

УДК 547.262 : 615.099

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ОСТРОМ ОТРАВЛЕНИИ ЭТИЛОВЫМ СПИРТОМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д.А. Халютин, Т.С. Соловьёва,
В.С. Чирский, В.Л. Рейнюк,
А.Е. Антушевич, А.Н. Гребенюк

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

Представлены результаты исследования морфологических изменений печени при остром отравлении этиловым спиртом и коррекции комбинацией моликсана с семаксом. Этанол в виде 40% раствора вводили внутривенно в дозе 12 г/кг, что соответствовало (1,5 ЛД₅₀). Семакс вводили интраназально в дозе 3 мг/кг, моликсан – внутривенно в дозе 30 мг/кг. Эффективность препаратов оценивали при профилактической (однократно за 1 ч до этанола), лечебно-профилактической (за 1 ч до и сразу после введения этанола), ранней лечебной (сразу после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих суток) и отсроченной лечебной (через 30 мин после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих суток) схемах применения. Забор материала производили через 1 ч, 3 ч, 1 сут и 3 сут после моделирования алкогольной интоксикации. Установлено, что этанол в дозе 1,5 ЛД₅₀ вызывает выраженные изменения печени в виде жировой, белковой, гидропической дистрофии, фокальных некрозов, стромально-клеточных реакций. Показано, что лечебно-профилактическое применение комбинации моликсана с семаксом значительно снижает интенсивность и распространенность дистрофических и некротических процессов, стромально-клеточных реакций в тканях печени.

Ключевые слова: отравление, этанол, моликсан, семакс, печень, морфологическая структура.

Введение. Отравления этанолом и его суррогатами часто встречаются как на территории Российской Федерации, так и в зарубежных странах [1, 2]. В последнее десятилетие в России ежегодно регистрируется от 20 до 45 тыс. смертельных случаев от отравления алкоголем, часто связанных с групповыми и массовыми интоксикациями [3]. Отравления этанолом и его суррогатами получили широкое распространение и на территории зарубежных стран: только за короткий период в 2011–2012 гг. жертвами массовых алкоголь-

ных отравлений стали 470 человек, из них с летальным исходом в Чехии – 27 человек, в Словакии – 17 человек, в Эквадоре – 21 человек [4]. В США от отравления алкоголем ежегодно умирает более 2200 человек [5, 6].

Действие этанола на организм носит системный характер, с поражением, прежде всего центральной нервной системы и жизненно важных паренхиматозных органов, в частности печени. Гепатотоксичность – это свойство химических веществ, действуя на организм немеханическим путем, вызывать структур-

Халютин Денис Александрович (Halyutin Denis Aleksandrovich), адъюнкт при кафедре военной токсикологии и медицинской защиты Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, hal-denis81@yandex.ru;

Соловьёва Татьяна Семёновна (Solovyeva Tatyana Semenovna), кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, soloveva70@list.ru;

Чирский Вадим Семёнович (Czerski Vadim Semenovich), доктор медицинских наук, начальник кафедры патологической анатомии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова МО РФ, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, czerski@mail.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, 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, 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, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, grebnyuk_an@mail.ru

но-функциональные нарушения печени в виде дистрофии (липофанероз) гепатоцитов с исходом в некроз отдельных и групп гепатоцитов со стромально-сосудистой реакцией [7, 8, 9, 10].

Высокая чувствительность печени к этанолу определяется несколькими обстоятельствами. Во-первых, печень – это первый орган, стоящий на пути токсиканта, резорбирувавшегося во внутренние среды организма. Во-вторых, печень – основной орган, ответственный за метаболизм этанола. Поскольку это сопряжено с образованием высокореакционно-способного промежуточного продукта ацетальдегида и инициацией свободно-радикальных процессов, то в ходе метаболизма весьма вероятно повреждение органа.

Фармакологическая коррекция этих нарушений может осуществляться препаратами, обладающими нейро- и гепатотропным эффектами, например моликсаном и семаксом. В проведенных нами ранее исследованиях показано, что применение этих препаратов позволяет увеличить выживаемость крыс, подвергнутых воздействию высоких доз этанола [11]. Однако сведения о влиянии моликсана и семакса на морфологическую структуру печени при острых тяжелых отравлениях этанолом до настоящего времени отсутствуют.

Целью исследования явилось экспериментальное изучение морфологических особенностей гепатопротекторного действия пептидных препаратов моликсана и семакса при остром крайне тяжелом отравлении этиловым спиртом.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования выполнены на 87 белых аутбредных крысах-самцах массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в однополовых 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. Экспериментальные исследования проводили в осенне-зимний период. При проведении исследований выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [12] и в соответствии с Приказом Минздравсоцразвития России от 23.08.2010 г. №708н «Об утверждении правил лабораторной практики».

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

указанную дозу делили поровну на два введения через 15 мин.

Синтетический препарат – моликсан, синтезированный в ЗАО «Фарма ВАР», представлял собой кристаллический порошок светло-желтого цвета. Перед введением моликсан предварительно растворяли в физиологическом растворе при одновременном размешивании. Раствор моликсана готовили непосредственно перед его введением крысам. Препарат вводили в виде 0,3% раствора внутривентрально в дозе 30 мг/кг в объеме 1 мл на 100 г массы тела животного.

Семакс представляет собой оригинальный синтетический пептидный препарат, являющийся аналогом фрагмента адренокортикотропного гормона (АКТГ 4-10: метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин), полностью лишенного гормональной активности. В эксперименте использовали семакс в виде 1% раствора назальных капель производства ЗАО «Инновационный научно-производственный центр «Пептоген» (Россия). Семакс вводили интраназально в дозе 3 мг/кг. Контрольные группы животных в тех же объемах внутривентрально и интраназально получали физиологический раствор.

Препараты применяли, используя 4 схемы введения: профилактическую (однократно за 1 ч до введения этанола), лечебно-профилактическую (за 1 ч до и сразу после введения этанола), раннее лечение (сразу после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих сут) и отсроченное лечение (через 30 мин после введения этанола, а затем один раз в день в течение 2 последующих сут).

Животные были разделены на 3 группы: 1-я – интактные животные, которых не подвергали фармакологическим и токсическим воздействиям (биологический контроль), 2-я – животные, которым вводили этанол и физиологический раствор в объемах, равных вводимым препаратам, 3-я – животные, которым вводили этанол и моликсан с семаксом по одной из 4-х вышеописанных схем введения.

Забор материала для морфологических исследований проводили через 1 ч, 3 ч, 1 сут и 3 сут после введения этанола. После вскрытия печень крыс извлекали и фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, проводили через спирты и заливали в парафин по стандартной методике приготовления гистологических препаратов [13]. Производили серийные срезы печени. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Изготовленные препараты изучали в светооптическом микро-

скопе Leica (Германия) при 200- и 400-кратном увеличении.

Сравнительный анализ полученных результатов проводился по комплексу морфологических признаков:

- морфологическим проявлениям повреждения паренхимы (некротические и некробиотические морфологические признаки, распространенность, форма дистрофии, нарушение балочного строения);

- наличию и характеру стромальных клеточных реакций;

- характеру и степени выраженности компенсаторно-приспособительных процессов.

Результаты и обсуждение. В препаратах интактных животных было отмечено четкое дольковое строение печени с радиальным расположением балок, хорошо выраженными синусоидами. Гепатоциты с эозинофильной цитоплазмой, мноморфными ядрами. Встречалось небольшое число двуядерных гепатоцитов, единичные гепатоциты с крупными полиморфными, гиперхромными ядрами. Портальные тракты тонкие с полнокровными сосудами, немногочисленными гистиоцитами (рис. 1).

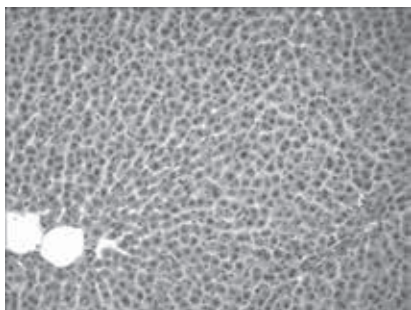


Рис. 1. Печень интактной крысы. (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 200$).

При анализе срезов печени крыс, получавших этанол, показано, что дольки были значительно увеличены, не имели четких границ, синусы расширены, полнокровны, отмечалась дисконкомплексация печеночных балок 3 зоны. Имелось постепенное нарастание распространенности и интенсивности дистрофии гепатоцитов с субтотальным повреждением в виде мелкокапельной жировой, зернистой дистрофии к концу 1 сут и гидропической дистрофии на 3 сут. На этом фоне отмечались участки некробиоза и некроза, единичных гепатоцитов и групп гепатоцитов с лейкоцитарно-макрофагальной инфильтрацией. В участках небольшой протяженности с выраженным повреждением имелись гепатоциты с полиморфизмом и гиперхромией ядер. Клетки Купфера набухшие, их количество увеличено. Портальные

тракты с макрофагально-гистиоцитарной инфильтрацией, интенсивность инфильтрации варьировала.

Такая картина соответствовала острому токсическому гепатиту. Наиболее выраженные изменения наблюдались на 1 сут и 3 сут после введения этанола (рис. 2).

При оценке тканей печени при профилактической схеме введения комбинации моликсана с семаксом морфологические изменения варьировали в зависимости от сроков, прошедших после введения этанола. Через 1 ч и 3 ч после введения этанола паренхима не имела существенных отличий от интактной группы, повреждения гепатоцитов и стромально-клеточных реакций не отмечались (рис. 3 А, 3 Б). К концу 1 сут имелась мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов с тенденцией к формированию более крупных липидных включений, при этом клеточная инфильтрация портальных трактов и в синусоидах была слабо выражена и непостоянна (рис. 3 В). На 3 сут отмечалось снижение интенсивности жировой дистрофии, а так же снижение степени повреждения паренхимы (рис. 3 Г).

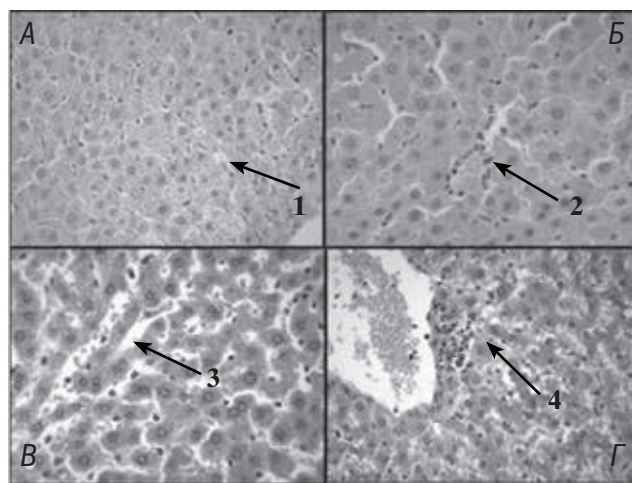


Рис. 2. Печень крысы после введения этанола в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$).

А – через 1 ч после введения этанола, Б – через 3 ч после введения этанола, В – через 1 сут после введения этанола, Г – через 3 сут после введения этанола.

1 – Дисконкомплексация печеночных балок, набухшие клетки Купфера, субтотальная гидропическая дистрофия гепатоцитов.

2 – Дисконкомплексация печеночных балок, фокальные некрозы гепатоцитов с гистиоцитарной инфильтрацией.

3 – Диффузная мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.

4 – Очаговый некроз гепатоцитов с лимфомакрофагальной инфильтрацией, гидропическая и мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.

При лечебно-профилактической схеме введения изучаемых пептидных препаратов отмечалось выраженное снижение интенсивности и распространенности жировой и зернистой дистрофии, редкая гидропическая дистрофия. Наблюдалось снижение интенсивности и распространенности некробиотических и некротических изменений. Была выражена тенденция к восстановлению расположения балок, уменьшению числа Купферовских клеток и гепатоцитов с гиперхромными ядрами. Макрофагально-гистиоцитарная инфильтрация портальных трактов также была умеренно выражена (рис. 4).

При лечебной схеме введения комбинации моликсана с семаксом наблюдалось снижение распространенности повреждения тканей печени. При этом сохранялась интенсивность форм дистрофии на разных сроках после введения этанола, однако существенно была снижена интенсивность и распространенность клеточной инфильтрации в строме и паренхиме по сравнению с группой нелеченых животных (рис. 5).

При введении пептидных препаратов через 30 мин после этанола в ранние сроки изменения имели сходство с группой животных, получавших только этанол (без лечения). Однако уже через 3 ч после введения этанола,

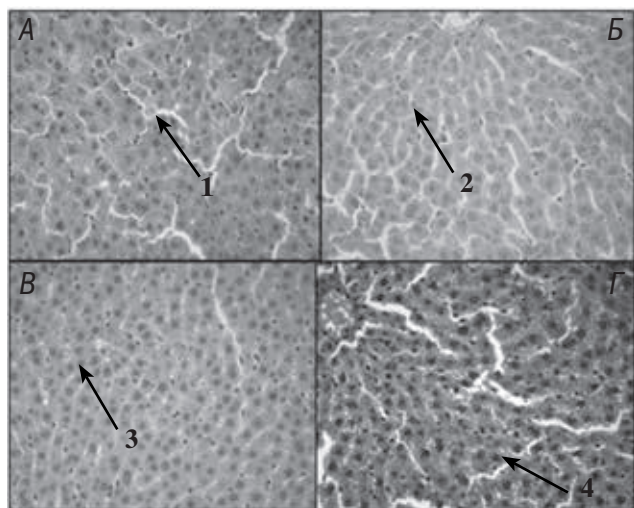


Рис. 3. Печень крысы при профилактическом введении комбинации моликсана с семаксом после введения этанола в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$).

А – через 1 ч после введения этанола, Б – через 3 ч после введения этанола, В – через 1 сут после введения этанола, Г – через 3 сут после введения этанола.

- 1 – Дискомплексация печеночных балок.
- 2 – Дискомплексация печеночных балок.
- 3 – Диффузная мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.
- 4 – Очаговая жировая дистрофия гепатоцитов.

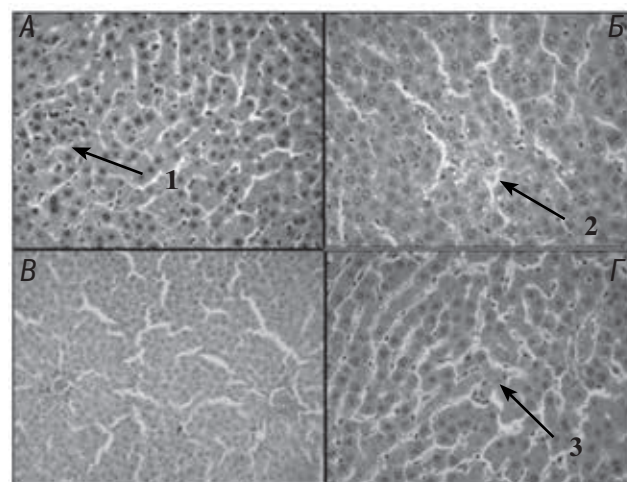


Рис. 4. Печень крысы при лечебно-профилактическом введении комбинации моликсана с семаксом после введения этанола в дозе $1,5 \text{ ЛД}_{50}$ (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$).

А – через 1 ч после введения этанола, Б – через 3 ч после введения этанола, В – через 1 сут после введения этанола, Г – через 3 сут после введения этанола.

- 1 – Слабовыраженное полнокровие синусоидов.
- 2 – Слабовыраженная зернистая и гидропическая дистрофия гепатоцитов.
- 3 – Слабовыраженная зернистая дистрофия, двуядерные гепатоциты.

снижение процессов повреждения коррелировало с восстановлением балочного строения, снижением клеточной инфильтрации в строме и паренхиме. При этом сохранялась распространенность и интенсивность жировой дистрофии гепатоцитов (рис. 6).

Так, например, в тканях печени через 1 ч после введения этанола дольки были с нечеткими границами, утрачено радиальное расположение балок, синусоиды резко расширены, полнокровны, с неравномерно выраженной очаговой инфильтрацией гранулоцитами и лимфоцитами, увеличенным числом и объемом клеток Купфера, очаговым некрозом гепатоцитов с макрофагальной инфильтрацией и распространенной зернистой дистрофией, в портальных трактах неравномерно выраженная умеренная лимфогистиоцитарная и гранулоцитарная инфильтрация (рис. 6 А). Через 3 ч после введения этанола у крыс, получавших моликсан и семакс, была выражена тенденция к восстановлению радиального расположения балок, инфильтрация синусоидов гранулоцитами и лимфоцитами нерегулярна и слабо выражена, отмечалось снижение интенсивности и распространенности зернистой дистрофии, очаговая мелкокапельная жировая дистрофия 3 зоны немногочисленных долек (рис. 6 Б). На 1 сут и 3 сут после начала интоксикации структура балочного строения

печени была сохранена, наблюдалось увеличение размера жировой дистрофии от мелко и среднекапельной до, преимущественно, крупнокапельной (рис. 6 В, 6 Г).

Проведенное морфологическое исследование показало вариабельность течения патологического процесса в зависимости от сроков, прошедших после введения этанола, и схем введения пептидных препаратов. Было установлено, что действие этанола на печень соответствует острому токсическому гепатиту. Сочетанное применение моликсана с семаксом производило позитивный эффект на морфологическую структуру тканей печени. Наиболее выраженный эффект наблюдался при лечебно-профилактическом введении препаратов, что проявлялось снижением интенсивности и распространенности процессов повреждения и нарастания компенсаторно-приспособительных проявлений в паренхиме печени.

Выявленные морфологические особенности действия изученных препаратов могут быть обусловлены их химической структурой и механизмом фармакологического действия. Так, например, моликсан представляет собой Na_2GSSG -инозин и является органической солью дисульфида глутатиона и инозина, содержащей в своей структуре пептидную и нуклеозидную компоненты [14]. Учитывая, что моликсан состоит из двух компонентов,

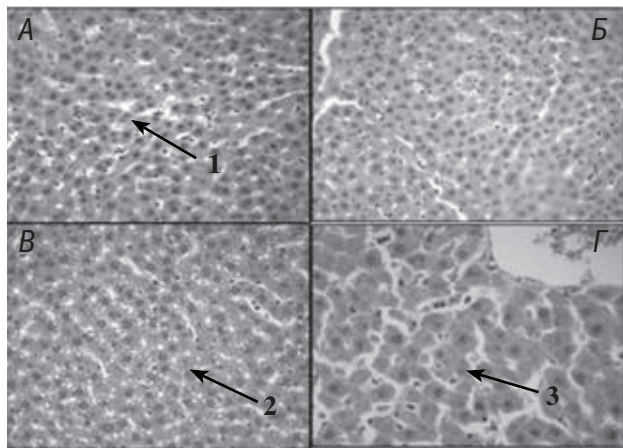


Рис. 5. Печень крысы при лечебном введении комбинации моликсана с семаксом после введения этанола в дозе $1,5 \text{ LD}_{50}$ (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$).

А – через 1 ч после введения этанола, Б – через 3 ч после введения этанола, В – через 1 сут после введения этанола, Г – через 3 сут после введения этанола.

1 – Клеточная инфильтрация синусоидов. Очаговая мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.
2 – Диффузная мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.

3 – Диффузно-очаговая мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов.

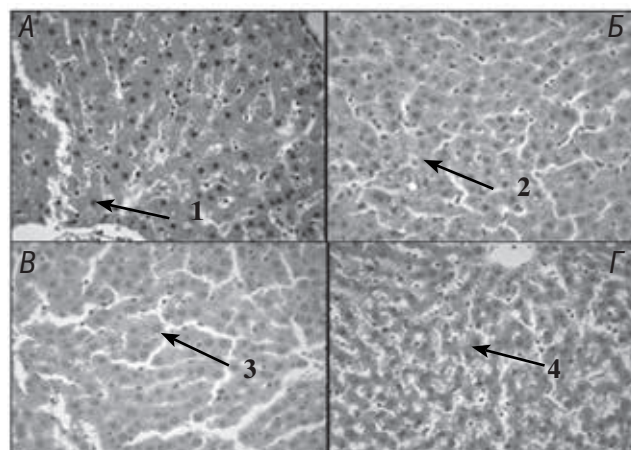


Рис. 6. Печень крысы при введении комбинации моликсана с семаксом через 30 мин после введения этанола в дозе $1,5 \text{ LD}_{50}$ (окраска гематоксилином и эозином, увеличение $\times 400$).

А – через 1 ч после введения этанола, Б – через 3 ч после введения этанола, В – через 1 сут после введения этанола, Г – через 3 сут после введения этанола.

1 – Полнокровие синусоидов, лимфогистиоцитарная инфильтрация портальных трактов, очаговый некроз гепатоцитов с гистиоцитарной инфильтрацией.

2 – Дискомлексаия балок, очаговая мелко и среднекапельная жировая дистрофия, клеточная инфильтрация синусоидов и набухшие клетки Купфера.

3 – Диффузно-очаговая мелко и среднекапельная жировая дистрофия.

4 – Зернистая и гидропическая дистрофия гепатоцитов с немногочисленными мелкими жировыми каплями.

правомерно будет считать, что механизм действия препарата будет определяться этими компонентами.

С одной стороны, защитное действие моликсана в отношении тканей печени может определяться эффектами окисленного глутатиона. Показано, что этот препарат может оказывать селективное воздействие на сульфгидрильные группы поверхностно-клеточных рецепторов, приводить к восстановлению их чувствительности к регуляторным и транспортным молекулам пептидной природы, что определяет иммуномодулирующий, гемостимулирующий и другие цитотропные эффекты препарата [15]. Кроме того, моликсан может способствовать реализации действия регуляторных молекул пептидной природы на нормальные и трансформированные клетки.

Пептидная составляющая моликсана при попадании в организм, по-видимому, подобно выделяемому клетками во внеклеточное пространство окисленному глутатиону, не поступает в клетки [16]. В этой связи фармакотерапевтическое действие препарата моликсан, как и препарата глутоксим, может быть направле-

но на молекулярные процессы, регулируемые в организме окисленным глутатионом вне клеток [17]. Окисленный глутатион действует на клетки посредством рецепторов, регулируя функциональную и метаболическую активность клеток. Опосредованные эффекты окисленного глутатиона обусловлены специфическими лиганд-рецепторными взаимодействиями, для которых важны функционально активные конформации рецептора и/или биорегулятора, зависящие от дисульфидных связей в структуре молекулы [18, 19, 20, 21].

Моликсан участвует в активации одного из ключевых ферментов детоксикации - гемоксигеназы 1, которая наряду с глутатионредуктазой, глутатионтрансферазой и хинооксидазой определяет ингибирование процессов окислительного стресса [22]. Такого рода изменения могут уменьшить выраженность реакций перекисного окисления липидов и тем самым обеспечить транспорт во внеклеточное пространство окисленного глутатиона и восстановление баланса GSH/GSSG, то есть нормализовать окислительно-восстановительный потенциал клетки.

Защитный эффект семакса также может быть обусловлен его структурными особенностями и механизмом фармакологического действия. За последние десятилетия спектр применения семакса значительно расширился: от терапии нарушений мозгового кровообращения и черепно-мозговых травм до педиатрии и дерматологии [23, 24, 25]. Подробно описан и механизм действия этого препарата. Так, например, на культурах клеток было установлено, что семакс предотвращает

гибель холинергических нейронов, стимулирует активность холинацетилтрансферазы и ацетилхолинэстеразы, увеличивает уровень нейротрофического фактора мозга (BDNF) и фактора роста нервов [26]. При отравлении этанолом нельзя исключать пробуждающие эффекты семакса, связанные с воздействием на холинергическую систему [27].

Результаты проведенных нами исследований и анализ данных литературы позволяют считать, что комбинированное применение моликсана и семакса может оказывать защитное действие на морфологическую структуру печени за счет ингибирования цитолиза гепатоцитов, разрешения воспалительного процесса при поражениях клеток печени этиловым спиртом. Кроме того, не исключено опосредованное влияние этих пептидных препаратов на метаболизм, процессы пролиферации, дифференцировки и апоптоза клеток печени, что также может способствовать восстановлению нормальной структуры печеночной ткани.

Выводы:

- Воздействие этанола в дозе 1,5 ЛД₅₀ через 1-3 сут после моделирования интоксикации вызывало повреждение ткани печени в виде жировой, белковой, гидрической дистрофии, фокальных некрозов гепатоцитов, усиление стромально-клеточных реакций с нарушением балочного строения.
- Комбинированное лечебно-профилактическое применение моликсана с семаксом в эти же сроки позволяло снизить интенсивность и распространенность дистрофических и некротических процессов, клеточных реакций со стороны тканей печени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zaridze D., Brennan P., Boreham J. et al. Alcohol and cause-specific mortality in Russia: a retrospective case – control study of 48 557 adult deaths. *Lancet*. 2009; 373, № 9682: 2201-2214.
2. Лужников Е. А., Суходолова Г. Н. Клиническая токсикология. М.: Мед. информ. агентство, 2008.
3. Курсов С. В., Михневич К. Г., Кривобок В. И. Острое отравление этанолом. Медицина неотложных состояний. 2012; 7-8: 22-35.
4. Гасанов И. И., Хабибулина Ж. Ю., Бульчева О. С. и др. Анализ роли суррогатных алкогольных напитков в формировании феномена высокой алкогольной смертности в мире. Успехи современ. естествознания. 2013; 9: 92-93.
5. McCarthy M. Six people in US die each day from alcohol poisoning. CDC reports. 2015; 8: 350.
6. Kanny D., Brewer R.D., Mesnick J.B. et al. Vital signs: alcohol poisoning deaths – United States, 2010-2012. *Morb. Mortal Weekly Rep.* 2015; 53: 1238-1242.
7. Darke S., Dufflou J., Torok M. et al. Toxicology circumstances and pathology of deaths from acute alcohol toxicity. *J. Forensic Leg. Med.* 2013; 8: 1122-1125.
8. Stickel F., Seitz H.K. Alcoholic steatohepatitis. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2010; 5: 683-693.
9. Teplova V.V., Belosludtsev K.N., Belosludtseva N.V. et al. Mitochondria and hepatotoxicity of ethanol. *Biofizika*. 2010; 6: 1038-1047.
10. Куценко С. А. Основы токсикологии: Науч.-метод. издание. – СПб.: Фолиант. – 2004.
11. Гребенюк, А.Н., Рейнюк В. Л., Антушевич А. Е. и др. Эффективность гепатопротектора с пептидным компонентом моликсана при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом. Токсикологический вестник. 2014; 4: 12-19.
12. Хельсинская декларация. Всемирная медицинская ассоциация. М.; 2001.
13. Меркулов Г. А. Курс патогистологической техники. М.: Медицина; 1969.
14. Моликсан. Инструкция по медицинскому применению // Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. М.: Медика Рус. 2013.
15. Курилова Л. С., Крутецкая А. А., Наумова А. А. и др. Влияние ингибиторов циклооксигеназы и липоксигеназы на Ca²⁺-ответы, вызываемые глутоксином и моликсаном, в макрофагах. *Цитология*. 2014; 5: 353-360.
16. Paolicchi A., Dominici S., Pieri L. et al. Glutathione catabolism as a signaling mechanism. *Biochem. Pharmacol.* 2002; 64: 1027-1035.
17. Антушевич А. А., Антонов В. Г., Гребенюк А. Н. и др. Патофизиологические основы эффективности глутоксима как средства сопровождения лучевой терапии рака ротоглотки. *Вестн. Рос. Воен.-мед. акад.* 2013; 3: 32-37.
18. Cumming R.S., Andon N.L., Haynes P.A. et al. Protein disulfide bond formation in the cytoplasm during oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 21749-21758.
19. Forman H.J., Torres M., Fukuto J. et al. Redox signaling. *Mol. Cell. Biochem.* 2002; 234: 49-62.
20. Jordan P.A., Gibbins J.M. et al. Extracellular Disulfide Exchange and the Regulation of Cellular Function. *Antioxid. Redox. Signal.* 2006; Vol. 8: 312-324.
21. Tew K.D. Redox in redux: Emergent roles for glutathione S-transferase P (GSTP) in regulation of cell signaling and S-glutathionylation. *Biochem. Pharmacol.* 2007; 73: 1257-1269.
22. Otterbein L.E., Choi A.M.K. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2000; 279: 1029-1037.
23. Шевченко К. В., Нагаев И. Ю., Алфеева Л. Ю. и др. Кинетика проникновения семакса в мозг и кровь крыс при интраназальном введении. *Биоорганическая химия*. 2006; 1: 64-70.
24. Применение пептидного нейропротектора «Семакс 1%» в первые часы и дни острого церебрального инсульта. Метод. рек. для практического здравоохранения. М., 2011.
25. Шабанов П. Д. Фармакология лекарственных препаратов пептидной структуры. *Психофармакол. биол. наркол.* 2008; 3-4: 2399-2425.
26. Романова Г. А., Силачев Д. Н., Шакова Ф. М. и др. Нейропротективное и антиамнестическое действие семакса при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга. *Бюл. эксперим. биол. и мед.* 2006; 12: 618-621.
27. Скворцова В. И. Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и нейропротекция. *Вест. РАН.* 2003; 11: 74-81.

REFERENCES:

1. Zaridze D., Brennan P., Boreham J. et al. Alcohol and cause-specific mortality in Russia: a retrospective case – control study of 48 557 adult deaths. *Lancet*. 2009; 373, № 9682: 2201-2214 (in Russian).
2. Luzhnikov E.A., Suhodolova G.N. *Klinicheskaja toksikologija*. M.: Med. inform. aginstvo, 2008 (in Russian).
3. Kursov S.V., Mihnevich K.G., Krivobok V.I. et al. Ostroe otravlenie jetanolom. *Medicina neotlozhnyh sostojanija*. 2012; 7-8: 22-35 (in Russian).
4. Gasanov I.I., Habibulina Zh.Ju., Bulycheva O.S. et al. Analiz roli surrogatnyh alkohol'nyh napitkov v formirovanii fenomena vysokoj alkohol'noj smertnosti v mire. *Uspehi sovrem. estestvoznanija*. 2013; 9: 92-93 (in Russian).
5. McCarthy M. Six people in US die each day from alcohol poisoning, CDC reports. 2015; 8: 3
6. Kanny D., Brewer R.D., Mesnick J.B. et al. Vital signs: alcohol poisoning deaths – United States, 2010-20Morb. *Mortal Weekly Rep*. 2015; 53: 1238-1242.
7. Darke S., Dufiou J., Torok M. et al. Toxicology circumstances and pathology of deaths from acute alcohol toxicity. *J. Forensic Leg. Med.* 2013; 8: 1122-1125.
8. Stickel F., Seitz H.K. Alcohollic steatohepatitis. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2010; 5:683-693.
9. Teplova V.V., Belosludtsev K.N., Belosludtseva N.V. et al. Mitochondria and hepatotoxicity of ethanol. *Biofizika*. 2010; 6: 1038-1047.
10. Kucenko S.A. *Osnovy toksikologii: Nauch.-metod. izdanie*. – SPb.: Foliant. – 2004 (in Russian).
11. Grebenyuk, A.N., Rejnjuk V.L., Antushevich A.E. et al. Jefferktivnost' gepatoprotektora s peptidnym komponentom moliksana pri ostroj krajne tjazheloj intoksikacii jetanolom *Toksikologicheskij vestnik*. 2014; 4: 12-19 (in Russian).
12. Hel'sinskaja deklaracija. *Vsemirnaja medicinskaja asociacija*. M.; 2001 (in Russian).
13. Merkulov G.A. *Kurs patogistologicheskij tehniki*. M.: Medicina; 1969 (in Russian).
14. Moliksan. *Instrukcija po medicinskomu primeneniju // Spravochnik Vidal'* *Lekarstvennye preparaty v Rossii*. M.: Medika Rus. 2013 (in Russian).
15. Kurilova L.S., Kruteckaja A.A., Naumova A.A. et al. Vlijanie ingibitorov ciklooksigenaz i lipoksigenaz na Sa2+-otvety, vyzyvaemye glutoksimom i moliksanom, v makrofagah. *Citologija*. 2014; 5:353-360 (in Russian).
16. Paolicchi A., Dominici S., Pieri L. et al. Glutathione catabolism as a signaling mechanism. *Biochem. Pharmacol.* 2002; 64: 1027-1035.
17. Antushevich A.A., Antonov V.G., Grebenyuk A.N. et al. Patofiziologicheskie osnovy jefferktivnosti glutoksima kak sredstva soprovozhdenija luchevoj terapii raka rotoglotki. *Vestn. Ros. Voen-med. akad.* 2013; 3: 32-37 (in Russian).
18. Cumming R.S., Andon N.L., Haynes P.A. et al. Protein disulfide bond formation in the cytoplasm during oxidative stress. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 21749-21758.
19. Forman H.J., Torres M., Fukuto J. et al. Redox signaling. *Mol. Cell. Biochem.* 2002; 234: 49-62.
20. Jordan P.A., Gibbins J.M. Extracellular Disulfide Exchange and the Regulation of Cellular Function. *Antioxid. Redox. Signal.* 2006; Vol. 8: 312-324.
21. Tew K.D. Redox in redux: Emergent roles for glutathione S-transferase P (GSTP) in regulation of cell signaling and S-glutathionylation. *Biochem. Pharmacol.* 2007; 73: 1257-1269.
22. Otterbein L.E., Choi A.M.K. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress. *Am. J. Physiol. Lung. Cell Mol. Physiol.* 2000; 279: 1029-1037.
23. Shevchenko K.V., Nagaev I.Ju., Alfeeva L.Ju. et al. Kinetika proniknovenija semaksa v mozg i krov' kryss pri intranazal'nom vvedenii. *Bioorgan. himija*. 2006; 1: 64-70 (in Russian).
24. Primenenie peptidnogo nejroprotektora «Semaks 1%» v pervye chasy i dni ostrogo cerebral'nogo insulta. *Metod. rek. dlja prakticheskogo zdravoochranenija*. M., 2011 (in Russian).
25. Shabanov P.D. *Farmakologija lekarstvennyh preparatov peptidnoj struktury. Psihofarmakol. biol. narkol.* 2008; 3-4: 2399-2425 (in Russian).
26. Romanova G.A., Silachev D.N., Shakova F.M. et al. Nejroprotektivnoe i antiamesticheskoe dejstvie semaksa pri jeksperimental'nom ishemicheskom infarkte kory golovnog mozga. *Bjul. jeksperim. biol. i med.* 2006; 12: 618-621 (in Russian).
27. Skvorcova V.I. *Mehanizmy povrezhdajushhego dejstviya cerebral'noj ishemii i nejroprotekcija* *Vest. RAN*. 2003; 11: 74-81 (in Russian).

D.A. Halyutin, T.S. Solovyeva, V.S. Czerski, V.L. Reiniuk, A.E. Antushevich, A.N. Grebenyuk

MORPHOLOGICAL PECULIARITIES OF THE ACTION OF PEPTIDE DRUGS AT ACUTE POISONING WITH ETHYL ALCOHOL IN EXPERIMENT

Federal State Budgetary Military Educational Establishment of Higher Professional Education «S.M. Kirov Military Medical Academy», RF Ministry of Defense, 194044, Saint Petersburg, Russian Federation

Results of an investigation into liver morphological changes at acute poisoning with ethyl alcohol and their correction with molixan and semax combination are presented. Ethanol was administrated intragastrically as a 40% solution in a dose of 12 g/kg that corresponds to 1.5 LD₅₀. Semax was administrated intranasally in a dose of 3 mg/kg and molixan intraabdominally in a dose of 30 mg/kg. The preparations efficacy was evaluated using the following application schemes: prophylactic (single dose an hour prior to ethanol), therapeutic and prophylactic (an hour before and just after administration of ethanol), early therapeutic (just after administration of ethanol and then once daily during two next days) and delayed therapeutic (30 min after administration of ethanol and then once daily during two next days). The sampling of the material under investigation was performed 1 hour, 3 hours, 1 day and 3 days after modelling of the alcohol intoxication. It was found out that ethanol in a dose of 1.5 LD₅₀ induces changes in liver in the form of fatty, albuminous, hydropic degeneration, focal necrosis, stromal cell reactions. It was shown that the therapeutic and prophylactic application of the molixan and semax combination significantly reduces the intensity and prevalence of dystrophic and necrotic processes and stromal cell reactions in liver.

Keywords: poisoning, ethanol, molixan, semax, liver, morphological structure.

Материал поступил в редакцию 21.07.2015 г.