



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

УДК 616.36-005.8: 616-092.9

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ ИММУНОМЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ ГЕПТРАЛОМ И МЕКСИКОРОМ У ЖИВОТНЫХ НА ФОНЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

С.В. ТЕРЕХОВА
Н.А. БЫСТРОВА
Е.С. ЛИТВИНОВА
Е.В. ГАВРИЛЮК

*Курский государственный
медицинский университет*

e-mail: ganneta@list.ru

У экспериментальных животных в условиях ишемического поражения печени установлены выраженные изменения иммунной реактивности, функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов и гепатоцитов. Определена эффективность использования гептрала и мексикора как отдельно, так и в сочетании в коррекции нарушений иммунной реактивности, функциональной активности гепатоцитов и нейтрофилов.

Ключевые слова: ишемическое поражение печени, гептрал, мексикор, иммунометаболический статус.

Введение. Гипоксические состояния осложняют течение многих заболеваний различного генеза, являясь важнейшей составляющей самых разнообразных нозологических форм патологии: все виды дыхательной, сердечно-сосудистой недостаточности, кровопотеря, ишемия миокарда, нарушения мозгового или периферического кровообращения, термические и механические травмы. В хирургической практике нередко приходится на время прекращать кровоснабжение оперируемого органа, создавая искусственную ишемию. Это определяет исключительную важность и социальную значимость проблемы защиты организма от кислородной недостаточности и энергодефицита [2, 4].

По современным представлениям, главной мишенью для гипоксии является энергетический обмен. Энергодефицит и активация на его фоне перекисного окисления липидов приводят к комплексной модификации всех функций биологических мембран, в том числе мембран иммунных клеток и эритроцитов. При этом при гипоксии замыкается порочный круг: недостаток кислорода нарушает энергетический обмен и стимулирует свободнорадикальное окисление, а активация свободнорадикальных процессов, повреждая мембраны митохондрий и лизосом, усугубляет энергодефицит [4, 7].

Иммунные нарушения, возникающие при гипоксии различного генеза, и механизмы их развития остаются все еще малоизученными [7, 8].

Раскрытию механизмов нарушений иммунного и метаболического гомеостаза при ишемическом поражении печени, разработке способов фармакологической коррекции данных нарушений в настоящее время уделено недостаточное внимание.

Цель исследования – изучение иммуотропной и метаболической активности гептрала и мексикора у интактных животных и в условиях ишемического поражения печени.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на 144 здоровых половозрелых крысах линии Вистар, массой 180-200 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 ч, с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, ис-



пользуемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Острое ишемическое поражение печени вызывали оперативным методом под внутрибрюшинным гексеналовым наркозом (30 мг/кг веса). Операция выполнялась из верхнесрединного лапаротомного доступа. Ишемию печени вызывали пережатием гепатодуоденальной связки после ее инфильтрации 0,5 мл 0,5% раствора новокаина с помощью турникета в течение 20 минут [1].

Способ введения препаратов соответствовал рекомендациям, приведенным в пособии по фармакотерапии М.Д. Машковского «Лекарственные средства». Перерасчет доз с человека (средний вес 70 кг) на животных – белых крыс производился в сторону увеличения в 5,9 раз. Первое введение препаратов выполнялось за 1 час до манипуляции. Мексикор вводился внутрибрюшинно по 5 мг/кг через 24 часа №5, гептрал внутримышечно по 5,5 мг/кг через 24 часа №5.

Для оценки неспецифической резистентности устанавливали фагоцитарно-метаболическую активность полиморфноядерных лейкоцитов по фагоцитарному числу (ФЧ) и фагоцитарному индексу (ФИ), показателям спонтанного и индуцированного зимозаном НСТ-теста опсонизированного зимозаном (о/з) и неопсонизированного (н/з) [11, 12]. Оценка иммунологической реактивности основывалась на показателях гуморального иммунного ответа (ГИО) (количество антителообразующих клеток – АОК) и гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) (разнице масс регионарного и контрлатерального лимфатических узлов – РМ и по разнице количества в них кариоцитов – РК) [6].

В сыворотке крови экспериментальных животных определяли концентрацию общего билирубина, общего белка, фибриногена и активность аспартат- и аланинаминотрансфераз (АЛТ и АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), γ -глутамилтранспептидазы (ГГТ), ставили тимоловую пробу (ТП) и определяли протромбиновый индекс (ПТИ). Величины всех перечисленных показателей определяли унифицированными методами с использованием стандартных наборов реактивов [9]. Выраженность перекисного окисления липидов оценивали по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) и малонового диальдегида (МДА), кроме этого, в сыворотке крови определяли активность каталазы [3, 10].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя параметрические и непараметрические методы [5].

Результаты и их обсуждение. В условиях введения интактным животным гептрала достоверных различий между изучаемыми показателями иммунной реактивности и фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови получено не было (табл. 1).

Таблица 1

Иммунный и метаболический статусы при введении гептрала и мексикора интактным животным (M \pm m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4
		Интактные животные	Гептрал	Мексикор	Гептрал + Мексикор
АОК	10 ³ /сел.	19,7 \pm 1,4	18,9 \pm 3,1	21,7 \pm 2,2	23,7 \pm 3,9
РМ	мг	3,12 \pm 0,07	2,41 \pm 0,05	3,0 \pm 0,12	2,89 \pm 0,22
РК	10 ⁶	1,83 \pm 0,08	1,67 \pm 0,12	1,59 \pm 0,21	2,01 \pm 0,27
ФИ	%	71,7 \pm 3,6	67,0 \pm 4,7	69,5 \pm 4,2	70,4 \pm 3,3
ФЧ	абс.	2,54 \pm 0,14	2,31 \pm 0,06	2,4 \pm 0,11	2,54 \pm 0,12
НСТ-сп.	mOD	0,79 \pm 0,05	0,91 \pm 0,12 ^{*1}	0,69 \pm 0,05 ^{*3}	0,90 \pm 0,04 ^{*1,3}
НСТ-ст. н/з	mOD	0,89 \pm 0,07	1,26 \pm 0,07 ^{*1}	0,84 \pm 0,04 ^{*3}	0,91 \pm 0,04 ^{*3}
НСТ-ст. о/з	mOD	0,93 \pm 0,04	1,5 \pm 0,13 ^{*1}	0,92 \pm 0,03 ^{*3}	1,64 \pm 0,11 ^{*1,3}
АСТ	Е/л	41,4 \pm 4,2	44,7 \pm 7,1	39,4 \pm 4,1	43,7 \pm 8,0
АЛТ	Е/л	36,3 \pm 3,4	37,4 \pm 7,0	58,1 \pm 4,2	41,2 \pm 7,1
ГГТ	Е/л	10,7 \pm 1,3	9,8 \pm 2,2	9,7 \pm 2,1	11,2 \pm 1,8
ЩФ	Е/л	295,0 \pm 18,4	248,6 \pm 23,4	400,3 \pm 37,8 ^{*1,2}	385,5 \pm 21,2 ^{*1,2}
Билирубин	мкмоль/мл	13,1 \pm 2,1	15,4 \pm 4,4	12,3 \pm 2,0	11,0 \pm 1,9
ПТИ	%	51,3 \pm 5,3	52,8 \pm 4,4	46,4 \pm 4,7	50,2 \pm 4,7
ТП	ед. S-H	2,96 \pm 0,13	2,6 \pm 0,24	2,56 \pm 0,21	2,48 \pm 0,22
АГП	усл. ед.	1,71 \pm 0,3	1,44 \pm 0,27	1,62 \pm 0,12	1,77 \pm 0,14
МДА	мкмоль/л	3,64 \pm 0,9	3,39 \pm 0,3	3,61 \pm 0,21	3,07 \pm 0,71
Каталаза	кат/л	10,6 \pm 1,7	14,3 \pm 3,7	11,6 \pm 2,2	12,8 \pm 3,1

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических (p < 0,05); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.



При этом гептрал приводит у интактных животных к повышению кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови, о чем свидетельствует повышение значения НСТ-теста спонтанного и стимулированного опсонизированного и неопсонизированного (табл. 1).

Введение интактным животным мексикора не оказывает достоверного влияния на изучаемые показатели иммунной реактивности и функционально-метаболической активности нейтрофилов периферической крови (табл. 1).

Применение сочетания гептрала с мексикором позволило по сравнению с группой животных, получавших только гептрал, повысить значения НСТ-теста стимулированного опсонизированного (табл. 1).

После введения гептрала интактным животным у последних не получено было достоверных различий в функциональной активности гепатоцитов и уровне продуктов ПОЛ в плазме крови (табл. 1).

Тогда как применение мексикора как отдельно, так и в сочетании с культуральной жидкостью аллогенных гепатогептралом у животных повышает активность в плазме крови щелочной фосфатазы (табл. 1).

В условиях ложной операции (без моделирования ИПП) достоверных различий между изучаемыми показателями иммуно-метаболического статуса получено не было (табл. 2).

В условиях моделирования ИПП у экспериментальных животных супрессируется иммунная реактивность: гуморальный иммунный ответ на эритроциты барана (снижение количества иммунных АОК) и гиперчувствительность замедленного типа (снижение РМ и РК) (табл. 2).

Кроме того, у данной группы животных снижается как метаболическая, так и фагоцитарная активность полиморфноядерных лейкоцитов (табл. 2).

Применение гептрала позволило у животных в условиях ИПП нормализовать ФЧ полиморфноядерных лейкоцитов и их кислородзависимую активность, скорректировать, но не до уровня контрольной группы животных, количество АОК и ФИ нейтрофилов периферической крови (табл. 2).

Использование мексикора у животных с ИПП лишь корректирует количество АОК, фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов (табл. 2).

Таблица 2

Иммунный и метаболический статусы при введении гептрала и мексикора животным с ишемическим поражением печени (M±m)

Показатели	Единицы измерения	1	2	3	4	5	6
		Интактные животные	Ложная операция	ИПП	ИПП + гептрал	ИПП + мексикор	ИПП + гептрал + мексикор
АОК	10 ³ /сел.	19,7±1,4	21,6±2,1	8,4±0,93 ^{*1,2}	9,1±1,2 ^{*1,2}	12,6±1,1 ^{*1-4}	13,1±0,9 ^{*1-4}
РМ	мг	3,12±0,07	3,04±0,04	2,01±0,04 ^{*1,2}	4,27±0,04 ^{*1-3}	4,1±0,03 ^{*1-4}	4,31±0,03 ^{*1-3,5}
РК	10 ⁶	1,83±0,08	1,8±0,21	0,92±0,02 ^{*1,2}	2,24±0,03 ^{*1-3}	2,0±0,0 ^{*1-4}	2,36±0,04 ^{*1-3,5}
ФИ	%	71,7±3,6	69,7±4,2	46,8±3,0 ^{*1,2}	56,0±2,0 ^{*1-3}	54,7±2,2 ^{*1-3}	66,8±2,7 ^{*3-5}
ФЧ	абс.	2,54±0,14	2,47±0,14	1,5±0,05 ^{*1,2}	2,36±0,16 ^{*3}	2,21±0,04 ^{*1-3}	2,5±0,2 ^{*3}
НСТ-сп.	mOD	0,79±0,05	0,77±0,03	0,49±0,02 ^{*1,2}	0,58±0,09 ^{*1,2}	0,56±0,04 ^{*1,2}	0,81±0,03 ^{*3-5}
НСТ-ст. н/з	mOD	0,89±0,07	0,87±0,04	0,54±0,04 ^{*1,2}	0,79±0,08 ^{*3}	0,61±0,03 ^{*1-3}	0,9±0,04 ^{*3,5}
НСТ-ст. о/з	mOD	0,93±0,04	0,95±0,03	0,55±0,05 ^{*1,2}	0,96±0,05 ^{*3}	0,67±0,04 ^{*1-4}	1,02±0,04 ^{*3,5}
АСТ	Е/л	41,4±4,2	42,7±4,4	56,8±3,7 ^{*1,2}	49,8±2,1 ^{*1-3}	50,1±2,1 ^{*1-3}	40,2±3,3 ^{*3-5}
АЛТ	Е/л	36,3±3,4	35,6±3,0	49,5±4,0 ^{*1,2}	46,0±4,7 ^{*1,2}	47,4±2,7 ^{*1,2}	35,1±2,0 ^{*3-5}
ГГТ	Е/л	10,7±1,3	11,3±1,4	14,0±0,8 ^{*1,2}	14,0±0,7 ^{*1,2}	13,8±1,2 ^{*1,2}	11,7±1,4 ^{*3-5}
ЩФ	Е/л	295,0±18,4	251,3±33,7	1136,3±95,6 ^{*1,2}	426,8±65,3 ^{*1-3}	500,6±71,7 ^{*1-3}	437,7±30,1 ^{*1-3}
Билирубин	мкмоль/мл	13,1±2,1	12,6±3,4	19,6±2,3 ^{*1,2}	18,3±1,4 ^{*1,2}	14,9±0,9 ^{*3,4}	12,6±1,7 ^{*3,4}
ПТИ	%	51,3±5,3	48,6±4,8	37,8±3,3 ^{*1,2}	42,2±2,9 ^{*1,2}	43,7±1,4 ^{*1-3}	52,6±3,7 ^{*3-5}
ТП	ед. S-H	2,96±0,13	2,8±0,3	3,71±0,08 ^{*1,2}	3,8±0,11 ^{*1,2}	2,91±0,09 ^{*3,4}	2,81±0,07 ^{*3,4}
АГП	усл. ед.	1,71±0,3	1,7±0,21	2,57±0,18 ^{*1,2}	1,67±0,19 ^{*3}	2,01±0,04 ^{*1-4}	1,62±0,07 ^{*3,5}
МДА	мкмоль/л	3,64±0,9	3,71±0,27	8,13±0,9 ^{*1,2}	6,23±0,23 ^{*1-3}	5,91±0,14 ^{*1-3}	6,07±0,81 ^{*1-3}
Каталаза	кат/л	10,6±1,7	12,4±3,0	14,2±1,9 ^{*1}	15,2±1,7 ^{*1,2}	17,2±2,1 ^{*1,2}	16,2±1,1 ^{*1,2}

Сочетанное применение мексикора с гептралом нормализует функционально-метаболическую активность полиморфноядерных лейкоцитов, повышает, но не до уровня нормы количество АОК и гиперчувствительность замедленного типа (табл. 2).



На 5-е сутки после моделирования ИПП в плазме крови экспериментальных животных происходит повышение активности АЛТ, АСТ, ЩФ и ГГТ, возрастает тимоловая проба, концентрация общего билирубина и снижается ПТИ. Эти изменения свидетельствуют о возникновении у отравленных животных синдрома холестаза, цитолиза, снижении синтетической активности гепатоцитов и возникновении иммунного воспаления (табл. 2).

Кроме этого, в данной группе животных возрастает в плазме крови уровень продуктов ПОЛ (МДА и АГП) при повышении активности каталазы (табл. 2).

Использование гептрала у животных с ИПП позволило скорректировать активность в плазме крови АСТ, щелочной фосфатазы, значения ПТИ и уровень МДА, не оказывая влияние на другие измененные показатели метаболического статуса (табл. 2).

Применение мексикора у животных с ИПП нормализует уровень общего билирубина, тимоловую пробу и корректирует активность АСТ, щелочной фосфатазы, значения ПТИ и уровень МДА (табл. 2).

Сочетанное использование у экспериментальных животных с ИПП гептрала и мексикора позволило нормализовать функцию гепатоцитов, за исключением активности щелочной фосфатазы и уровня в плазме крови МДА (табл. 2).

Выводы. Полученные результаты свидетельствуют о выраженных изменениях иммунной реактивности и функциональной активности полиморфноядерных лейкоцитов и гепатоцитов в условиях ишемического поражения печени и возможности использования гептрала и мексикора в коррекции выявленных иммунометаболических нарушений.

Следует отметить, что применение гептрала и мексикора оказывает более выраженное влияние на функцию гепатоцитов, при этом сочетанное их введение оказывает выраженный эффект на все показатели иммунометаболического статуса в условиях ишемического поражения печени.

Литература

1. Антопольская, Е.В. Коррекция ишемии печени при ее резекции в условиях обескровливания : автореф. дис. ... канд. мед. наук // Е.В. Антопольская. – Харьков, 1988 – 21 с.
2. Дудка, В.Т. Функциональная активность гепатоцитов в условиях острого токсического поражения печени и воздействия постоянного магнитного поля / В.Т. Дудка, А.В. Пигарева, А.И. Конопля, Е.С. Романова, В.П. Гаврилюк // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2006. – Т. 5, № 2. – С. 223-224.
3. Кушманова, О.Д., Ивченко Е.М. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. // О.Д. Кушманова. – М. : Медицина, 1983. – С. 98-99.
4. Лазаренко, В.А. Коррекция иммунометаболических нарушений у больных с критической ишемией нижних конечностей атеросклеротического генеза / В.А. Лазаренко, С.Б. Николаев, Н.А. Быстрова, А.И. Конопля // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. – № 2. – С. 77-83.
5. Лакин, Г.Ф. Биометрия / Г.Ф. Лакин. – М. : Высшая школа, 1980. – 243 с.
6. Мальберг, К. Метод локального гемолиза / К Мальберг., Э. Зигль // Иммунологические методы. – М. : Медицина, 1987. – С. 262-267.
7. Новиков, В.В. Растворимые формы мембранных антигенов клеток иммунной системы / В.В. Новиков, А.Ю. Барышников, А.В. Караулов // Иммунология. – 2007. – Т. 28, № 4. – С. 249-254.
8. Онищенко, Н.А. Клеточные технологии и современная медицина / Н.А. Онищенко // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – № 4. – С. 2-11.
9. Подымова, С.Д. Болезни печени (руководство для врачей) // С.Д. Подымова. – М. : Медицина, 1998. – 704 с.
10. Стальная, Н.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Н.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66-68.
11. Федосеева, Т.В. Руководство по иммунологическим методам в гигиенических исследованиях. // Т.В. Федосеева, Л.В. Порядин, Л.В. Ковальчук и др. – М., 1993. – С. 319.
12. Щербаков, В.И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам / В.И. Щербаков // Лаб. дело. – 1989. – № 2. – С. 30-33.

PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF IMMUNOMETABOLIC INFRINGEMENTS BY HEPTRAL AND MEXICOR AT ANIMALS AGAINST ISCHEMIC DEFEAT OF THE LIVER

**S.V. TEREHOVA
N.A. BISTROVA
E.S. LITVINOVA
E.V. GAVRILIOUK**

Kursk State Medical University

e-mail: ganneta@list.ru

At experimental animals in the conditions of ischemic defeat of a liver the expressed changes of immune reactivity, functional activity of neutrophils and hepatocytes are established. Efficiency of heptral and mexicor use as separately and in a combination in correction of infringements of immune reactivity, functional activity of hepatocytes and neutrophils is defined.

Keywords: ischemic lesion of a liver, heptral, mexicor, immune and metabolic status.