

УДК 616.89

**СОПОСТАВЛЕНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ И ЭРГОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ
ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ МЕТАПРОТА, ТРЕКРЕЗАНА И ПОЛИОКСИДОНИЯ И ИХ
КОМБИНАЦИЙ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ БРОНХОЛЕГОЧНОМ ВОСПАЛЕНИИ У КРЫС**

Е.В.Мокренко**, И.В.Зарубина*, А.В.Болехан*, П.Д.Шабанов*******

**COMPARISON OF ANTI-INFLAMMATORY AND ERGOTROPIC ACTIVITY OF SUCH IMMUNE
MODULATORS AS METAPROT, TREKREZAN, POLYOXIDONIUM AND THEIR COMBINATIONS
IN BRONCHOPULMONARY INFLAMMATION IN RATS**

E.V.Mokrenko**, I.V.Zarubina*, A.V.Bolekhan*, P.D.Shabanov*******

**Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова, Санкт-Петербург*

***Иркутский государственный медицинский университет*

**** Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург*

*****Институт медицинского образования НовГУ, pdshabanov@mail.ru*

В работе сравнивали противовоспалительное и энергостабилизирующее (эрготропное) действие антигипоксантов с иммуномодулирующими свойствами метапрота (25 мг/кг), трекрезана (25 мг/кг) и полиоксидония (0,75 мг/кг) при моделировании бронхолегочного воспаления у крыс. При экспериментальной бронхопневмонии, вызванной введением скипидара в бронхи животных, все три препарата при курсовом применении выявили энергостабилизирующий эффект, что проявлялось снижением

уровня лактата, продуктов гидролиза АТФ–АДФ и АМФ, а также увеличением содержания пирувата и АТФ в лимфоцитах крови и ткани легких крыс. Энергостабилизирующее действие полиоксидония было более выражено в тканях легких, по направленности эффектов сопоставимо с действием трекрезана, по силе уступало ему. При монотерапии экспериментальной бронхопневмонии препараты располагаются по возрастанию их энергостабилизирующего действия в следующем порядке: полиоксидоний < трекрезан < метапрот < метапрот + полиоксидоний = метапрот + трекрезан. Метапрот, в отличие от трекрезана, полиоксидония и их комбинации с метапротом, усиливал флуоресценцию флавопротеидов и снижал флуоресценцию восстановленных пиридиннуклеотидов в альвеолярных макрофагах и лимфоцитах крови крыс, что свидетельствует об усилении интенсивности тканевого дыхания клеток.

Ключевые слова: антигипоксанты, иммуномодуляторы, метапрот, трекрезан, полиоксидоний, экспериментальная пневмония, энергетический обмен, легкие, лимфоциты

In this paper, the anti-inflammatory and energy-stabilizing (ergotropic) actions of antihypoxants with immune modulating properties of metaprot (25 mg/kg), trekrezan (25 mg/kg) and polyoxidonium (0.75 mg/kg) were compared in rats with bronchopulmonary inflammation. In bronchopulmonary inflammation due to administration of turpentine into the trachea of rats, all three drugs after course administration (5 days) possessed energy-stabilizing effect which is manifested in the decrease of lactate and hydrolysis products of ATP-ADP and AMP as well as the increase of pyruvate and ATP in both blood lymphocytes and the lung tissue. The energy-stabilizing action of polyoxidonium was more expressed in the lung tissue; the action was the same as after trekrezan administration in direction but was less powerful. Monotherapy of experimental bronchopulmonary inflammation revealed the following regularity in energy-stabilizing (ergotropic) action of drugs: polyoxidonium < trekrezan < metaprot < metaprot + polyoxidonium = metaprot + trekrezan (in order of increasing effect). Unlike trekrezan, polyoxidonium and their combinations, metaprot strengthened the fluorescence of flavoproteids and decreased the fluorescence of recovered pyridine dinucleotides in alveolar macrophages and blood lymphocytes that shows the increase in cell respiration intensity.

Keywords: antihypoxants, immunomodulators, metaprot, trekrezan, polyoxidonium, experimental pneumonia, energy metabolism, lungs, lymphocytes

Эффективность лечения острых бронхолегочных заболеваний, в частности пневмоний, определяется не только назначением средств антибактериальной терапии, но во многом и наличием вторичных иммунодефицитных состояний, как правило, их сопровождающих [1]. Следует отметить, что традиционные средства антибактериальной терапии, особенно антибиотики, становятся все менее эффективными в отношении широкого спектра возбудителей пневмоний, что приводит к увеличению частоты затяжного характера течения заболевания и его хронизации [2]. Попытки выделить какой-то один ведущий механизм развития острой пневмонии не увенчались успехом [3-6]. Однако наиболее специфические различия, обусловленные этиологическим фактором, на клеточном уровне теряют свою специфику вследствие общности механизмов клеточных повреждений. Такими универсальными процессами при острых бронхолегочных заболеваниях являются, прежде всего, нарушение кислородного режима (развитие хронической гипоксии) и изменение иммунного ответа. Это послужило основанием исследования новых антигипоксантов и иммуностропных препаратов метапрота, трекрезана и полиоксидония, обладающих антигипоксантами, энергостабилизирующими (эрготропными) и иммунокорректирующими свойствами [7-11], а также их комбинаций при моделировании бронхолегочного воспаления у крыс.

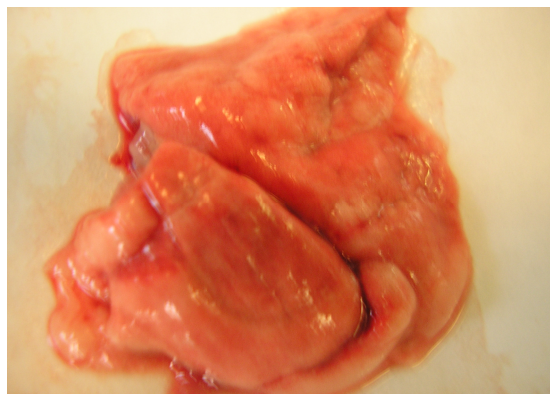
Методика

Эксперименты выполнены на 119 крысах самцах Вистар массой 200-250 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская область). Животных содержали в виварии в стандартных условиях освещения и питания. Исследования осуществляли в соответствии с «Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ» [12].

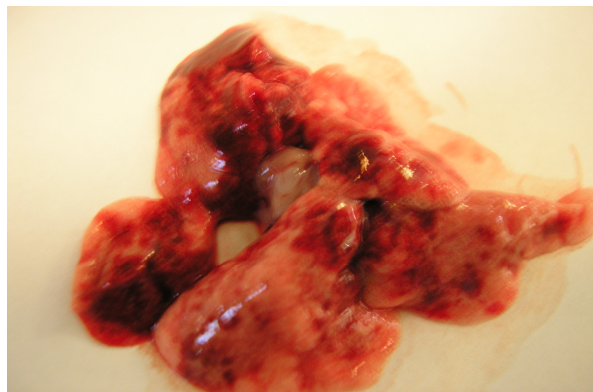
В первой серии опытов изучали изменение энергетического обмена в лимфоцитах и ткани легких при остром бронхолегочном воспалении у крыс. Во второй серии опытов исследовали влияние метапрота, трекрезана и полиоксидония на показатели энергетического обмена в лимфоцитах и ткани легких при остром бронхолегочном воспалении у крыс.

Острое бронхолегочное воспаление (бронхопневмония) моделировали следующим образом: под эфирным наркозом хирургическим путем обнажали трахею и уколom между двумя хрящевыми полукольцами иглой диаметром 0,8 мм в ее просвет вводили 0,1 мл живичного скипидара. Разрез на шее ушивали. Непосредственно сразу после операции и далее на протяжении 5 дней животным опытной группы внутрибрюшинно вводили раствор одного из исследуемых препаратов: метапрота (25 мг/кг), трекрезана (25 мг/кг) или полиоксидония (0,75 мг/кг) либо их комбинации, используя те же дозы. Выбор доз определялся на основании проведенных ранее исследований и доказательств действия препаратов именно в этих дозах как иммуномодуляторов. На пятые сутки эксперимента животных декапитировали.

Легкие хранили в жидком азоте несколько суток до окончания каждой серии экспериментов, после чего ткань измельчали в фарфоровой ступке, гомогенизировали и в них и выделенных из крови лимфоцитах определяли биохимические показатели, характеризующие энергетический обмен. Содержание молочной и пировиноградной кислот определяли в 10% гомогенате ткани мозга, приготовленном на 6 N хлорной кислоте, энзиматическим методом [13]. Принцип определения лактата основан на дегидрировании молочной кислоты в присутствии лактатдегидрогеназы и НАД: Лактат + НАД → ПВК + НАДН₂. Принцип метода определения пирувата заключается в восстановлении пирувата в лактат в присутствии лак-



а



б

Рис.1. Внешний вид интактного легкого (а) и легкого крысы при остром бронхолегочном воспалении (б)

татдегидрогеназы и НАДН: ПВК + НАДН → лактат + НАД. Изменение оптической плотности при определении лактата и пирувата регистрировали спектрофотометрически при длине волны 340 нм. Свободные адениннуклеотиды определяли с помощью восходящей тонкослойной хроматографии на пластинах «силуфол» и последующим сканированием на спектрофлуориметре MPF-4 «Hitachi» [14]. Показатели всех компонентов адениловой системы позволяют судить о направленности обменных процессов в ткани. Информативным является соотношение их молярных концентраций. Такой интегративной величиной, объединяющей три компонента адениловой системы в единую формулу, служит энергетический заряд [15]. Величину энергетического заряда адениловой системы рассчитывали по формуле: $АТФ+0,5АДФ/АТФ+АДФ+АМФ$.

Выборка для каждой группы животных составила не менее 10 крыс. Математическую с использованием стандартного пакета программ STATISTICA for Windows методами вариационной статистики (t -критерий Стьюдента) при $p < 0,05$.

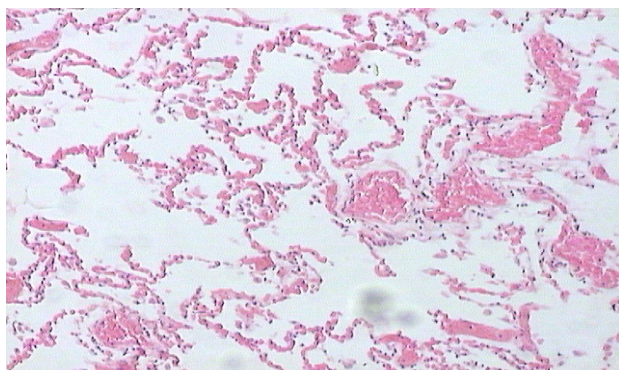
Результаты исследования и их обсуждение

Патоморфологические и метаболические изменения при экспериментальном бронхолегочном воспалении у крыс. У животных, получавших интратрахеально скипидар для моделирования острого бронхолегочного воспаления, при морфологическом исследовании макроскопически наблюдалось воспали-

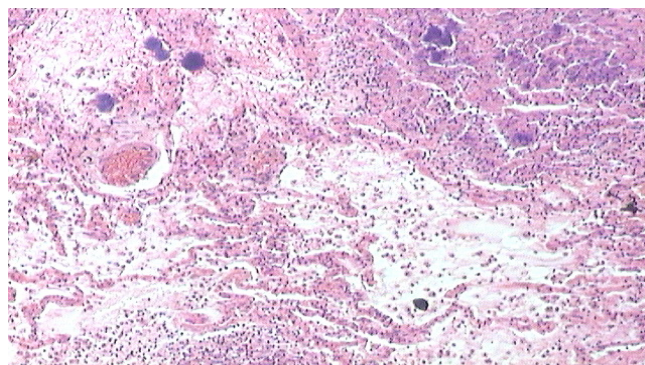
тельное поражение легких с типичной инфильтрацией и точечными кровоизлияниями в ткань (рис.1). В большинстве случаев патологический процесс локализовался в нижней доле правого легкого. Существенных различий между особями по распространенности патологического процесса и характеру патоморфологических нарушений не наблюдали, что свидетельствовало о воспроизводимости и адекватности выбранной модели.

Микроскопически в легких интактных крыс межальвеолярные перегородки были обычного вида, кровеносные сосуды умеренно полнокровны, альвеолы наполнены воздухом. Введение крысам скипидара вызывало утолщение межальвеолярных перегородок. Кровеносные сосуды перегородок были расширены и полнокровны. Просветы альвеол заполнялись эозинофильной жидкостью с нейтрофильными лейкоцитами, встречались нити фибрина. В легком отмечали наличие экссудата смешанного характера: серозного, фибринозного, фибринозно-гнойного и гнойного (рис.2). В незначительной части опытов наблюдали некроз легочной ткани. В прилежащих к некрозу альвеолах содержался преимущественно серозно-фибринозный экссудат.

Метаболические изменения при экспериментальном остром бронхолегочном воспалении у крыс проявлялись увеличением в лимфоцитах крови и ткани легких содержания лактата, АДФ и АМФ на фоне снижения содержания пирувата и АТФ. При этом более выраженные изменения наблюдали в ткани лег-



а



б

Рис.2. Структура легкого интактного животного (а) и крысы при остром бронхолегочном воспалении (б). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ×100

ких. Изменения в адениннуклеотидном пуле при остром бронхолегочном воспалении приводили к снижению величины энергетического заряда адениннуклеотидов, что свидетельствовало о развитии энергодифицита в лимфоцитах крови и ткани легких крыс.

Влияние метапрота, полиоксидония, трекрезана и их комбинаций на выживаемость крыс и структурные изменения в легких при остром бронхолегочном воспалении. Введение в течение пяти дней крысам с острым бронхолегочным воспалением метапрота, полиоксидония, трекрезана и их комбинаций увеличивало выживаемость животных с бронхолегочным воспалением (рис.3).

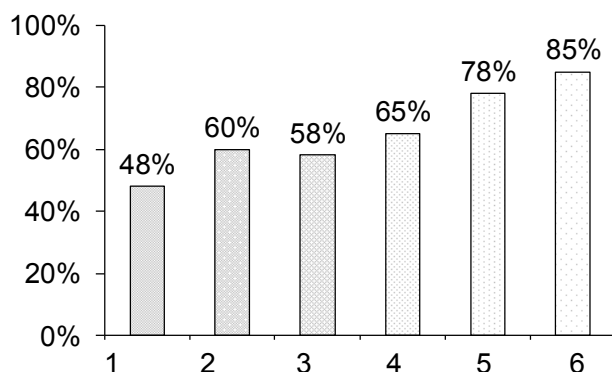


Рис.3. Влияние метапрота, трекрезана, полиоксидония и их комбинаций на выживаемость крыс при остром бронхолегочном воспалении. 1 — бронхолегочное воспаление, 2 — воспаление+метапрот, 3 — воспаление+полиоксидоний, 4 — воспаление+трекрезан, 5 — воспаление+метапрот+полиоксидоний, 6 — воспаление+метапрот+трекрезан

При введении животным с бронхолегочным воспалением метапрота, полиоксидония, трекрезана и их комбинаций изменялась микроскопическая картина ткани легких. На фоне действия метапрота уменьшалось утолщение межалвеолярных перегородок и их полнокровие. Просветы альвеол содержали эозинофильную жидкость с нейтрофильными лейкоцитами и отдельные нити фибрина. В легком присутствовал серозный и фибриновый экссудат. Некротические участки ткани легкого не наблюдались. На фоне действия полиоксидония микроскопическая картина

ткани легкого представлена умеренно полнокровными межалвеолярными перегородками, наличием серозно-фибринового экссудата. Большинство альвеол заполнены воздухом. Применение трекрезана оказывало сходное с полиоксидонием влияние на структуру ткани легких. Микроскопически межалвеолярные перегородки незначительно утолщены и полнокровны. Большинство альвеол наполнены воздухом. Отсутствовали некротические участки ткани. В просветах альвеол отмечали серозно-фибриновый экссудат. При применении комбинации метапрота с полиоксидонием и, в большей степени, с трекрезаном микроскопическая картина ткани легких приближалась к нормальной: межалвеолярные перегородки были обычного вида, кровеносные сосуды их умеренно полнокровны, альвеолы наполнены воздухом.

Влияние метапрота, полиоксидония, трекрезана и их комбинаций на показатели энергетического обмена в легких и лимфоцитах крови крыс при остром бронхолегочном воспалении. Введение крысам с острым бронхолегочным воспалением метапрота достоверно снижало в лимфоцитах крови содержание лактата на 50% по сравнению с нелеченными животными. Количество пирувата в лимфоцитах крови крыс возрастало в 4,4 раза (табл.1). Эти изменения свидетельствуют об уменьшении проявления лактатного ацидоза на фоне действия метапрота. При этом в лимфоцитах крови увеличивалось содержание АТФ — на 91%, снижалось содержание АДФ — на 32% и АМФ — на 20% ($p < 0,05$).

На фоне действия трекрезана в лимфоцитах крови крыс с острым бронхолегочным воспалением уменьшалось содержание лактата на 40%, АДФ — на 19% и АМФ — на 13% ($p < 0,05$). Содержание пирувата достоверно возрастало в три раза и АТФ — на 62%.

Введение животным полиоксидония приводило к достоверному снижению уровня лактата на 28%, АДФ — на 16% и АМФ — на 12%; увеличению в лимфоцитах крови содержания пирувата на 140% и АТФ — на 41%. Изменение содержания адениннуклеотидов сопровождалось достоверным увеличением энергетического заряда адениловой системы.

Применение метапрота, полиоксидония и трекрезана оказывало энергостабилизирующее дейст-

Таблица 1

Влияние метапрота, полиоксидония и трекрезана на показатели энергетического обмена в лимфоцитах крови крыс при остром бронхолегочном воспалении ($M \pm m$; $n = 10$)

Показатели	Группы животных			
	Бронхолегочное воспаление (контроль)	Бронхолегочное воспаление + метапрот	Бронхолегочное воспаление + трекрезан	Бронхолегочное воспаление + полиоксидоний
Лактат, мкмоль/мл	7,52±0,13	3,75±0,08*	4,53±0,16*	5,45±0,11*
Пируват, мкмоль/мл	0,05±0,02	0,23±0,02*	0,16±0,02*	0,14±0,02*
АТФ, мкмоль/мл	1,32±0,07	2,47±0,10*	2,12±0,05*	1,85±0,04*
АДФ, мкмоль/мл	1,22±0,05	0,83±0,03*	0,99±0,07*	1,03±0,06*
АМФ, мкмоль/мл	0,84±0,04	0,65±0,02*	0,73±0,03*	0,74±0,03*
Энергетический заряд, усл.ед.	0,574±0,007	0,733±0,006*	0,687±0,007*	0,658±0,008*

Примечание. * различия достоверны по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

Таблица 2

Влияние метапрота, полиоксидония и трекрезана на показатели энергетического обмена в легких крыс при остром бронхолегочном воспалении ($M \pm m$; $n = 10$)

Показатели	Группы животных			
	Бронхолегочное воспаление (контроль)	Бронхолегочное воспаление + метапрот	Бронхолегочное воспаление + трекрезан	Бронхолегочное воспаление + полиоксидоний
Лактат, мкмоль/г	8,54±0,10	3,92±0,05*	4,33±0,03*	5,24±0,08*
Пируват, мкмоль/г	0,03±0,01	0,22±0,02*	0,18±0,02*	0,13±0,02*
АТФ, мкмоль/г	1,07±0,04	2,48±0,03*	2,16±0,05*	1,85±0,02*
АДФ, мкмоль/г	1,18±0,03	0,66±0,02*	0,72±0,05*	0,83±0,02*
АМФ, мкмоль/г	0,69±0,06	0,49±0,03*	0,55±0,02*	0,55±0,02*
Энергетический заряд, усл.ед.	0,569±0,008	0,778±0,006*	0,739±0,007*	0,685±0,007*

Примечание. * различия достоверны по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

вие и в ткани легких. Так, при действии метапрота достоверно снижался уровень лактата на 54%, содержание АДФ — на 45% и АМФ — на 29%. При этом увеличивалось содержание пирувата в 6,5 раз, АТФ — на 129% и энергетического заряда адениннуклеотидов — на 37% (табл.2).

На фоне действия трекрезана уровень лактата в ткани легких достоверно снижался на 49%, АДФ — на 40% и АМФ — на 22% на фоне увеличения содержания пирувата в пять раз и АТФ — на 98% ($p < 0,05$). При этом величина энергетического заряда адениннуклеотидов достоверно возрастала на 30%.

При введении полиоксидония в легких снижалось содержание лактата на 39%, АДФ — на 32% и АМФ — на 22% ($p < 0,05$). Наряду с этим достоверно увеличивалось содержание пирувата в четыре раза и АТФ — на 69%, а также значение энергетического заряда адениннуклеотидов — на 20%.

Таким образом, при монотерапии острого бронхолегочного воспаления метаболические нарушения в легких и лимфоцитах крови крыс в большей степени корригировал метапрот. Энергостабилизирующее действие полиоксидония было более выражено в ткани легких и по направленности эффектов было сопоставимо с действием трекрезана, но уступало ему по силе действия.

Использование метапрота в сочетании с полиоксидонием или трекрезаном сопровождалось более выраженным энергостабилизирующим действием в

лимфоцитах крови и ткани легких крыс с острым бронхолегочным воспалением, чем при монотерапии.

Применение комбинации метапрота с трекрезаном сопровождалось снижением в лимфоцитах крови содержания лактата на 61%, АДФ — на 35% и АМФ — на 42% ($p < 0,05$). Содержание пирувата в лимфоцитах возрастало в 4,4 раза и АТФ — в два раза. Величина энергетического заряда адениловой системы достоверно возрастала по сравнению с не леченными животными на 38% (табл.3).

При сочетанном применении метапрота с полиоксидонием в лимфоцитах крови крыс снижалось содержание лактата на 57%, АДФ — на 51% и АМФ — на 49% ($p < 0,05$). Содержание пирувата достоверно увеличивалось в 4 раза, а содержание АТФ — в 2 раза. Значение энергетического заряда адениннуклеотидов увеличивалась на 42% по сравнению с не леченными животными ($p < 0,05$).

В ткани легких при сочетанном введении метапрота и трекрезана уровень лактата достоверно снижался на 66%, АДФ — на 55% и АМФ — на 52% на фоне увеличения содержания пирувата в 9,6 раз и АТФ — на 177% ($p < 0,05$). Изменение содержания адениннуклеотидов сопровождалось увеличением на 49% их энергетического заряда (табл.4).

Применение метапрота в сочетании с полиоксидонием сопровождалось снижением в ткани легких содержания лактата на 62%, АДФ — на 28% и АМФ — на 18%. При этом увеличивалось содержание пиру-

Таблица 3

Влияние комбинаций метапрота с трекрезаном и полиоксидонием на показатели энергетического обмена в лимфоцитах крови крыс при остром бронхолегочном воспалении ($M \pm m$; $n = 10$)

Показатели	Группы животных		
	Бронхолегочное воспаление (контроль)	Бронхолегочное воспаление + метапрот + трекрезан	Бронхолегочное воспаление + метапрот + полиоксидоний
Лактат, мкмоль/мл	7,48±0,10	2,92±0,13*	3,23±0,07*
Пируват, мкмоль/мл	0,05±0,01	0,21±0,02*	0,22±0,02*
АТФ, мкмоль/мл	1,29±0,07	2,83±0,05*	2,74±0,08*
АДФ, мкмоль/мл	1,22±0,05	0,77±0,04*	0,58±0,03*
АМФ, мкмоль/мл	0,83±0,04	0,48±0,03*	0,43±0,03*
Энергетический заряд, усл.ед.	0,569±0,006	0,786±0,008*	0,809±0,007*

Примечание. * $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Таблица 4

Влияние комбинации метапрота с трекрезаном или полиоксидонием на показатели энергетического обмена в легких крыс при остром бронхолегочном воспалении ($M \pm m$; $n = 10$)

Показатели	Группы животных		
	Бронхолегочное воспаление (контроль)	Бронхолегочное воспаление+ метапрот+трекрезан	Бронхолегочное воспаление+ метапрот+ полиоксидоний
Лактат, мкмоль/мл	8,57±0,12	2,94±0,11*	3,24±0,11*
Пируват, мкмоль/мл	0,04±0,02	0,31±0,02*	0,22±0,02*
АТФ, мкмоль/мл	1,09±0,04	3,03±0,04*	2,64±0,04*
АДФ, мкмоль/мл	1,18±0,03	0,55±0,03*	0,88±0,03*
АМФ, мкмоль/мл	0,69±0,06	0,34±0,04*	0,58±0,03*
Энергетический заряд, усл.ед.	0,569±0,008	0,848±0,006*	0,759±0,008*

Примечание. * различия достоверны по сравнению с контролем при $p < 0,05$.

вата в 6,6 раза и АТФ — на 146% ($p < 0,05$). Эти изменения сопровождались достоверным увеличением величины энергетического заряда адениловой системы. Таким образом, при монотерапии острого бронхолегочного воспаления у крыс изученные препараты можно расположить в ряду по возрастанию их энергостабилизирующего действия: полиоксидоний < трекрезан < метапрот. Применение комбинаций иммуномодулятора с антигипоксантом при бронхолегочном воспалении у крыс оказывало более выраженный эффект в лимфоцитах и ткани легких, чем монотерапия. Энергостабилизирующее действие комбинации метапрота с полиоксидонием или трекрезаном были сопоставимы.

Влияние метапрота, полиоксидония, трекрезана и их комбинаций на флуоресценцию флавиновых и пиридиновых нуклеотидов в альвеолярных макрофагах и лимфоцитах крови крыс. Внесение в среду альвеолярных макрофагов, выделенных у интактных крыс, метапрота сопровождалось снижением интенсивности флуоресценции НАДН на 47% и усилением на 32% флуоресценции флавопротеидов (рис.4).

На фоне действия трекрезана в альвеолярных макрофагах крыс флуоресценция флавопротеидов снижалась на 15% по сравнению с исходным фоном, а флуоресценция НАДН возрастала на 31%. Параметр ξ снижался с 1,65 до 1,07, а показатель R имел отрицательное значение ($-0,35$).

Внесение в среду альвеолярных макрофагов полиоксидония сопровождалось более значительным снижением флуоресценции флавопротеидов (на 54%) и увеличением флуоресценции НАДН на 49%. Параметр ξ под влиянием полиоксидония снижался с 2,11 до 0,64, а показатель R был ниже, чем на фоне действия трекрезана ($-0,69$).

При внесении в среду альвеолярных макрофагов комбинации метапрота с трекрезаном или полиоксидонием также наблюдали снижение интенсивности флуоресценции в области спектра флавопротеидов и увеличение свечения в области пиридиннуклеотидов. При этом эффекты метапрота в сочетании с трекрезаном были сопоставимы с его комбинацией с полиоксидонием. Тем не менее, на фоне комбинации трекрезана или полиоксидония с метапротом показатель R был больше, чем при действии трекрезана и полиоксидония.

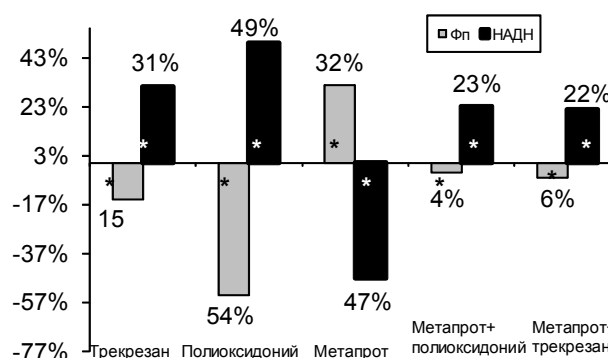


Рис.4. Влияние метапрота, полиоксидония, трекрезана и их комбинаций на флуоресценцию флавопротеидов (Фп) и пиридиннуклеотидов (НАДН) в альвеолярных макрофагах крыс. * — $p < 0,05$ в сравнении с контролем.

Характер флуоресценции флавопротеидов и пиридиннуклеотидов в лимфоцитах крови интактных крыс на фоне действия метапрота, трекрезана, полиоксидония и их комбинаций сохранялся. На фоне действия метапрота в лимфоцитах крови крыс интенсивность флуоресценции в области спектра флавопротеидов была на 46% выше фоновой. При этом интенсивность флуоресценции НАДН в лимфоцитах снижалась на 23%. Это сопровождалось увеличением параметра ξ в два раза и положительным значением величины реакции метаболической системы лимфоцитов. На фоне действия трекрезана уровень свечения флавопротеидов снижался на 27% по сравнению с фоновым, а флуоресценция НАДН возрастала на 61%, что приводило к отрицательному значению величины реакции метаболической системы лимфоцитов. Внесение в среду лимфоцитов полиоксидония приводило к большему снижению свечения в области спектра флавопротеидов и увеличению интенсивности флуоресценции НАДН, чем при действии трекрезана. Параметр ξ при действии полиоксидония уменьшался в 2,8 раза по сравнению с фоном, величина реакции метаболической системы лимфоцитов имела отрицательное значение.

При внесении в среду лимфоцитов комбинации метапрота с полиоксидонием интенсивность флуоресценции в области спектра флавопротеидов снижалась на 24% по сравнению с фоном. Свечение в об-

ласти пиридиннуклеотидов увеличивалось на 22%. Параметр ξ уменьшался в 1,6 раза, а величина реакции метаболической системы лимфоцитов (R) имела отрицательное значение. Сходные эффекты наблюдались при внесении в среду лимфоцитов метапрота в сочетании с трекрезаном. Однако изменения флуоресценции флавопротеидов и пиридиннуклеотидов на фоне комбинаций препаратов были менее выраженными по сравнению с действием трекрезана и полиоксидония.

Таким образом, при внесении в среду альвеолярных макрофагов и лимфоцитов крови крыс метапрота усиливается флуоресценция флавопротеидов и снижается флуоресценция восстановленных пиридиннуклеотидов, что свидетельствует об усилении интенсивности тканевого дыхания клеток. В отличие от метапрота трекрезан и полиоксидоний уменьшали интенсивность флуоресценции флавопротеидов и увеличивали флуоресценцию восстановленных пиридиннуклеотидов в альвеолярных макрофагах и лимфоцитах крови крыс. На фоне комбинации трекрезана или полиоксидония с метапротом величина реакции метаболической системы клеток была больше, чем при действии трекрезана и полиоксидония.

Обсуждение полученных результатов

В каскаде метаболических изменений при кислородной недостаточности центральным звеном является энергетический обмен. В условиях кислородного дефицита возникает так называемая биоэнергетическая гипоксия [16]. Митохондрии чувствительны к дефициту кислорода и повреждаются одними из первых среди внутриклеточных структур. В основе биоэнергетической гипоксии лежат последовательные изменения свойств митохондриального ферментного комплекса, приводящие к нарушениям энергосинтезирующей функции дыхательной цепи. Все стадии биоэнергетической гипоксии коррелируют с изменениями в содержании АТФ и ведущих энергозависимых процессов в клетках. Возможности образования митохондриальной АТФ — наиболее эффективной формы аккумуляции энергии и в физиологических условиях преобладающей над другими способами образования аденозинтрифосфата — при кислородной недостаточности ограничены. При гипоксии нарушаются все кислородзависимые пути образования энергии. Поддержание жизнеспособности и функциональной активности клеток при гипоксии осуществляется за счет анаэробных процессов энергообразования.

Учитывая комплексный характер нарушений, которые возникают в организме при пневмонии, связь их с механизмами неспецифической резистентности, системой снабжения организма кислородом, процессами перекисного окисления липидов, состоянием антиоксидантной и иммунной систем, представляется целесообразным использовать в комплексной терапии острых пневмоний лечебные средства с широким спектром фармакологической активности, способные воздействовать на базальные клеточные процессы и стимулировать адаптационные возможности организма.

В значительной степени этим требованиям отвечают препараты, являющиеся представителями фармакологического класса адаптогенов и антигипоксантов. Типичным представителем антигипоксантов является метапрот (2-этилтиобензимидазола гидробромид; бемитил), хорошо изученный препарат, широко применяющийся при острой и хронической гипоксии, для повышения работоспособности, для активации иммунитета, прежде всего клеточного и фагоцитарного звена [7]. Другим представителем этого класса является трекрезан (триэтаноламмониевая соль 2-метилфеноксиуксусной кислоты) — высокоэффективное фармакологическое средство с широким спектром адаптогенного, иммуностимулирующего и терапевтического действия [10,11]. Трекрезан относится к малотоксичным соединениям (LD_{50} для крыс > 3700 мг/кг при внутрибрюшинном и > 6500 мг/кг при пероральном введении препарата), оказывает стресспротекторное действие на моделях иммобилизационного и болевого гиподинамического стресса, обладает способностью ускорять репарацию поврежденных тканей (печень, миокард, мышцы), защищает внутренние органы от повреждающего действия токсинов, СВЧ-облучения, инфекционного фактора. Препарат обладает выраженной антиоксидантной активностью и иммуностимулирующими свойствами [8].

Одним из перспективных адаптогенов и иммунокорректоров является новый препарат полиоксидоний [9]. Препарат оказывает активирующее действие на неспецифическую резистентность организма, фагоцитоз, гуморальный и клеточный иммунитет. Одним из основных биологических свойств полиоксидония является способность стимулировать антиинфекционную резистентность организма. Полиоксидоний действует на все звенья фагоцитарного процесса: активирует миграцию фагоцитов, усиливает клиренс чужеродных частиц из кровотока, повышает поглотительную и бактерицидную активность фагоцитов. Известно, что бактерицидность фагоцитов обусловлена кислороднезависимыми и кислородзависимыми механизмами. Оказалось, что полиоксидоний подавляет спонтанное образование внеклеточных, но стимулирует образование внутриклеточных активных форм кислорода. В отношении индукции синтеза цитокинов полиоксидоний выступает как истинный иммуномодулятор, стимулируя спонтанный и индуцированный синтез. Наряду с иммуномодулирующими свойствами полиоксидония следует выделить антитоксический, антиоксидантный и мембраностабилизирующие эффекты [17]. Следует отметить, что до наших исследований энергостабилизирующие эффекты полиоксидония не были описаны.

В наших опытах применение метапрота, трекрезана и полиоксидония оказывало противовоспалительное действие при оценке их эффектов на структуру ткани легких. Эти эффекты возрастали при комбинировании препаратов. В основе этого, как выяснилось, лежит способность препаратов улучшать энергетический метаболизм и экономизировать расходы АТФ как в ткани легких, так и системно (в крови). Энергостабилизирующее действие препаратов

проявлялось снижением уровня лактата, продуктов гидролиза АТФ — АДФ и АМФ, увеличением содержания пирувата и АТФ в лимфоцитах крови и ткани легких крыс. При этом действие препаратов несколько разнилось друг от друга: максимальный эрготропный эффект отмечен у метапрота при монотерапии или у комбинаций метапрота с полиоксидонием и трекрезаном.

Таким образом, течение воспалительного процесса в бронхах и легких во многом зависит от состояния энергетики этих органов и энергорасходов в целом.

Выводы

1. Метапрот, трекрезан, полиоксидоний и их сочетания при курсовом применении у крыс с экспериментальным острым бронхолегочным воспалением облегчают течение воспалительного процесса, что проявляется уменьшением количества экссудата в ткани легких, снижением полнокровности кровеносных сосудов, нормализацией морфологической картины легочной ткани (межальвеолярные перегородки обычного вида, все альвеолы наполнены воздухом).

2. При экспериментальной бронхопневмонии метапрот, трекрезан и полиоксидоний обладают энергостабилизирующим действием, что проявляется снижением уровня лактата, продуктов гидролиза АТФ — АДФ и АМФ, увеличением содержания пирувата и АТФ в лимфоцитах крови и ткани легких крыс.

3. При монотерапии экспериментальной бронхопневмонии препараты располагаются по возрастанию их энергостабилизирующего действия в следующем порядке: полиоксидоний < трекрезан < метапрот < метапрот + полиоксидоний = метапрот + трекрезан.

4. Метапрот, в отличие от трекрезана, полиоксидония и их комбинации с метапротом, усиливает флуоресценцию флавопротеидов и снижает флуоресценцию восстановленных пиридиннуклеотидов в альвеолярных макрофагах и лимфоцитах крови крыс, что свидетельствует об усилении интенсивности тканевого дыхания клеток.

1. Вишнякова Л.А., Путов Н.В. Этиология острой пневмонии // Тер. арх. 1990. Т.62. №3. С.15-18.
2. Дангиг И.И., Скипский И.М., Смольская Г.П. Затяжная пневмония: факторы риска и лечебная тактика // Тер. архив. 1999. №3. С.32-35.
3. Бизикин А.В., Сеодаева С.К. Новый методический подход к изучению метаболизма фагоцитирующих клеток // Пульмонология. 1995. №1. С.46-49.
4. Чучалин А.Г. Пневмония — актуальная проблема медицины (вступительное слово): Матер. главн. симпозиума «Пневмония». М., 1997. С.1.
5. Чучалин А.Г., Нонинов В.Е. Вопросы этиологии, иммунной патологии и терапии острой пневмонии // Клин. мед. 1991. №1. С.71-74.
6. Фомина Т.Д., Походзей И.В. Иммунологическая реактивность организма и клиничко-рентгенологическая картина острой пневмонии у взрослых // Тер. архив. 1986. №4. С.108-110.
7. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Антиоксидантное действие полиоксидония и метапрота при бронхолегочном воспалении у крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2015. Т.160. №8. С.200-204.

8. Казимировская В.Б., Дьяков В.М., Воронков М.Г., Ковальчук С.Ф. Трекрезан: токсикология, фармакология, результаты клинических испытаний. Иркутск, 1996. 224 с.
9. Козлов Ю.А. Полиоксидоний в комплексном лечении гнойно-воспалительных заболеваний // Terra medica nova. 2005. №1. С.2-5.
10. Шабанов П.Д., Мокренко Е.В. Противовоспалительные и иммуностимулирующие эффекты трекрезана при лечении воспалительно-дегенеративных поражений мягких тканей пародонта // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. 2015. Т.13. №2. С.34-42.
11. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Мокренко Е.В. Фармакология трекрезана — нового иммуномодулятора и адаптогена // Обз. по клин. фармакол. и лек. терапии. 2014. Т.12. №2. С.12-27.
12. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. В.П.Фисенко. М.: МЗ РФ, 2000. 398 с.
13. Marbach E.P., Weil M.H. Rapid enzymatic measurement of blood lactate and pyruvate // Clin. Chem. 1967. Vol.13. P.314-325.
14. Зарубина И.В., Криворучко Б.И. Разделение и прямое количественное определение адениннуклеотидов на силуфоле // Укр. биохим. журнал. 1982. Т.54. №4. С.437-439.
15. Atkinson D. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers // Biochemistry. 1968. Vol.7. №10. P.4030-4034.
16. Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Молекулярная фармакология антигипоксантов. СПб.: Н-Л, 2004. 368 с.
17. Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хайтов Р.М. Иммуномодулятор «полиоксидоний»: механизмы действия и аспекты клинического применения // Медлайн экспресс. 2005. №1(177). С.19-23.

References

1. Biziukin A.V., Seodaeva S.K. Novyi metodicheskii podkhod k izucheniiu metabolizma fagotsitiruiushchikh kletok [New methodological approach to studying the metabolism of phagocytes]. Pul'monologiya — Pulmonology, 1995, no. 1, pp. 46-49.
2. Vishniakova L.A., Putov N.V. Etiologiya ostroi pnevmonii [The etiology of acute pneumonia]. Terapevticheskii arkhiv — Therapeutic Archive, 1990, vol. 62, no. 3, pp. 15-18.
3. Dangig I.I., Skipskii I.M., Smul'skaia G.P. Zatiizhnaia pnevmonia: faktory riska i lechebnaia taktika [Protracted pneumonia: risk factors and therapeutic tactics]. Terapevticheskii arkhiv — Therapeutic Archive, 1999, no. 3, pp. 32-35.
4. Zarubina I.V., Krivoruchko B.I. Razdelenie i priamoe kolichestvennoe opredelenie adeninnukleotidov na silufole [Separation and direct quantification of adenine nucleotides on Silufole]. Ukrainskii biokhimičeskii zhurnal — Ukrainian Biochemical Journal, 1982, vol. 54, no. 4, pp. 437-439.
5. Zarubina I.V., Shabanov P.D. Molekuliarnaia farmakologija antigipoksantov [Molecular pharmacology of antihypoxants]. Saint Petersburg, N-L Publ., 2004.
6. Zarubina I.V., Shabanov P.D. Antioksidantnoe deistvie polioksidonii i metaprot pri bronkholegochnom vospalenii u krysov [Antioxidant effect of polyoxidonium and metaprot in bronchopulmonary inflammation in rats]. Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsiny — Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2015, vol. 160, no. 8, pp. 200-204.
7. Kazimirovskaja V.B., D'jakov V.M., Voronkov M.G., Koval'chuk S.F. Trekrezan: toksikologija, farmakologija, rezul'taty kliničeskikh ispytаний [Trekrezan: toxicology, pharmacology, and clinical trial results]. Irkutsk, 1996. 224 p.
8. Kozlov Ju.A. Polioksidonii v kompleksnom lechenii gnoinovospalitel'nykh zaboolevanii [Polyoxidonium in combination therapy of pyoinflammatory diseases]. Terra Medica Nova, 2005, no. 1, pp. 2-5.
9. Pinegin B.V., Nekrasov A.V., Khaitov R.M. Immunomodulator «polioksidonii»: mekhanizmy deistvii i aspekty kliničeskogo primeneniia [Immune modulator "polyoxidonium": mechanisms of action and aspects of clinical usage]. Medlain ekspress, 2005, no. 1 (177), pp. 19-23.
10. Fisenko V.P., ed. Rukovodstvo po eksperimental'nomu (dokliničeskomu) izucheniiu novykh farmakologičeskikh veshchestv [Guideline for experimental (preclinical) study of

- new pharmacological substances]. Moscow, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, 2000.
11. Chuchalin A.G. Pnevmonii – aktual'naia problema meditsiny (vstupitel'noe slovo) [Pneumonia is an urgent problem of medicine (opening remarks)]. Materialy glavnogo simpoziuma «Pnevmonii» [Proc. of the Symp. "Pneumonias"]. Moscow, 1997, p. 1.
 12. Chuchalin A.G., Nonikov V.E. Voprosy etiologii, immunoipatologii i terapii ostroi pnevmonii [Etiology, pathology and immune therapy of acute pneumonia]. Klinicheskaya Meditsina – Clinical Medicine, 1991, no. 1, pp. 71-74.
 13. Fomina T.D., Pokhodzei I.V. Immunologicheskaya reaktivnost' organizma i kliniko-rentgenologicheskaya kartina ostroi pnevmonii u vzroslykh [Immunologic reactivity and clinicoradiologic picture of acute pneumonia in adults]. Terapevticheskii arkhiv – Therapeutic Archive, 1986, no. 4, pp. 108-110.
 14. Shabanov P.D., Mokrenko E.V. Protivovospalitel'nye i immunostimuliruiushchie efekty trekrezana pri lechenii vospalitel'no-degenerativnykh porazhenii miagkikh tkanei parodonta [Anti-inflammatory and immune stimulating effects of trekrezan in treatment of inflammatory and degenerative damages of the smooth parodont tissue]. Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii – Review on Clinical Pharmacology and Medicinal Therapy, 2015, vol. 13, no. 2, pp. 34-42.
 15. Shabanov P.D., Zarubina I.V., Mokrenko E.V. Farmakologiya trekrezana – novogo immunomodulirovatelya i adaptogena [Pharmacology of trekrezan, a new immune modulator and adaptogenic]. Obzory po klinicheskoi farmakologii i lekarstvennoi terapii – Review on Clinical Pharmacology and Medicinal Therapy, 2014, vol. 12, no. 2, pp. 12-27.
 16. Atkinson D. The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers. Biochemistry, 1968, vol. 7, no. 10, pp. 4030-4034.
 17. Marbach E.P., Weil M.H. Rapid enzymatic measurement of blood lactate and pyruvate. Clinical Chemistry, 1967, vol. 13, pp. 314-325.