

УДК 547.262 :615.099

ВЛИЯНИЕ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ, ГОЛОВНОГО МОЗГА И ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОМ ТЯЖЕЛОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛОВЫМ СПИРТОМ

Д.А. Халютин¹, Р.А. Тарумов^{1,2},
А.А. Ховпачёв¹, В.Л. Рейнюк¹,
А.Е. Антушевич¹, А.Н. Гребенюк^{1,3}

¹Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²637 Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства обороны Российской Федерации, 299028, г. Севастополь, Российская Федерация

³Федеральное бюджетное учреждение науки «Северо-Западный научный центр гигиены и общественного здоровья» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Представлены результаты исследования биохимических показателей сыворотки крови, гомогенатов печени и головного мозга крыс при остром отравлении этиловым спиртом на фоне применения пептидных препаратов моликсана и семакса. Этанол в виде 40% раствора вводили внутривентрикулярно в дозе 12 г/кг, что соответствовало 1,5 ЛД₅₀. Моликсан вводили внутривентрикулярно в дозе 30 мг/кг, семакс – интраназально в дозе 3 мг/кг. Эффективность препаратов оценивали при лечебно-профилактической (за 1 ч до и сразу после введения этанола) схеме применения. Оценку исследуемых биохимических показателей проводили через 3 ч, 1 сут и 3 сут после моделирования алкогольной интоксикации. Показано, что острое тяжелое отравление этанолом сопровождалось возникновением цитолитического и холестатического синдромов поражения печени отравленных животных, а также усилением процессов оксидативного стресса, варьировавшими в зависимости от времени после введения этанола. Лечебно-профилактическое применение моликсана и семакса оказывало положительное влияние на динамику показателей, характеризующих обмен веществ, печеночный цитолиз, а также увеличивало содержание восстановленного глутатиона и снижало уровень малонового диальдегида в тканях отравленных животных.

Ключевые слова: этанол, отравление, пептиды, моликсан, семакс, биохимия крови, восстановленный глутатион, малоновый диальдегид.

Введение. Благодаря активным мерам, принимаемым государством по сокращению потребления алкогольной продукции, уровень потребления этанола в нашей стране постепенно снижается [1]. Однако, несмотря на положитель-

ную динамику продаж и потребления алкогольной продукции, уровень смертности от острых алкогольных интоксикаций остается на прежнем уровне, занимая в среднем 60% всех смертельных исходов от острой химической патологии и 25%

Халютин Денис Александрович (Halyutin Denis Aleksandrovich), кандидат медицинских наук, преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, hal-denis81@yandex.ru

Тарумов Роман Алексеевич (Tarumov Roman Alexeevich), кандидат медицинских наук, старший врач-эксперт отделения военного труда, токсикологии и радиологии 637 ЦГСЭН МО РФ, 299028, г. Севастополь; соискатель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, tarumov_ra@mail.ru

Ховпачёв Алексей Андреевич (Novrashev Alexey Andreevich), слушатель факультета подготовки врачей Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, kmkk2005@rambler.ru

Рейнюк Владимир Леонидович (Reynuk Vladimir Leonidovich), доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, vladton@mail.ru

Антушевич Александр Евгеньевич (Antushevich Aleksandr Evgenyevich), доктор медицинских наук, профессор, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории военной терапии научно-исследовательского центра Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, mantushevich@mail.ru

Гребенюк Александр Николаевич (Grebnyuk Aleksandr Nikolaevich), доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, 194044, г. Санкт-Петербург; заведующий лабораторией токсикологии Северо-Западного научного центра гигиены и общественного здоровья Роспотребнадзора, 191036, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, grebnyuk_an@mail.ru

из числа зарегистрированных случаев острых отравлений алкоголем, что обуславливает актуальность поиска новых фармакологических препаратов для лечения отравлений этанолом [2].

В настоящий момент в качестве средств, корригирующих патологические состояния химической этиологии, активно внедряются пептидные препараты, к числу которых относятся исследованные в настоящей работе препараты моликсана и семакс. Интерес фармакологов и токсикологов к пептидным препаратам объясняется их высокой активностью, отсутствием выраженных побочных эффектов при применении в терапевтических дозах, отсутствием феноменов привыкания и отмены при относительно длительном курсе лечения [3, 4]. В проведенных нами ранее исследованиях показано, что комбинация моликсана и семакса при моделировании интоксикаций этиловым спиртом в различных дозах обладает лечебной эффективностью по критериям выживаемости и индекса защиты [5, 6].

Анализ литературных данных показывает, что введение больших доз этанола вызывает образование активных форм кислорода, что является одним из механизмов развития гепатаргии и острой церебральной недостаточности [7, 8]. Однако, сведения о влиянии моликсана и семакса на биохимические показатели сыворотки крови, а также на показатели системы глутатиона и перекисного окисления липидов, характеризующие эти состояния, в литературе не представлены.

В связи с этим, *целью исследования* явилось изучение биохимического статуса крыс по показателям сыворотки крови, гомогенатов печени и головного мозга при остром тяжёлом отравлении этиловым спиртом и фармакологической коррекции этого состояния комбинацией моликсана с семаксом.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены на 62 белых аутбредных крысах-самцах массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в однопольных группах в условиях вивария, не более 6 особей в одной клетке при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света 8.00–20.00 при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$. За сутки до эксперимента животных не кормили. При проведении исследования выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [9] и правил лабораторной практики (Приказ МЗСР РФ от 23 августа 2010 г № 708н).

В качестве токсиканта использовали 40% водный раствор этанола, который вводили внутривенно при помощи зонда в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ (12,0 г/кг). В связи с большим объемом вводимого рас-

твора указанную дозу делили поровну на два введения через 15 мин.

Моликсан представлял собой прозрачный или слабо окрашенный, без запаха или со слабым запахом уксусной кислоты 3% раствор производства ЗАО «Фарма ВАРМ» (г. Санкт-Петербург). Моликсан относится к классу пептидных препаратов и представляет собой органическую соль, включающую инозин (пуриновый компонент) и окисленный глутатион (пептидный компонент) в соотношении 1:1. Официальный препарат моликсана перед началом эксперимента разводили в физиологическом растворе и вводили в виде 0,3% раствора внутривенно в дозе 30 мг/кг.

Семакс представлял собой 1% раствор назальных капель производства ЗАО «Инновационный научно-производственный центр «Пептоген» (г. Москва). Препарат представляет собой гексапептид – аналог фрагмента 4-10 адренокортикотропного гормона. Семакс вводили интраназально в дозе 3 мг/кг.

Препараты применяли двукратно, используя лечебно-профилактическую схему введения: за 1 ч до и сразу после введения этанола.

Животные были разделены на 3 группы: 1-я – интактные животные, которых не подвергали никаким фармакологическим и токсическим воздействиям (группа «интактные»); 2-я – животные, которым вводили этанол и физиологический раствор в объемах, равных вводимым препаратам (группа «этанол»); 3-я – животные, которым вводили этанол и моликсан с семаксом (группа «этанол + моликсан + семакс»).

Оценку эффективности моликсана и семакса проводили через 3 ч, 1 и 3 сут после введения этанола в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ путем определения в сыворотке крови крыс концентрации общего белка, холестерина, глюкозы, мочевины, креатинина, активности аспаратаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Кроме того, в эти же сроки в гомогенатах печени и головного мозга крыс определяли содержание восстановленного глутатиона (ВГ) и малонового диальдегида (МДА).

Оценку концентрации мочевины, общего белка, креатинина, глюкозы, холестерина, а также активности АлАТ, АсАТ, ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови крыс проводили на биохимическом анализаторе «BS-120» (Mindray, Китай) с помощью набора реактивов «Ольвекс» (Россия). Концентрацию общего белка в сыворотке крови выражали в г/л; концентрацию холестерина, глюкозы, мочевины – в ммоль/л; концентрацию креатинина – в мкмоль/л; активность АсАТ, АлАТ, ЩФ и ЛДГ – в Ед/л.

Концентрацию ВГ определяли с использованием 5,5-дителиобис(2-нитробензойной кислоты)

по методике G.L. Ellman [10] в модификации, заключающейся в осаждении белка 20% раствором сульфосалициловой кислоты. Содержание МДА определяли по методу M. Uchiyama [11]. Концентрацию МДА и ВГ выражали в мкмоль/г ткани.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные подвергали стандартной статистической обработке в программе «Excel for Windows» с расчетом среднего значения (M) и ошибки среднего (m_x). Выборка для каждой экспериментальной группы животных составила не менее 6 особей. Данные во всех таблицах представлены в виде $M \pm m_x$. Оценку различий средних значений проводили непараметрическим методом с использованием U-критерия Манна-Уитни [12]. Вероятность $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных.

Результаты и обсуждение. Введение этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ приводило к возникновению у животных крайне тяжелой степени интоксикации.

Введение пептидных препаратов способствовало снижению развития нарушений неврологических и вегетативных функций, увеличивая выживаемость.

Установлено, что острое тяжелое отравление этанолом сопровождалось изменениями содержания общего белка, мочевины, холестерина, глюкозы, а также активности АлАТ, АсАТ, ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови отравленных животных (табл. 1-2).

Показатели общего белка и мочевины сыворотки крови животных группы «этанол» и крыс, получавших комбинацию пептидных препаратов, умеренно снижались на 1 сут после введения этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀. Содержание креатинина и холестерина под влиянием этанола практически не изменялось (табл. 1).

Введение этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ вызывало снижение содержания глюкозы через 3 ч и 1 сут. При лечебно-профилактическом введении моликсана и семакса содержание глюкозы в сыворотке

Таблица 1

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на показатели белкового, углеводного и жирового обмена у крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом

Группа (число животных)	Сроки исследования после введения этанола	Белковый обмен			Углеводный обмен	Жировой обмен
		Общий белок, г/л	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, ммоль/л	Глюкоза, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
Интактные (n=20)	-	64,9±1,4	9,9±0,5	65,9±1,7	5,4±0,2	2,0±0,1
Этанол (n=6)	3 ч	62,2±3,4	9,3±0,8	60,2±3,0	3,6±0,1*	1,7±0,1
Этанол+ Моликсан+ Семакс (n=6)		62,6±2,5	9,5±0,4	63,5±3,1	4,4±0,2*#	1,6±0,2
Этанол (n=6)	1 сут	47,9±2,4*	6,6±1,2*	69,1±3,2	3,3±0,1*	2,5±0,2
Этанол+ Моликсан+ Семакс (n=8)		48,4±1,6*	7,3±1,3*	65,5±1,9	4,7±0,2#	2,7±0,1*
Этанол (n=6)	3 сут	61,6±4,9	9,2±0,9	64,5±4,94	6,1±0,2	2,5±0,2
Этанол+ Моликсан+ Семакс (n=9)		64,3±3,3	9,5±0,7	70,2±8,3	5,9±0,3	2,6±0,4

Примечания:

* – различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

– различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на активность ферментов сыворотки крови крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом, Ед/л

Группа (число животных)	Сроки исследования после введения этанола	Исследуемые ферменты			
		АлАТ	АсАТ	ЩФ	ЛДГ
Интактные (n=20)	-	178,8±5,6	85,9±1,8	414,4±7,8	660,1±19,0
Этанол (n=6)	3 ч	269,2±7,3*	152,2±9,8*	523,3±10,4*	1881,9±50,4*
Этанол+Моликсан+Семакс (n=6)		187,1±10,8#	94,9±2,9#	458,5±10,4*#	1059,7±33,5*#
Этанол (n=6)	1 сут	322,8±18,2*	176,1±9,6*	787,4±14,9*	2130,5±102,9*
Этанол+Моликсан+Семакс (n=8)		224,1±12,3*#	96,8±5,3#	476,3±14,6*#	1360,6±74,6*#
Этанол (n=6)	3 сут	216,8±5,7*	100,9±4,9*	456,8±15,0*	1280,7±29,4*
Этанол+Моликсан+Семакс (n=9)		198,3±9,4	92,7±4,1	410,1±24,3	1053,8±42,4*#

Примечание:

* - различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

- различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

через 3 ч после введения этилового спирта было больше, чем в группе «этанол», а к 1 сут наблюдения не отличалось от среднего показателя, полученного у интактных животных (табл. 1).

Активность АлАТ в сыворотке крови животных, подвергшихся интоксикации этанолом в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$, увеличивалась через 3 ч, 1 сут и 3 сут в 1,5; 1,8 и 1,2 раза соответственно (табл. 2). Сочетанное применение моликсана и семакса позволяло в 1,2-1,5 раза снизить активность этого фермента по сравнению с группой «этанол» практически до значений интактных животных через 3 ч и 3 сут после отравления.

Активность АсАТ в сыворотке крыс из группы «этанол» в те же временные промежутки превышала в 1,8; 2 и 1,2 раза значения активности фермента у интактных животных (табл. 2). Лечебно-профилактическое применение моликсана и семакса в 1,5 раза снижало степень активности АсАТ к 3 ч наблюдения, а через 1 сут – в 2 раза по сравнению с группой «этанол». Следует отметить, что у получавших пептидные препараты

крыс воздействие этанола практически не изменяло активности АсАТ по сравнению с интактными животными.

Острое крайне тяжелое отравление этанолом также сопровождалось увеличением активности ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови животных в течение 3 сут наблюдения (табл. 2). Сочетанное применение пептидных препаратов снижало интенсивность процессов, приводящих к повышению содержания данных ферментов в сыворотке крови, в течение всего периода наблюдения. При этом во все сроки наблюдения активность ЩФ у отравленных этанолом крыс, получавших пептидные препараты, оставалась на уровне интактных животных, а активность ЛДГ была значительно (в 1,5-2 раза) ниже, чем у нелеченых крыс.

Воздействие этанола в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ приводило к снижению содержания ВГ в тканях печени (табл. 3). Применение моликсана и семакса позволяло снизить выраженность этого процесса через 3 ч и 1 сут после введения этанола, а через

3 сут сохраняло количество ВГ на уровне интактных животных.

Аналогичная картина наблюдалась и в тканях головного мозга: воздействие этанола приводило практически к двукратному снижению содержания ВГ во все сроки наблюдения, а лечебно-профилактическое применение пептидных препаратов позволяло в значительной степени предотвращать этот процесс (табл. 3). В частности, содержание ВГ в тканях головного мозга крыс, получавших моликсан и семакс во все сроки наблюдения после введения этанола было в 1,3 раза выше, чем в группе сравнения («этанол»).

Установлено также, что введение этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ увеличивало содержание МДА в тканях печени крыс через 3 ч и 1 сут после начала интоксикации в 1,8 раз (табл. 4). Сочетанное применение пептидных препаратов позволило снизить концентрацию МДА в указанные сроки в среднем на 30%.

В головном мозге повышение концентрации МДА также наблюдали через 3 ч и 1 сут после введения этанола (табл. 4). Особенно выраженное (в 2,3 раза) уровня МДА в тканях головного мозга наблюдали на 1 сут алкогольной интоксикации. Лечебно-профилактическое введение пептидных препаратов снижало содержание МДА в головном мозге через 3 ч – на 10%, а через 1 сут по сравнению с группой «этанол».

Изменение содержания общего белка, мочевины, креатинина и холестерина в крови при острых алкогольных интоксикациях имеет важное диагностическое значение, потому что отражает нарушения синтетической функции печени. В ходе проведенных нами исследований было установлено, что содержание общего белка и мочевины в сыворотке крови животных, отравленных этанолом (как получавших лечение, так и не получавших пептидные препараты), умеренно снижались на 1 сут после начала интоксикации.

Исследование уровня сывороточной глюкозы позволило выявить некоторые особенности патфизиологических процессов, возникающих после введения этилового спирта. Известно, что продукты окисления этанола способствуют накоплению кислых продуктов, что ведет к сдвигу рН в кислую сторону и нарушению работы ферментативных систем [7, 13, 14]. В этом контексте, снижение содержания глюкозы через 3 ч и 1 сут после введения спирта могло отражать «антиферментное» действие высоких доз этанола на системы, занятые в утилизации глюкозы по аэробному пути окисления. Сочетанное применение пептидных препаратов способствовало поддержанию обмена глюкозы, так как было выявлено, что через 3 ч после начала исследования ее содержание отличалось в 1,3 раза по сравнению с группой «этанол», а к 1 сут возвра-

Таблица 3

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на содержание восстановленного глутатиона в гомогенатах печени и головного мозга крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом, мкмоль/г

Группа	Орган	Срок исследования		
		3 ч	1 сут	3 сут
Интактные	Печень	14,28±0,34 (n=6)	14,46±0,57 (n=6)	14,16±0,37 (n=8)
Этанол		5,17±0,29* (n=6)	9,32±0,60* (n=6)	9,96±0,59* (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		6,95±0,48*# (n=6)	12,43±0,71*# (n=8)	14,09±1,20# (n=9)
Интактные	Головной мозг	4,56±0,22 (n=6)	4,77±0,34 (n=6)	4,27±0,14 (n=8)
Этанол		2,34±0,20* (n=6)	2,80±0,19* (n=6)	2,92±0,24* (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		3,02±0,23* (n=6)	3,70±0,18*# (n=8)	3,89±0,16# (n=9)

Примечание:

* – различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

– различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

щало к нормальным значениям.

Ингибирование этанолом ферментов цикла Кребса имеет важное патогенетическое значение, поскольку ведет к развитию энергодефицита за счет увеличения доли анаэробного окисления, а так же к снижению активности антиоксидантных систем, что создает условия для возникновения окислительного стресса, проявляющегося усилением процесса перекисного окисления липидов [8, 15].

Исследование подтвердило наличие цитотоксических процессов в печени уже в самом начале интоксикации этанолом, которые проявились увеличением активности АЛАТ и АсАТ в сыворотке крови, то есть цитолитическим синдромом, максимально выраженным на 1 сут исследования. Также интоксикация этанолом сопровождалась повышением сывороточной активности ЩФ в 2 раза, что является маркером умеренно выраженного холестаза [16]. Применение моликсана в составе комбинации с семаксом позитивно влияло на динамику токсического процесса в печени, снижая уровень маркеров повреждения в 1,5 раза в зависимости от сроков исследования и может расцениваться как гепатопротекторный эффект.

Возникновение в ходе алкогольной интоксикации таких типовых патологических процессов как усиленное образование различных

биологических окислителей и ацидоз обуславливает более детальное рассмотрение антиоксидантных возможностей органов-мишеней и степень их коррекции исследуемыми препаратами. По мнению ряда авторов, глутатион-зависимая антиоксидантная система является ведущей в обеспечении гомеостаза клеток и критической при интоксикациях, связанных с нарушением систем энергообеспечения тканей, ввиду лимитирования его обратного восстановления из окисленных форм [17,18]. Истощение резервов восстановленного глутатиона коррелирует с неврологическими нарушениями, нарушениями гемодинамики и детоксикационной функции печени при отравлениях веществами седативно-гипнотического действия [20]. Было установлено, что этиловый спирт в дозе 1,5 ЛД₅₀ вызывает у крыс снижение содержания ВГ в головном мозге и в печени. Полученные результаты характеризуют крайнюю степень тяжести состояния отравленных крыс, поскольку имеются данные, что снижение уровня ВГ до 20-30% от исходных значений при острых экспериментальных отравлениях этанолом у данного вида животных сопровождается резким снижением вероятности благоприятного прогноза [18].

Анализ динамики содержания МДА в экспериментальных группах позволяет судить о харак-

Таблица 4

Влияние сочетанного применения моликсана и семакса на содержание малонового диальдегида в гомогенатах печени и головного мозга крыс при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом, мкмоль/г

Группа	Орган	Срок исследования		
		3 ч	1 сут	3 сут
Интактные	Печень	4,18±1,44 (n=6)	4,49±1,02 (n=6)	4,57±1,02 (n=8)
Этанол		7,56±0,18* (n=6)	8,17±0,42* (n=6)	4,89±0,32 (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		5,23±0,83# (n=6)	5,49±0,32# (n=8)	4,41±0,26 (n=9)
Интактные	Головной мозг	7,25±0,33 (n=6)	6,90±0,53 (n=6)	6,69±0,25 (n=8)
Этанол		9,88±0,81* (n=6)	16,14±0,88* (n=6)	6,73±0,21 (n=6)
Этанол+Моликсан+Семакс		8,50±0,33* (n=6)	10,22±0,97*# (n=8)	6,54±0,18 (n=9)

Примечание:

* - различие с группой «интактные», $p \leq 0,05$;

- различие с группой «этанол», $p \leq 0,05$.

тере процессов пероксидации в тканях печени и головного мозга, а также степени их коррекции исследуемыми пептидами. Накопление конечных продуктов перекисного окисления, реагирующих с ТБК, наиболее выраженное на 1 сут исследования, отражает недостаточность антиоксидантной системы отравленных этанолом животных. Необходимо отметить, что уровень МДА в головном мозге крыс был выше, чем в печени в 1,5-2 раза, что вероятно, является следствием меньшего содержания ВГ в мозге, концентрация которого в группе «интактные» была ниже печеночной в 3 раза, и отражает крайнюю степень восприимчивости нервной ткани к гипоксии, вызванной введением этанола [20]. Экспериментальная терапия моликсаном и семаксом снижала выраженность депрессии уровня ВГ и накопления МДА, что может рассматриваться в качестве антиоксидантного эффекта и требует дальнейшего детального изучения.

Учитывая, что окисленный глутатион в составе моликсана не проникает внутрь клетки, этот эффект может быть обусловлен восстановлением поверхностно-клеточных рецепторов, содержащих сульфгидрильные группы, которые как известно, повреждаются в условиях ацидоза и повышенной пероксидации, что ведет к снижению реактивности при межклеточном взаимодействии и регуляции деятельности гуморальными факторами. Также полученные эффекты моликсана могут быть определены пуриновым компонентом, а значит, его можно рассматривать как метаболическое средство, так как при взаимодействии инозина с фосфорной кислотой образуется ряд соединений-макроэргов.

Вклад семакса в развитие снижения повреждения печени в условиях острой алкогольной интоксикации может быть обусловлен его цен-

тральными эффектами в виде снижения нарушений в регуляции сердечно-сосудистой и дыхательных систем [5, 21]. Так же эффективность пептида может быть следствием его периферического влияния, опосредованного афинностью семакса к мелатониновым МС-5 рецепторам, экспрессируемым на некоторых гепатоцитах [22, 23, 24].

Полученные данные служат очередным свидетельством полифункционального характера физиологических эффектов регуляторных пептидов, к которым могут быть отнесены моликсан и семакс. Одним из механизмов действия данных препаратов при острой тяжелой интоксикации этанолом может быть уменьшение окислительного стресса, которое отражается снижением интенсивности проявления гепатопатии.

Выводы.

1. Острое тяжелое отравление этиловым спиртом в дозе 1,5 ЛД₅₀ сопровождается нарушением углеводного обмена, снижением содержания восстановленного глутатиона в печени и головном мозге, максимально выраженным через 3 ч после введения спирта, и увеличением концентрации малонового диальдегида, наибольшие значения которого зафиксированы к концу 1 сут, а также сопровождается цитолитическим и холестатическим синдромами.

2. Лечебно-профилактическое введение моликсана (30 мг/кг) и семакса (3 мг/кг) при интоксикации этанолом в дозе 1,5ЛД₅₀ позволяет уменьшить выраженность активации ферментов АлАТ, АсАТ, ЩФ и ЛДГ в сыворотке крови.

3. Моликсан и семакс снижают выраженность этанол-индуцированного окислительного стресса, препятствуя избыточному накоплению МДА и сохраняя уровень ВГ в тканях печени и головного мозга отравленных крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Доклад федеральной службы государственной статистики «Продажа алкогольных напитков в регионах Российской Федерации». Доступно на сайте: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbinet.cgi?pl=2705014>. (Дата обращения 09 января 2016).
2. Бонитенко Е.Ю., ред. Клиника, диагностика, лечение, судебно-медицинская экспертиза отравлений алкоголем и его суррогатами: Пособие для врачей. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2013.
3. Головкин А.И., Иванов М.Б., Башарин В.А., Носов А.В. Терапевтическая эффективность церебролизина и пирацетама при закрытой черепно-мозговой травме у крыс на фоне острой интоксикации этанолом. Биомед. журн. Medline.ru. 2011; 4: 482-5.
4. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4–10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. Med. hypotheses. 2007; 68: 1144-6.
5. Гребенюк А.Н., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Халютин Д.А. Сравнительная оценка эффективности пептидных препаратов при острых тяжелых отравлениях этанолом. Токс. вестник. 2014; 6: 15-22.
6. Гребенюк А.Н., Рейнюк В.Л., Антушевич А.Е., Халютин Д.А., Маркосян А.М. Эффективность нейропептида и гепатопротекторов пептидной и непептидной природы в терапии острых крайне тяжелых отравлений этиловым спиртом. Вестн. Рос. Воен.-мед. академии. 2014; 1: 136-41.
7. Головкин А.И. Отрезвляющие средства, изменяющие токсикодинамику этанола. Биомед. химия. 2013; 6 (59): 604-21.
8. Цыган В.Н., Камилова Т.А., Скальный А.В., Цыган Н.В., Долго-Сабуров В.Б. Патопатология клетки. СПб.: ЭЛБИ-СПб; 2014.
9. Хельсинская декларация. Всемирная медицинская ассоциация. М.; 2001.
10. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. Arch. Biochem. Biophys. 1959; 82 (1): 70-77.
11. Ushiyama M., Michara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. Anal. Biochem. 1978; 1: 271-8.
12. Кувакин В.И., Иванов В.В., ред. Военно-медицинская статистика. СПб.: ВМедА; 2005.
13. Forsyth C., Farhadia A., Jakatea S., Tanga Y., Shaikha M., Keshavarziana A. Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in a rat model of alcoholic steatohepatitis. Alcohol. 2009; 43: 163-72.
14. Warner E., Schrum L., Schmidt C., McMillon I. Rodent models of alcoholic liver disease: Of mice and men. Alcohol. 2012; 46: 715-25.
15. Rocha M., Hernandez-Mijares A., Garcia-Malpartida K., Banuls C., Bellod L., Victor V. Mitochondria-targeted antioxidant peptides. Curr. Pharm. Des. 2010; 16 (28): 3124-31.
16. Stöckel F., Seitz H.K. Alcoholic steatohepatitis. Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 2010; 5: 683-93.
17. Root-Bernstein R., Fawcens J., Rhinesmith T., Koch A., Dillon P.F. Enzymatic recycling of ascorbic acid from dehydroascorbic acid by glutathione-like peptides in the extracellular loops of aminergic G-protein coupled receptors. J. Mol. Recognition. 2016; 1. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmr.2530/pdf>. (Accessed 10 January 2016).
18. Тиунов Л.А., Иванова В.А. Роль глутатиона в процессах детоксикации. Вест. АМН СССР. 1988; 1: 62-9.
19. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона. Успехи биол. химии. 1990; 31: 157-79.
20. Ливанов Г.А., Карпищенко А.И., Глушков С.И., Куценко С.А., Носов А.В. Состояние глутатионзависимой антирадикальной системы и процессов перекисного окисления липидов в различных тканях лабораторных животных при острых отравлениях тиопенталом натрия. Токс. вестник. 2002; 1: 11-7.
21. Steiner J.P., Nath A. Neurotrophin strategies for neuroprotection: are they sufficient? J. Neuroimmune Pharmacol. 2014; 2: 182-94.

22. Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф., Левицкая Н.Г. Исследование спектра физиологической активности аналога АКГГ 4-10 гептапептида семакс. *Нейрохимия*. 2008; 1-2: 111-8.

23. Бобынцев И.И., Крюков А.А., Шепелева О.М., Иванов А.В. Влияние пептида АКГГ 4-7-ПГП на перекисное окисление липидов в печени крыс и активность сывороточных трансами-

наз в условиях иммобилизационного стресса. *Эксп. и Клин. Фарм.* 2015; 78 (8): 18-21.

24. Shajari S., Laliene A., Heegsma J., Tunon M., Moshage H., Faber K.N.

Melatonin suppresses activation of hepatic stellate cells through ROR α -mediated inhibition of 5-lipoxygenase. *J. Pineal. Res.* 2015; 59 (3): 391-401.

REFERENCES:

1. Doklad federal'noj sluzhby gosudarstvennoj statistiki «Prodazha alkogol'nyh napitkov v regional'nyh Rossijskoj Federacii». Available at: <http://www.gks.ru/dbscripts/cbsd/dbinet.cgi?pi=27050> (Accessed 09 January 2016) (in Russian).
2. Bonitenko E.Yu., red. Klinika, diagnostika, lechenie, sudebno-medicinskaya ehkspertiza otravlenij alkogolem i ego surrogatami: Posobie dlya vrachej. SPb.: ELBI-SPb; 2013. (in Russian).
3. Golovko A.I., Ivanov M.B., Basharin V.A., Nosov A.V. Terapevticheskaya ehffektivnost' cerebrolizina i piracetama pri zakrytoj cherepno-mozgovoj travme u krysa na fone ostroj intoksikacii ehthanolom. *Biomedicinskiy zhurnal Medline.ru*. 2011; 4: 482-5. (in Russian).
4. Shih-Jen T. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4-10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome. *Med. hypotheses*. 2007; 68: 1144-6.
5. Grebenyuk A.N., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Halyutin D.A. Sravnitel'naya ocenka ehffektivnosti peptidnyh preparatov pri ostryh tyazhelyh otravleniyah ehthanolom. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2014; 6: 15-22.
6. Grebenyuk A.N., Reynyuk V.L., Antushevich A.E., Halyutin D.A., Markosyan

A.M. Effektivnost' nejropeptida i gepatoprotektorov peptidnoj i nepeptidnoj prirody v terapii ostryh krajne tyazhelyh otravlenij ehtilovym spirtom. *Vestnik Rossijskoj Voenno-medicinskoy akademii*. 2014; 1: 136-41. (in Russian).
7. Golovko A.I. Otrezvyayushchie sredstva, izmenyayushchie toksidinamiku ehthanola. *Biomedicinskaya khimiya*. 2013; 6 (59): 604-21 (in Russian).
8. Cygan V.N., Kamilova T.A., Skal'nyj A.V., Cygan N.V., Dolgo-Soburov V.B. Patofiziologiya kletki. SPb: ELBI-SPb; 2014. (in Russian).
9. Hel'sinskaya deklaraciya. Vsemirnaya medicinskaya asociaciya. M.; 2001. (in Russian).
10. Ellman G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* 1959; 82 (1): 70-77.
11. Ushiyama M., Michara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.* 1978; 1: 271-8.
12. Kuvakin V.I., Ivanov V.V., red. Voenno-medicinskaya statistika. SPb.: Voenno-medicinskay akademiya; 2010. (in Russian).
13. Forsyth C., Farhadia A., Jakatea S., Tanga Y., Shaikha M., Keshavarziana A. Lactobacillus GG treatment ameliorates alcohol-induced intestinal oxidative stress, gut leakiness, and liver injury in

a rat model of alcoholic steatohepatitis. *Alcohol*. 2009; 43: 163-72.
14. Warner E., Schrum L., Schmidt C., McKillop I. Rodent models of alcoholic liver disease: Of mice and men. *Alcohol*. 2012; 46: 715-25.
15. Rocha M., Hernandez-Mijares A., Garcia-Malpartida K., Banuls C., Bellod L., Victor V. Mitochondria-targeted antioxidant peptides. *Curr. Pharm. Des.* 2010; 16 (28): 3124-
16. Stickele F., Seitz H.K. Alcoholic steatohepatitis. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2010; 5: 683-93.
17. Root-Bernstein R., Fewins J., Rhinesmith T., Koch A., Dillon P.F. Enzymatic recycling of ascorbic acid from dehydroascorbic acid by glutathione-like peptides in the extracellular loops of aminergic G-protein coupled receptors. *J. Mol. Recognition*. 2016; Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmr.2530/pdf> (Accessed 10 January 2016).
18. Tiunov L.A., Ivanova V.A. Rol' glutationa v processah detoksikacii. *Vestnik AMN SSSR*. 1988; 1: 62-9.
19. Kulinskij V.I., Kolesnichenko L.S. Obmen glutationa. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 1990; 31: 157-79 (in Russian).
20. Livanov G.A., Karpishchenko A.I., Glushkov S.I., Kucenko S.A., Nosov A.V. Sostoyanie glutatiazavisimoy

antiradikal'noj sistemy i processov perekisnogo okisleniya lipidov v razlichnyh tkanyah laboratornyh zhivotnyh pri ostryh otravleniyah tiopentalom natriya. *Toksikologicheskiy vestnik*. 2002; 1: 11-7. (in Russian).
21. Steiner J.P., Nath A. Neurotrophin strategies for neuroprotection: are they sufficient? *J. Neuroimmune Pharmacol.* 2014; 2: 182-94.
22. Kamenskij A.A., Myasoedov N.F., Levickaya N.G. Issledovanie spektra fiziologicheskoy aktivnosti analoga AKGГ 4-10 гептапептида семакс. *Нейрохимия*. 2008; 1-2: 111-8. (in Russian).
23. Bobyntsev I.I., Kryukov A.A., Shepeleva O.M., Ivanov A.V. Vliyaniye peptida AKGГ 4-7-PPG na perekisnoe okislenie lipidov v pecheni krysa i aktivnost' sывorotochnyh transaminaz v usloviyah иммобилизационного стресса. *Экспериментальная и Клиническая Фармакология*. 2015; 78 (8): 18-21. (in Russian).
24. Shajari S., Laliene A., Heegsma J., Tunon M., Moshage H., Faber K.N. Melatonin suppresses activation of hepatic stellate cells through ROR-mediated inhibition of 5-lipoxygenase. *J. Pineal. Res.* 2015; 59 (3): 391-401

D.A. Halyutin¹, R.A. Tarumov^{1,2}, A.A. Hovpachev¹, V.L. Reynyuk¹, A.E. Antushevich¹, A.N. Grebenyuk^{1,3}

THE INFLUENCE OF PEPTIDE PREPARATIONS ON BIOCHEMICAL INDICES OF RAT BLOOD SERUM, BRAIN AND LIVER AT ACUTE ETHANOLPOISONING

¹S.M. Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation, 194044, Saint-Petersburg, Russian Federation

²637th Center of State Sanitary and Epidemiological Surveillance, Ministry of Defense of the Russian Federation, 299028, Sevastopol, Russian Federation

³North-West Scientific Center of Hygiene and Public Health, Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 191036, Saint-Petersburg, Russian Federation

Results of the investigation into biochemical indices of blood serum, liver and brain homogenates of rats at acute ethyl alcohol poisoning, using peptide preparations molixan and semax are reported. 40 % ethanol solution was intragastrically administrated in a dose of 12 g/kg that corresponds to 1.5 LD₅₀. Molixan was administered intraabdominally in a dose of 30 mg/kg and semax intranasally in a dose of 3 mg/kg. The preparations efficacy was evaluated using of therapeutic and prophylactic (an hour before and just after administration of ethanol) application scheme. The evaluation of biochemical parameters was performed 3 hours, 1 day and 3 days after modeling of the alcohol intoxication. It was found out that acute ethanol poisoning induced cytolytic and cholestatic hepatitis syndromes in poisoned animals, as well as increased oxidative stress processes which varied time-dependently after administration of ethanol. The therapeutic and preventive application of molixan and semax had a positive impact on the dynamics of indicators characterizing metabolism, hepatic cytolysis and increased the amount of reduced glutathione and significantly lowered malondialdehyde in the tissues of poisoned animals as well.

Keywords: ethanol, poisoning, peptides, molixan, semax, blood biochemical indices, reduced glutathione, malondialdehyde.

Переработанный материал поступил в редакцию 19.02.2016 г.