарушений при хронической алкогольной интоксикации (Ме (k25%; k75%))

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5
		Контроль	Интоксикация этанолом			
			Без введения препаратов	Введение «Гепон», «Гипоксен» и «Фосфоглив»	Введение «Лонгидаза», «Мексикор» и «Эссенциале форте Н»	Введение «Глутоксим», «Мексидол» и «Гептрал»
ГИО и ГЗТ						
АОК	тыс./орг.	32,97 [29,70; 35,02]	23,33* ¹ [21,05; 26,27]	24,30* ¹ [21,48; 27,60]	27,61* ^{1,2} [26,35; 29,82]	30,66* ^{2,3} [25,28; 35,54]
РМ	мг	2,58 [2,37; 2,95]	2,16* ¹ [2,01; 2,35]	2,45* ^{1,2} [2,36; 2,58]	2,50* ^{1,2} [2,40; 2,63]	2,57* ^{2,3} [2,51; 2,71]
РК	10 ⁶ кариоцитов	1,98 [1,69; 2,07]	1,62* ¹ [1,56; 1,71]	1,67* ¹ [1,58; 1,79]	1,72* ¹ [1,66; 1,79]	1,89* ^{2,3} [1,79; 1,97]
Функционально-метаболическая активность нейтрофилов периферической крови						
ФП	%	81,58 [77,13; 86,01]	56,00* ¹ [49,86; 64,89]	61,96* ^{1,2} [57,60; 66,30]	67,59* ¹⁻³ [62,65; 78,28]	70,05* ¹⁻³ [64,74; 77,56]
ФЧ	абс.	3,07 [3,01; 3,24]	2,33* ¹ [2,14; 2,52]	2,60* ^{1,2} [2,37; 2,81]	2,83* ¹⁻³ [2,70; 2,87]	2,85* ¹⁻³ [2,59; 3,16]
ИАФ	—	2,50 [2,32; 2,79]	1,31* ¹ [1,02; 1,62]	1,61* ^{1,2} [1,46; 1,81]	1,91* ¹⁻³ [1,69; 2,16]	2,0* ¹⁻³ [1,88; 2,12]
НСТ-сп.	mOD	0,74 [0,65; 0,78]	1,82* ¹ [1,38; 2,01]	1,17* ^{1,2} [1,03; 1,26]	0,93* ¹⁻³ [0,73; 1,20]	0,78* ¹⁻⁴ [0,60; 0,91]
НСТ-ст. н/з	mOD	1,34 [1,10; 1,64]	1,62* ¹ [1,51; 1,82]	1,32* ² [1,17; 1,43]	1,12* ² [0,91; 1,30]	1,16* ² [1,06; 1,29]
НСТ-ст. о/з	mOD	1,47 [1,16; 1,82]	1,66* ¹ [1,58; 1,75]	1,63* ¹ [1,52; 1,75]	1,56* ¹ [1,22; 1,81]	1,44* ^{2,3} [1,26; 1,69]
КАн	—	1,81 [1,69; 2,10]	0,89* ¹ [0,78; 1,09]	1,13* ^{1,2} [0,93; 1,42]	1,20* ^{1,2} [0,96; 1,59]	1,49* ²⁻⁴ [1,17; 2,15]
КАо	—	1,99 [1,78; 2,33]	0,91* ¹ [0,77; 1,24]	1,39* ^{1,2} [1,20; 1,56]	1,68* ¹⁻³ [1,48; 2,16]	1,85* ¹⁻³ [1,41; 2,17]
КО	—	1,09 [1,05; 1,11]	1,02 [0,83; 1,60]	1,23* ^{1,2} [1,11; 1,42]	1,39* ^{1,2} [1,20; 1,66]	1,24* ^{1,2} [0,98; 1,40]

Таблица 4. Иммунометаболическая эффективность различных сочетаний иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов в условиях хронической алкогольной интоксикации

Введение препаратов	Изменённые лабораторные показатели		Из них после коррекции:					
	абс.	%	нормализованы		корректированы		не изменились	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%
Введение «Гепон», «Гипоксен» и «Фосфоглив»	34	97,1	4	11,4	19	54,3	12	34,3
Введение «Лонгидаза», «Мексикор» и «Эссенциале форте Н»			9	25,7	22	62,9	4	11,4
Введение «Глутоксим», «Мексидол» и «Гептрал»			18	51,4	16	45,7	1	2,9

КОРРЕКЦИЯ НАРУШЕНИЙ ПРИ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

Таблица 5. Сравнительная иммунометаболическая эффективность различных схем фармакологической коррекции по степеням расстройств при длительной алкогольной интоксикации

Условия исследования	Измененные показатели от значений контрольных животных		Изменённые показатели по степени расстройств					
			I		II		III	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Алкогольная интоксикация								
Без введения препаратов	34	97,1	17	48,6	7	20,0	10	28,6
Введение «Гепон», «Гипоксен» и «Фосфоглив»	31	88,6	18	51,4	6	17,1	7	20,0
Введение «Лонгидаза», «Мексикор» и «Эссенциале форте Н»	26	74,3	16	45,7	6	17,1	4	11,4

Таблица 6. Собственные корригирующие эффекты различных сочетаний иммуномодуляторов, антиоксидантов и гепатопротекторов на фоне хронической алкогольной интоксикации

Схемы фармакологического лечения	Сумма показателей коррекции
Введение «Гепон», «Гипоксен» и «Фосфоглив»	23,5
Введение «Лонгидаза», «Мексикор» и «Эссенциале форте Н»	41,2
Введение «Глутоксим», «Мексидол» и «Гептрал»	47,1

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные нами данные позволяет заключить, что у животных с хронической алкогольной интоксикацией наблюдается развитие основных биохимических синдромов поражения печени: цитолитического, внутриклеточного холестаза, токсического поражения по воспалительному типу и недостаточности синтетических процессов. Кроме этого, в условиях ХАИ развивается окислительный стресс и активация ПОЛ, о чём свидетельствует и в наших исследованиях и по данным литературы повышение в плазме крови и эритроцитах концентрации АГП и МДА, снижение параметров антиоксидантной защиты (ОАА, активности СОД и каталазы) [15, 29]. Выявленное нами снижение CM_{NO} может свидетельствовать о некомпенсированном расходе оксида азота, что часто вызывает вазоконстрикцию и тромбоз [7, 11], возможность развития которых усиливается вследствие установленного нами повышения ПТИ.

С учётом выявленных нарушений при хронической интоксикации этанолом (мембраноповреждающие эффекты, окислительный стресс, активация ПОЛ, развитие вторичной метаболической иммуносупрессии, нарушение метаболической активности циркулирующих эритроцитов) для коррекции повреждений использовались три сочетания иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов, которые оказывали различные в количественном и качественном отношении корригирующие эффекты на функциональную активность гепатоцитов, оксидантные и иммунные показатели, метаболическую активность эритроцитов и полиморфноядерных лейкоцитов периферической крови.

Полученные результаты позволяют утверждать, что сочетания препаратов Лонгидаза, Мексикор

и Эссенциале форте Н и Глутоксим, Мексидол, Гептрал наиболее перспективны для коррекции иммунометаболических нарушений при хронической алкогольной интоксикации, а эффективность каждой комбинации обусловлена удачным сочетанием фармакологических эффектов каждого отдельно взятого препарата, входившего в её состав.

ЛИТЕРАТУРА

- Белова Ю.Ю. (2012) Вестн. экономики, права и социологии, **1**, 278-282.
- Макаров П.В., Погорельская Л.В. (2016) Токсикол. вестн., **139**(4), 24-27.
- Самсонов А.А., Плотникова Е.Ю., Никушкина И.Н., Талицкая Е.А., Краснова М.В., Краснов О.А. (2013) Медицинский совет, **10**, 38-41.
- Альтшулер В.Б. (2013) Вопросы наркологии, №1, 118-133.
- Винник Ю.С., Дунаевская С.С., Антюфриева Д.А. (2012) Новости хирургии, **20**(4), 38-41.
- Сиволан Ю.П. (2015) Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова, **115**(9), 23-27.
- Луцкий М.А., Есауленко И.Э., Земсков А.М. (2011) Окислительный стресс при цереброваскулярных заболеваниях и инсульте, ОАО Издательство "Медицина", М., 237 с.
- Lushchak V.I. (2011) Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol., **153**(2), 175-190.
- Wang Z., Lee J., Zhang Y. (2011) Scand. Cardiovasc. J., **45**, 54-61.
- Reuter S., Gupta S.C., Chaturvedi M.M., Aggarwal B.B. (2010) Free Rad. Biol. Med., **49**(11), 1603-1616.
- Murray K.N., Buggey H.F., Denes A., Allan S.M. (2013) Mol. Cell Neurosci., **53**, 14-25.
- Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Корякина Л.Б., Курильская Т.Е., Пивоваров Ю.И. (2010) Бюлл. ВСНЦ СО РАМН, **3**(73), 334-354.

13. Конопля А.И., Литвинова Е.С., Суняйкина О.А., Бушмина О.Н., Харченко А.В., Конопля А.А. (2017) Биомед. химия, **63**, 527-532. DOI: 10.18097/PBMC20176306527
14. Конопля А.И., Гаврилюк В.П., Локтионов А.Л., Конопля А.А., Быстрова Н.А. (2015) Клинический опыт совместного использования иммуномодуляторов, антиоксидантов и мембранопротекторов в клинической практике, Изд-во МУП "Курская городская типография", Курск, 160 с.
15. Панченко Л.Ф., Давыдов Б.В., Теребилина Н.Н., Баронец В.Ю., Журавлева А.С. (2013) Биомед. химия, **59**, 452-458. DOI: 10.18097/PBMC20135904452
16. Bablok W., Passing H., Bender R., Schneider B. (1988) Clin. Chem. Lab. Med., **26**(11), 783-790.
17. Камышиников В.С., Вологовская О.А., Ходюкова А.Б., Дальнова Т.С., Василиу-Светлицкая С.Г., Зубовская Е.Т., Алехнович Л.И. (2016) Методы клинических лабораторных исследований, МЕДпресс-информ, М., 736 с.
18. Wagner C., Dati F. (1998) In: Clinical Laboratory Diagnostics: Prothrombin time (PT) test. (L Thomas, ed.) TH-Books Verlagsgesellschaft, Frankfurt, pp. 599-601.
19. Алан Г.Б. Ву (2013) Клиническое руководство Тица по лабораторным тестам (пер. с англ.), Лабора, М., 1279 с.
20. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. (1983) Лаб. дело, №3, 33-36.
21. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. (1977) в кн: Современные методы в биохимии, Медицина, М., сс. 66-68.
22. Wheeler C., Salzman J.A., Elsayed N., Omaye S., Korte D. (1990) Anal. Biochem., **184**(2), 193-199.
23. Галактионова Л.П., Молчанов А.В., Ельчанинова С.А., Варшавский Б.Я. (1998) Клин. лаб. диагн., №6, 10-14.
24. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Матвеев С.Б., Мусселиус С.Г., Давыдов Б.В., Тихомирова Н.И., Олейникова О.Н., Картавенко В.И., Стоцкая Т.В. (2003) Патол. физиол. экспер. тер., №4, 11-13.
25. Семко Г.А. (1998) Украинский биохимический журнал, **70**(3), 113-118.
26. Фримель Г. (1987) Иммунологические методы (пер. с нем.), Мир, М., 320 с.
27. Зинкин В.Ю., Годков В.Г. (2004) Клин. лаб. диагн., №2, 27-31.
28. Земсков А.М., Земсков В.М., Золотев В.И., Земскова В.А., Кузнецов А.Н. (2013) Неортодоксальная иммунология, "Триада-Х", М., 223 с.
29. Бейникова И.В., Терехин С.П., Муравлёва Л.Е., Молотов-Лучанский В.Б., Бакирова Р.Е., Ключев Д.А., Снытина В.А. (2016) Вопросы питания, **85**(3), 36-40.

Поступила: 14. 05. 2018.
Принята к печати: 20. 06. 2018.

THE USE OF IMMUNOMODULATORS, ANTIOXIDANTS AND HEPATOPROTECTORS FOR THE CORRECTION OF THE LIVER, ERYTHROCYTES AND THE IMMUNE SYSTEM DISORDERS IN CHRONIC ETHANOL INTOXICATION

S.A. Dolgareva, A.V. Sorokin, N.A. Konoplya, O.N. Bushmina, N.A. Bystrova, A.I. Ovod

Kursk State Medical University,
3 K. Marx str. , Kursk, 305041 Russia; e-mail: dolgareva-svetlana@yandex.ru

The effectiveness of three various combinations of an immunomodulator with an antioxidant and a membrane protector in the correction of metabolic and immune disorders has been studied in the experiment under 60-days ethanol intoxication. The development of such biochemical syndromes of the liver damage as cytolysis, intrahepatic, intracellular cholestasis, toxic liver damage by necrotic type, insufficiency of synthetic processes and inflammatory has been revealed. Oxidative stress development and the activation of lipid peroxidation on the systemic (blood plasma) and local level (erythrocytes) have been established. Suppression of adaptive immunity formation and phagocytic capabilities of neutrophils under the increase in their oxygen-dependent activity has been determined, which indicates the presence and possible progression of the inflammatory process at the systemic level. A disorder of erythrocytes metabolic activity, a decrease in stable metabolites of nitric oxide detected in blood plasma been revealed, indicating its uncompensated consumption, causing vasoconstriction and thrombosis, which can additionally arise due to the established increase in the prothrombin index. Combined use of "Longidasa", "Mexicor", "Essentiale forte N" or "Glutoxim", "Mexidol", "Heptral" was more effective in the correction of immune-metabolic disorders in chronic alcohol intoxication than "Hepon", "Hypoxen" and "Phosphogliv".

Key words: ethanol; intoxication; metabolic disorders; pharmacological correction