Івано-Франківський національний медичний університет

Міністерство охорони здоров’я України

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України»

Кваліфікаційна наукова

праця на правах рукопису

**ГАЙНЮК МАР’ЯНА БОГДАНІВНА**

УДК 547.458.88:616-099+612.821.4-616.076.5:616-072.5

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ДЕТОКСИКУЮЧА ДІЯ ПОРОШКУ ЯБЛУЧНОГО ПЕКТИНУ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ (експериментальне дослідження)**

14.03.05 – фармакологія

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук.

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ М.Б. Гайнюк

Науковий керівник: Шеремета Лідія Миколаївна, доктор медичних наук, професор

Київ – 2020

**АНОТАЦІЯ**

***Гайнюк М.Б.* Детоксикуюча дія порошку яблучного пектину за умов алкогольної інтоксикації (експериментальне дослідження). – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.05 - фармакологія. – Івано-Франківський національний медичний університет МОЗ України; ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». – 2020.

У дисертаційній роботі вперше проведене фармакологічне дослідження активності порошку яблучного пектину в якості детоксиканта за гострої та хронічної алкогольної інтоксикації та експериментально визначена середня ефективна доза, обгрунтовано доцільність його застосування.

Показано, що пероральне застосування яблучного пектину в дозі 200 мг / 100 г маси тіла за гострої інтоксикації алкоголем у лікувальному режимі введення сприяв нормалізації вуглеводневого обміну, зберігаючи рівень глюкози в крові практично на рівні норми, знижував активність ферментів маркерів алкоголю АлАТ і АсАТ та спричиняв суттєве пригнічення процесів пероксидації ліпідів і зменшення вмісту її кінцевих продуктів у сироватці крові та відновлював активність каталази. Встановлено, що яблучний пектин суттєво зменшує біодоступність алкоголю шляхом адсорбції, що було доведено методом ГРХ. Так, кількість тварин, у крові яких визначався алкоголь за застосування яблучного пектину зменшувалась у 3 рази порівняно з контролем (33 % тварин у групі з використанням ЯП проти 99 % у контрольній). Лікувально-профілактичне введення – до і після використання алкоголю – сприяло істотному зниженню рівня амінотрансфераз та продуктів ПОЛ і відновленню активності ферменту АОЗ – КТ. Позитивний вплив застосування яблучного пектину у лікувальному режимі відзначено і при вивченні гематологічних показників, а також обміну глюкози та холестеролу, що вказує на достатню сорбційну здатність пектину, особливо стосовно препарату порівняння – активованого вугілля.

Морфологічні дослідження тканин печінки за гострої алкогольної інтоксикації при лікувальному режимі введення довели, що яблучний пектин сприяв регресії дегенеративних змін гепатоцитів та відновленню трабекулярної будови органу, у першу чергу, через зменшення накопичення ліпідних вакуолей у цитоплазмі клітин, що було показано зниженням ступеня накопичення ліпідів, який становив за півкількісною оцінкою 2,2, що вдвічі менше, ніж у контрольних алкоголізованих тварин. Спостерігали також збільшення кількості одноядерних нормальних клітин та двоядерних гепатоцитів порівняно з контролем, що свідчить про посилення репаративних процесів у печінці. За впливу досліджуваного засобу зменшувались незворотні альтеративні процеси, що проявлялось втричі меншою кількістю клітин з ознаками некрозу й апоптозу (3,61 клітини на 100 гепатоцитів). Відзначали також різке зменшення набряку сполучнотканинних волокон й інтенсивності запальної інфільтрації, що вказує на відновлення репаративних процесів та детоксикуючої функції печінки під впливом яблучного пектину і узгоджується з літературними даними.

За підгострої інтоксикації (введення алкоголю протягом 11 днів) звернули на себе увагу зміни ліпідного обміну. Вперше встановлено, що вміст холестеролу за введення ЯП за даної моделі отруєння був на 35 % менший за такий у контролі, на 14% ніж за введення активованого вугілля і практично рівнозначним з кремнію диоксидом. Вміст триацилгліцеролів у сироватці крові збільшився у всіх групах тварин порівняно з інтактними (р˂0,05), але у тварин, лікованих яблучним пектином, активованим вугіллям та кремнію диоксидом він був вірогідно меншим, ніж у нелікованих (р˂0,05). Також досліджено, що за введення яблучного пектину цей показник був достовірно меншим (р˂0,05), ніж у групах, де використовували препарати порівняння, а саме: на 31 % порівняно з активованим вугіллям та 38 % порівняно з кремнію диоксидом, що вказує на виражений гіполіпідемічний ефект яблучного пектину.

Також відзначено зменшення активності маркерів цитолізу гепатоцитів та алкоголю за введення дослідним тваринам яблучного пектину: АлАТ на 11 % та 25 % порівняно з даними показниками у тварин, лікованих активованим вугіллям, та кремнію диоксидом відповідно; АсАТ- на 8 % порівняно з контролем і був практично на рівні препаратів порівняння.

Вивчено вплив яблучного пектину за хронічної алкогольної інтоксикації протягом 28 днів. Показано, що введення досліджуваного засобу за лікувального режиму, достовірно зменшував активність біомаркерів алкоголю: АсАТ на 42 % порівняно з контролем, на 18 % порівняно з введенням активованого вугілля та 11 % проти застосування кремнію диоксиду (р˂0,05). Активність АлАТ знизилась на 21 % проти контролю, 23 % порівняно з лікованими активованим вугіллям і була рівнозначною з показником групи, де застосовували кремнію диоксид.

Досліджено, що яблучний пектин пригнічував активність процесів ПОЛ, що виявилось у суттєвому зменшенні вмісту ДК у сироватці крові тварин порівняно з контролем, за введення активованого вугілля та кремнію диоксиду: на 50 %, 16 % і 13 % відповідно (р˂0,05). Вміст МДА теж був достовірно нижчим (р˂0,05) порівняно з контролем, за введення активованого вугілля та кремнію диоксиду – на 20 %, 14 % і 9 % відповідно. Активність каталази була наближеною до норми у тварин за умов застосування лікарських засобів.

Отже, грунтуючись на отриманих результатах, можна стверджувати, що за хронічної алкогольної інтоксикації яблучний пектин достовірно інтенсивніше за активоване вугілля і кремнію диоксид пригнічує процеси ПОЛ, гальмує розвиток оксидативного стресу, проявляє антиоксидантну дію, тим самим здійснює лікувальну та детоксикуючу дію на організм.

Морфологічні дослідження тканин печінки підтвердили позитивний лікувальний ефект яблучного пектину, встановлений за біохімічними показниками. Застосування досліджуваного засобу за повторного введення щурам 30 % розчину етанолу в дозі 2 мл / 100 г маси тіла протягом 28 днів супроводжувалось різко вираженим регресом жирової дистрофії гепатоцитів − з 4,8 до 0,9 за півкількісною оцінкою вмісту ліпідів. Частка паренхіми склала 83,54±5,68 % і теж була наближеною до норми (84,49±5,93 %). Введення яблучного пектину у лікувальному режимі сприяло зниженню інтенсивності некротично-апоптичного процесу у гепатоцитах. Регресивні зміни печінкових клітин супроводжувались збільшенням площі синусоїдних гемокапілярів та зменшенням кількості фібробластів, що свідчить про призупинення прогресування склеротичних змін у портальному полі за хронічної інтоксикації алкоголем і введення ЯП.

Вперше досліджено вплив яблучного пектину на рівень рН in vitro для з’ясування механізмів його дії за двох температурних режимів – при 200 та 350 С. Експериментально доведено, що яблучний пектин (рН = 3,7) у суміші із водою (рН = 5,8), 0,1 н розчином НСl (рН = 1,0) і 40 % розчином етанолу (рН = 5,5) викликає зсув лужної реакції до рН = 3,6, що може бути пояснене змінами фізико-хімічних властивостей яблучного пектину і збільшенням кількості активних дисоційованих залишків галактуронової кислоти.

Додавання до суміші НСl і алкоголю препарату порівняння активованого вугілля, змінювало реакцію до 4,2, а за введення до суміші КД – до рН= 4,4.

Досліджено можливий вплив пектину на рН у тонкій і товстій кишці та за додавання алкоголю. З метою імітації середовища тонкої кишки використали буфер з рН 7,5. Отже, при попаданні суміші пектину з водою та хлороводневою кислотою до тонкої кишки з рН= 7,5 відбувається суттєвий зсув реакції у лужну сторону, хоча вона все ж залишається слабокислою і не змінюється при додаванні алкоголю. Поєднання водного розчину яблучного пектину з буфером із рН=7,5 теж дає кислу реакцію – 6,8 і додавання алкоголю цю позицію не змінює.

Водночас, у сумішах гідрокарбонатного буферу з водою та активованим вугіллям і кремнію диоксидом рН не змінюється, а за додавання до них алкоголю рН незначно збільшується – до 7,6 і залишається лужною.

Водний розчин пектину за змішування з гідрокарбонатним буфером, що імітував середовище товстої кишки з рН=8,5, викликав різкий зсув реакції в кислу сторону і рН становив 3,85, а додавання до названих інгредієнтів алкоголю незначною мірою змінювало реакцію – до рН=4,3. У той же час, за поєднання того ж буферного розчину з водою та препаратами порівняння реакція залишилась лужною і майже не змінилась – рН =8,5.

Імовірно, кисла реакція яблучного пектину є одним із способів зв’язування алкоголю і зменшення його абсорбції.

Щоб пояснити отримані результати фізико-хімічних досліджень було проведено визначення точки нульового заряду яблучного пектину.

Значення рН точки нульового заряду, або ізоелектричної точки, істотно впливає на процеси поглинання і десорбції іонів, присутніх у розчинах у катіонній і аніонній формах.

Точка нульового заряду яблучного пектину на шкалі рН дорівнює 3,75. За результатом проведеного дослідження за рН вище 3,69 пектин адсорбує катіони металів або органічих речовин.

Одержаний результат підтверджує спроможність яблучного пектину зв’язувати (адсорбувати) алкоголь ([C2H5O-] H)+.

Експериментально доведено ефективність яблучного пектину в дозі 0,2 г / 100 г маси тіла щура. У перерахунку за стандартною формулою це становить 22 г для людини за лікувального і лікувально-профілактичного режимів введення.

У роботі обгрунтовано детоксикуючий механізм дії яблучного пектину, який, імовірно, складається з декількох компонентів:

здатності адсорбувати алкоголь через відповідну величину точки нульового заряду;

частково нейтралізувати лужну реакцію етанолу;

зменшувати контакт алкоголю зі стінкою кишки, а отже всмоктування, через утворення драглистого шару між слизовою та вмістом шлунку і кишки;

посилювати моторику кишечника через збільшення об’єму кишкового вмісту і прискорювати виведення токсиканта.

Ключові слова: яблучний пектин, гостра і хронічна алкогольна інтоксикація, детоксикуючий ефект.

**SUMMARY**

**Hainiuk M.B. The detoxifying activity of apple pectin powder in alcohol intoxication (experimental research). – Manuscript.**

Thesis for a candidate degree in biological sciences in specialty 14.03.05 -pharmacology. – Ivano-Frankivsk National Medical University of Ministry of Healthcare of Ukraine; State Enterprise «Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine». - 2020.

In the dissertation, the pharmacological study of the activity of apple pectin powder as a detoxicant for acute and chronic alcohol intoxication was conducted for the first time and the average effective dose was experimentally determined, the feasibility of its use was substantiated.

It is shown that oral administration of apple pectin at a dose of 200 mg / 100 g body weight in acute alcohol intoxication in the therapeutic mode of administration contributed to the normalization of hydrocarbon metabolism, keeping blood glucose almost at the level of the norm, reducing the activity of the enzyme markers AlAT and AsAT inhibition of lipid peroxidation processes and reduction of the content of its final products in serum and restored catalase activity. Apple pectin has been found to significantly reduce the bioavailability of alcohol by adsorption, which has been proven by the Gas-liquid chromatography method. So, the number of animals in which blood was determined to use alcohol for apple pectin decreased 3 times compared to controls (33 % of animals in the group using apple pectin against 99 % in controls). Therapeutic and prophylactic administration - before and after the use of alcohol - contributed to a significant decrease in the level of aminotransferases and lipid peroxidation products and to the restoration of the activity of the antioxidant protection – catalase enzyme. The positive effect of the use of apple pectin in the treatment regimen was also noted in the study of hematological parameters, as well as the exchange of glucose and cholesterol, which indicates a sufficient sorption capacity of pectin, especially in comparison with the preparation of activated carbon.

Morphological studies of liver tissues with acute alcohol intoxication in the therapeutic mode of administration proved that apple pectin contributed to the regression of degenerative changes in hepatocytes and the restoration of the trabecular structure of the organ, primarily due to the reduction of accumulation of lipid vacuoles in the cytoplasm, was a semi-quantitative estimate of 2.2, which is twice less than in control alcoholic animals. There was also an increase in the number of single-nucleus normal cells and double-nucleus hepatocytes compared with controls, indicating an increase in reparative processes in the liver. Due to the influence of the investigated agent, irreversible alternative processes were reduced, which was manifested by three times fewer cells with signs of necrosis and apoptosis (3.61 cells per 100 hepatocytes). There was also a sharp decrease in connective tissue edema and the intensity of inflammatory infiltration, indicating the restoration of reparative processes and detoxification of the liver under the influence of apple pectin and consistent with the literature.

Subacute intoxication (alcohol intake for 11 days) drew attention to changes in lipid metabolism. For the first time, it was found that the content of cholesterol for the introduction of apple pectin in this model of poisoning was 35 % lower than that in the control, 14 % than for the introduction of activated carbon and almost equivalent to silicon dioxide. Serum triacylglycerol content increased in all animal groups compared to intact (p<0.05), but in animals treated with apple pectin, activated carbon and silicon dioxide it was significantly lower than in untreated (p<0.05). It was also investigated that with the introduction of apple pectin, this indicator was significantly lower (p<0.05) than in the groups using the comparison drugs, namely: by 31 % compared to activated carbon and 38 % compared to silicon dioxide indicating on pronounced hypolipidemic effect of apple pectin.

There was also a decrease in the activity of markers of hepatocyte cytolysis and alcohol when administered to experimental animals of apple pectin: AlAT by 11 % and 25%, respectively, compared to the values ​​in animals treated with activated carbon and silicon dioxide, respectively; AsAT- 8 % compared to control and was almost at the level of reference drugs.

The effect of apple pectin on chronic alcohol intoxication for 28 days was studied. It was shown that administration of the test drug under the treatment regimen significantly reduced the activity of biomarkers of alcohol: AsAT by 42 % compared to control, by 18 % compared to the introduction of activated carbon and 11% against the use of silicon dioxide (р<0.05). The activity of AlAT decreased by 21 % against control, 23 % compared to treated activated carbon and was equivalent to that of the group where silicon dioxide was used.

It has been investigated that apple pectin suppressed the activity of lipid peroxidation processes, which was found to be a significant decrease in the content of diene conjugates in the serum of animals compared to control, with the introduction of activated carbon and silicon dioxide: by 50 %, 16 % and 13 %, respectively (p<0.05). The malonic dialdehydes content was also significantly lower (p<0.05) compared to control, with the introduction of activated carbon and silicon dioxide by 20 %, 14 % and 9 %, respectively. Catalase activity was close to normal in animals with medication.

So, based on the results obtained, it can be argued that in chronic alcohol intoxication, apple pectin is significantly more intense than activated carbon and silicon dioxide inhibits the processes of sex, inhibits the development of oxidative stress, exhibits antioxidant activity, and thymic oxidative action.

Morphological studies of liver tissues confirmed the positive therapeutic effect of apple pectin, established by biochemical parameters. The use of the test agent for re-administration to rats of 30 % ethanol solution at a dose of 2 ml / 100 g body weight for 28 days was accompanied by a pronounced regression of fatty degeneration of hepatocytes - from 4.8 to 0.9 according to a semi-quantitative assessment of lipid content. 54 ± 5.68 % and was also close to normal (84.49 ± 5.93 %). The introduction of apple pectin in the therapeutic mode helped to reduce the intensity of the necrotic-apoptotic process in hepatocytes. Regressive changes of liver cells were accompanied by an increase in the area of ​​sinusoidal hemocapillaries and a decrease in the number of fibroblasts, which indicates a suspension of the progression of sclerotic changes in the portal field due to chronic alcohol intoxication and the introduction of apple pectin.

For the first time the effect of apple pectin on pH level in vitro was investigated to find out the mechanisms of its action under two temperature regimes - at 200 and 350 C. It was experimentally proved that apple pectin (pH = 3.7) in a mixture with water (pH = 5.8), 0.1n HCl solution (pH = 1.0) and 40 % ethanol solution (pH = 5.5) causes a shift of the alkaline reaction to pH = 3.6, which may be explained by changes in the physical and chemical properties of apple pectin and an increase in the amount of active dissociated galacturonic acid residues.

Addition to the mixture of HCl and alcohol of the preparation of comparison of activated carbon, changed the reaction to 4.2, and when introduced into the mixture silicon dioxide - to pH = 4.4.

The possible effect of pectin on the pH in the small and large intestine and for the addition of alcohol was investigated. A pH 7.5 buffer was used to simulate the small intestine environment. So, when a mixture of pectin with water and hydrochloric acid hits the small intestine at pH = 7.5, the reaction is substantially shifted to the alkaline side, although it remains weakly acidic and does not change with the addition of alcohol. The combination of an aqueous solution of apple pectin with a buffer with pH = 7.5 also gives an acid reaction - 6.8 and the addition of alcohol does not change this position.

At the same time, the pH of the hydrocarbonate buffer mixtures with water and activated carbon and silicon does not change, and with the addition of alcohol slightly increases the pH to 7.6 and remains alkaline.

An aqueous solution of pectin when mixed with bicarbonate buffer, simulating a medium of the colon with pH = 8.5, caused a sharp shift of the reaction in the acidic direction and the pH was 3.85, and the addition to these ingredients of alcohol slightly changed the reaction to pH=4.3. At the same time, the combination of the same buffer solution with water and the comparison drugs made the reaction alkaline and almost unchanged - pH=8.5.

Apparently, the acidic reaction of apple pectin is one way to bind alcohol and reduce its absorption.

To explain the results of physico-chemical studies, the determination of the zero charge point of apple pectin was performed.

The value of the zero point of the charge or isoelectric point significantly affects the absorption and desorption processes of the ions present in the solutions in the cationic and anionic forms.

The point of zero charge of apple pectin on the pH scale is 3.75. As a result of the study at a pH above 3.69 pectin adsorbs cations of metals or organic matter.

The result confirms the ability of apple pectin to bind (adsorb) alcohol ([C2H5O-] H)+.

The effectiveness of apple pectin at a dose of 0.2 g / 100 g of body weight of rats was experimentally proved. In terms of the standard formula, this is 22 g per person for therapeutic and treatment-and-prophylactic regimens.

The work detoxifies the mechanism of action of apple pectin, which probably consists of several components:

the ability to adsorb alcohol through the appropriate value of the point of zero charge;

partially neutralize the alkaline reaction of ethanol;

reduce alcohol contact with the intestinal wall and therefore the absorption, due to the formation of a gelatinous layer between the mucous membrane and the contents of the stomach and intestine;

increase intestinal motility by increasing intestinal contents and accelerating the elimination of toxicants.

*Key words*: apple pectin, acute and chronic alcohol intoxication, detoxifying effect.

**СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА**

## Haynuk M., Sheremeta L. Тhe apple pectin influence upon the liver histological structure and the activity of lipid peroxidation in experimental acute alcohol intoxication. The Pharma Innovation Journal. 2019. Vol. 8(2). P. 590-593. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті).*

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Вплив яблучного пектину на біохімічні та гематологічні показники у тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2018. № 2(22). С. 280-284. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Haynuk M.B., Sheremeta L.M. The influence of the apple pectin on some biochemical and hematological parameters of alcoholated animals. Medical and clinical chemistry. 2018. Vol. 20 (1). P. 21-25. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Детоксикуючий ефект яблучного пектину за умов експериментальної гострої алкогольної інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2018. № 20 (2). С. 72-76. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М., Багрій М.М. Вплив пектину яблучного на гістоструктуру печінки щурів і активність ПОЛ за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2018. № 2 (58). С. 86-91. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Застосування яблучного пектину при гострій алкогольній інтоксикації в експерименті. Хімія природніх сполук: матеріали ІV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 21-22 квітня 2016. Тернопіль. 2016. С. 110.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М., Гудивок Я.С. Вплив яблучного пектину на активність процесів ПОЛ та поведінкові реакції при експериментальній гострій алкогольній інтоксикації. Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи: матеріали УІІІ Національного з’їзду фармацевтів України, 13-16 вересня 2016 р. Харків. 2016. С. 129.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Фармакологічні ефекти яблучного пектину за умов гострої алкогольної інтоксикації в експерименті. Тези доповідей V Національного з’їзду фармакологівУкраїни, 18-20 жовтня 2017 р. Запоріжжя. 2017. С. 140-141.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Вплив та можливі механізми дії яблучного пектину за умов гострої алкогольної інтоксикації в експерименті. Довкілля і здоров’я: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю, 27-28 квітня 2018. Тернопіль. 2018. С. 57.

## Гайнюк М.Б. Яблучний пектин в якості детоксиканта за умов гострої і хронічної алкогольної інтоксикації. Інновації в медицині: Тези доповідей 88-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю, 28-30 березня 2019. Івано-Франківськ. 2019. С. 83.

## **ЗМІСТ**

### **перелік умовних позначень, скорочень і термініВ**……..……….17

### **ВСТУП**………………………………………………………………………………..…..18

## **розділ 1 Токсичний вплив алкоголю на організм та методи**

## **лікування алкогольної інтоксикації (Огляд літератури)**…...…..….25

* 1. Токсикологічні властивості етилового спирту ……….…….………………..….25
  2. Засоби для лікування гострого алкогольного отруєння та хронічного

алкоголізму. Основні механізми дії препаратів, що використовуються………..34

* 1. Пектини (структура, ефекти, механізми дії). Властивості яблучного

пектину та його застосування в медицині і фармації………………………...….39

### **розділ 2 МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**…………………..………….46

* 1. Тест-системи……….………………………………………………........................46
  2. Модель гострої інтоксикації етанолом.… …………………………….…………51
  3. Модель підгострої інтоксикації етанолом.…… ……………………..……….….52
  4. Модель субхронічної інтоксикації етанолом…….…………………..……….….52

2.5 Морфологічні дослідження ………….……………….……………………..……54

* 1. Дослідження in vitro ………………………………………………………………56
  2. Методи статистичної обробки отриманих даних…………….……..…………...57

**РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕТОКСИКУЮЧОЇ ДІЇ ЯБЛУЧНОГО ПЕКТИНУ ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**……………………………………………….58

3.1 Дослідження детоксикуючої дії яблучного пектину за гострого отруєння етиловим спиртом ..………….…………….……….………………………………….…58

3.1.1 Гематологічні та біохімічні показники крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації та одноразового введення яблучного пектину ………………………..…63

3.1.2 Визначення вмісту алкоголю в крові алкоголізованих щурів методом газо-рідинної хроматографії…………………………………….………………………..…...69

3.1.3. Гематологічні та біохімічні показники крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації та дворазового введення яблучного пектину та препаратів порівняння………………………...………………………………………………………72

3.2 Дослідження детоксикуючої дії яблучного пектину за підгострої та субхронічної інтоксикації етанолом……………………………………………………………...…….79

3.2.1 Гематологічні та біохімічні показники крові тварин за підгострої алкогольної інтоксикації та введення яблучного пектину..……………...…………..82

3.2.2 Біохімічні показники крові тварин за субхронічної алкогольної інтоксикації та введення яблучного пектину ……………..………………………………….…….....…87

**РОЗДІЛ 4 МОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ**…………………………….………96

4.1 Дослідження впливу яблучного пектину на морфологічну структуру печінки за гострої алкогольної інтоксикації……....……………………………….………………..96

4.2 Дослідження впливу яблучного пектину на морфологічну структуру печінки за хронічної алкогольної інтоксикаці………………………………..……………………107

**РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЯБЛУЧНОГО ПЕКТИНУ IN VITRO**…117

5.1 Вплив яблучного пектину на рівень рН у середовищах, що імітують умови шлунку, тонкої та товстої кишки……………..………………………………………...118

5.2 Дослідження сорбційних властивостей яблучного пектину ……….……...….122

**АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ**…………......125

**ВИСНОВКИ**………………………………………………………………………....…141

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**…….……………………….…………......143

**ДОДАТКИ**…………………………………………………………………….………...162

### **перелік умовних позначень, скорочень і термінів**

## АВ – активоване вугілля

## АДГ – алкогольдегідрогеназа

## АлАТ – аланін-амінотрансфераза

АОА – антиоксидантна активність

## АсАТ – аспартат-амінотрансфераза

### АФК – активні форми кисню

ВРО – вільнорадикальне окиснення

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДК – дієнові кон’югати

КД – кремнію диоксид

КТ – каталаза

ЛЗ – лікарські засоби

## МДА – малоновий диальдегід

МСМ – молекули середньої маси

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

ЯП – яблучний пектин

**ВСТУП**

**Актуальність теми**. Алкоголь є чи не найдавнішою з усіх відомих на сьогодні психо-активних речовин, яку широко вживає населення Земної кулі у достатньо великих кількостях. Україна не є винятком. За даними ВООЗ 2016 року середнє споживання чистого алкоголю на 1 людину у світі становило 6,4 л, в Європі – 11,2 л, а в Україні – 13,8 л. Смертність від гострого отруєння та захворювань, пов’язаних з алкоголем (цирозу печінки, раку та травм) у 2016 році за світовою статистикою становила 3 мільйони людей, з них в Україні – понад 18500. При цьому, слід зазначити, що найвища летальність спостерігається у людей молодого віку від 20 до 34 років. Гострі алкогольні отруєння трапляються нечасто і, в основному, викликані сурогатним алкоголем. Хронічне отруєння, алкогольна залежність або алкоголізм є головною причиною розвитку таких захворювань, як алкогольна хвороба печінки, цироз печінки та рак [Frakes Vozzo C. Et al., 2018; Lamas-Paz A. Et al. 2018]. Крім того, тривале вживання алкоголю суттєво змінює обмін білків, вуглеводів і ліпідів, що призводить до розвитку метаболічного синдрому, ускладнень цукрового діабету, захворювань серцево-судинної, нервової, травної систем [Lieber C.S, 1997; Афанасьев В.В. і співавт., 2018].

Лікування гострого отруєння у всіх країнах світу проводять згідно до стандартизованих протоколів надання медичної допомоги, які, залежно від стадії і важкості інтоксикації, включають препарати різних фармакологічних груп: плазмозамінники, транквілізатори, антагоністи опіатних рецепторів, засоби, що прискорюють метаболізм алкоголю та його метаболітів [Шаяхметова Г.В., 2015], ентеросорбенти та ін.

За хронічного алкоголізму лікування спрямоване за двома шляхами: по-перше, на зменшення потягу до алкоголю, а по-друге, на корекцію порушень функцій нервової, серцево-судинної, гепато-біліарної, ендокринної систем [Кияк Ю.А., і співавт. 2015; Hvidtfeldt U.A. et al. 2010]. Як у випадку гострого, так і хронічного отруєння показані ентеросорбенти. Згідно до АТС класифікації – це група А07ВС – кишкові адсорбенти, до яких належить пектин.

Пектин – гетерополісахарид рослинного походження, що має властивості сорбента і пребіотика [Tian L. Et al., 2016; Wang R., 2019]. Пектини використовують в якості ентеросорбентів за інтоксикації солями важких металів [Буцяк Г.А. і співавт. 2010; Koriem K.M. і співавт., 2013], впливу іонізуючої радіації [Nesterenko V.B., Nesterenko A.V. і співавт., 2004], кишкових інфекціях [Крамарєв С.О., 2016; Малий В.П. і співавт., 2019]. Добова потреба в пектині в раціоні дорослої людини становить 5–6 г. [Нечаев А.П. і співавт., 2004]. Дозування пектину за переліченими показаннями, згідно до даних літератури, становить для дорослих 12-15 г на добу.

Пектин має високу ефективність завдяки великій площі активної поверхні та виводить з організму токсини, іони важких металів; є безпечним, без травматичної дії на слизову оболонку шлунково-кишкового тракту (ШКТ) на відміну від активованого вугілля (АВ); не викликає закрепів, не впливає на мікробіоценоз кишківника і має пребіотичні властивості.

Одним із важливих показників, що характеризують властивості адсорбентів є величина сорбційної поверхні. Так, для яблучного пектину (ЯП) вона становить   
220 м2/г [Запотоцька О.В., 2013]; для активованого вугілля (АВ) – 1,5-2 м2/г, а для кремнію диоксиду (КД), «білого вугілля» - 400 м2/г [Григ Н.І., 2015].

Проте, у доступній літературі відсутні дані про системні експериментальні та клінічні дослідження застосування порошку ЯП в якості сорбента за інтоксикації алкоголем. Сировинна база для виробництва пектину в Україні є достатньою для продукції 5 тис. тон на рік, що планується після відкриття заводу групи компаній Т.В. Fruit у м. Городок Львівської області у 2020 р.

Глобальність проблеми лікування алкогольних отруєнь, фармакологічні властивості (зокрема, сорбційні та пребіотичні), практично відсутність токсичності та побічних ефектів, здатність утворювати гелеподібний захисний шар між вмістом та слизовою оболонкою шлунково-кишкового тракту та потенціал вітчизняного виробництва ЯП зумовили обрану тему та мету дослідження.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана згідно до плану наукових досліджень Державного вищого навчального закладу «Івано-Франківський національний медичний університет» і є фрагментом науково-дослідних робіт кафедри фармакології «Фармакологічне обґрунтування використання деяких лікарських речовин і засобів природного та синтетичного походження у комплексній корекції захворювань внутрішніх органів та шкіри» (№ державної реєстрації 0115U001726). Тема затверджена Вченою Радою ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (протокол № 4 від 26 березня 2019 року) та проблемною комісією «Фармакологія» МОЗ України (протокол №3 від 25.11.2015 р.).

**Мета дослідження**: Експериментальне обґрунтування детоксикуючої дії яблучного пектину за гострих та хронічних отруєнь етиловим спиртом.

**Завдання дослідження**. Для досягнення поставленої мети були визначені наступні задачі:

1. Провести порівняльні дослідження впливу яблучного пектину та препаратів порівняння – активованого вугілля та кремнію диоксиду, уведених перорально у лікувальному та лікувально-профілактичному режимах за умов гострої алкогольної інтоксикації, на виживання щурів, окремі вітальні функції (частота дихання, температура тіла), поведінкові реакції, масу тіла та специфічні маркери порушення гомеостазу в організмі у відповідь на вживання алкоголю (поведінкові реакції, морфологічні та морфометричні показники стану печінки, кількісний склад еритроцитів та гемоглобіну, активність ферментів-біомаркерів алкоголю, параметри білкового, ліпідного та вуглеводного обміну, стан ПОЛ).

2. Оцінити ефективність яблучного пектину за підгострої інтоксикації етанолом у щурів (введення розчину етилового спирту протягом 11 діб) шляхом визначення впливу на летальність, вітальні функції, масу тіла, показники порушення гомеостазу в організмі внаслідок вживання алкоголю та порівняти її з дією препаратів порівняння – активованого вугілля та кремнію диоксиду.

3. Дослідити вплив яблучного пектину, активованого вугілля та кремнію диоксиду на показники летальності, вітальні функції, масу тіла, масовий коефіцієнт печінки, біомаркери алкоголю, активність перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і морфологічну структуру тканини печінки щурів за умов отруєння алкоголем, уведеним протягом 28 діб.

4. В дослідах in vitro, що імітують середовище різних відділів ШКТ, визначити вплив ЯП та препаратів порівняння, активованого вугілля та кремнію диоксиду, на рН за різних температурних режимів.

5. Сформулювати та науково обґрунтувати можливі механізми детоксикуючої дії яблучного пектину за умов алкогольної інтоксикації.

**Об’єкт дослідження**. Фармакологічна корекція гострого та хронічного отруєння етиловим спиртом.

**Предмет дослідження**: фармакотерапевтична ефективність порошку яблучного пектину за умов гострої та хронічної алкогольної інтоксикації.

**Методи дослідження.** Для розв’язання поставлених задач були використані бібліографічні, патофізіологічні, фармакологічні, гематологічні, біохімічні, морфологічні, фізико-хімічні та статистичні методи досліджень.

**Наукова новизна одержаних результатів** полягає в тому, що дисертація містить нові науково-обгрунтовані та експериментально доведені результати досліджень, які визначають фармакологічні ефекти яблучного пектину, механізми його дії та доводять можливість коригування гомеостазу за умов алкогольної інтоксикації.

В дослідах на лабораторних тваринах оцінено ефективність яблучного пектину як засобу фармакологічної корекції токсичної дії на організм етилового спирту та експериментально обґрунтовано доцільність його застосування за умов гострого та хронічного отруєння етанолом.

Встановлено, що за специфічними критеріальними показниками гострої інтоксикації етиловим спиртом - виживання, вміст алкоголю, неврологічний статус (координація рухів, пізнавальна активність), температура тіла і частота дихальних рухів - найефективнішим серед досліджених сорбентів за лікувальної та лікувально-профілактичної схеми застосування є яблучний пектин.

На основі комплексного підходу показано, що яблучний пектин за гострого отруєння етанолом та повторного перорального введення щурам етилового спирту у токсичних дозах протягом 11 та 28 днів дозволяє нормалізувати біохімічні показники білкового, ліпідного, вуглеводного обміну, маркерів гепатоцитолізу, кількості еритроцитів і вмісту гемоглобіну в периферичній крові щурів, сприяє зменшенню дистрофічних порушень печінки та активації репаративних процесів у гепатоцитах.

Встановлено, що ЯП попереджає активацію ПОЛ, нормалізуючи про-антиоксидантний статус організму дослідних тварин за інтоксикації етанолом, переважаючи антиоксидантну дію активованого вугілля та кремнію диоксиду.

За даними фізико-хімічних досліджень доведено, що механізм детоксикуючої дії яблучного пектину за алкогольної інтоксикації зумовлений його здатністю адсорбувати катіони органічних сполук та частково нейтралізувати алкоголь, змінюючи рН середовища.

**Практичне значення дослідження.** На основі фармакологічних, біохімічних, патофізіологічних та морфологічних методів досліджено ефективні схеми застосування яблучного пектину в якості детоксиканта за гострого алкогольного отруєння та повторного прийому етанолу в токсичних дозах. Одержані результати є підґрунтям для подальших поглиблених досліджень та розробки лікарського засобу на основі яблучного пектину для впровадження його в медичну практику з метою застосування як фармакотерапевтичного засобу при отруєнні етиловим спиртом.

Основні результати досліджень впроваджені в науково-педагогічний процес кафедр фармакології Вінницького національного медичного університету імені М.І.Пирогова (протокол №3 від 12.10.2018р.), кафедри фармакології та клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія» (протокол №6 від 19.12.2018р.), кафедр фармакології Національного фармацевтичного університету (протокол №15 від 13.12.2018р.), ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України» (протокол №11 від 18.12.2018р.), ДВНЗ «Буковинський державний медичний університет МОЗ України» ( протокол №9 від 29.12.2018р.).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Автором проведено огляд наукових літературних джерел, визначені мета, завдання дослідження, здійснено фармакологічні експериментальні дослідження, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних. Патоморфологічні дослідження проведені за безпосередньої участі дисертанта на кафедрі патоморфології Івано-Франківського національного медичного університету за консультативної допомоги к.мед.н., доцента Багрія М.М.

В наукових працях, опублікованих у співавторстві з Л.М. Шереметою,   
Я.С. Гудивок та М.М. Багрієм, дисертант особисто провела аналіз літературних джерел, опрацювання первинного експерименту, його аналіз у межах поставленої мети дослідження.

**Апробація результатів дисертації**. Основні положення та результати

дисертаційної роботи представлено та обговорено на науково-практичних форумах:

- VІІІ Національному з’їзді фармацевтів України «Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016).

- V Національному з’їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017).

- ІV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природніх сполук» (Тернопіль, 2016);

- Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Довкілля і здоров’я» (Тернопіль, 2018).

- 88-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2019).

Публікації. Дисертантом опубліковано 10 наукових праць за темою дисертації, з них:

5 статей: 4 – у вітчизняних фахових виданнях, 1 – у закордонному виданні (рец. Index Copernicus) (Індія);

5 тез на з’їздах і науково-практичних конференціях.

**Структура та обсяг роботи.** Робота викладена на 171 сторінці (обсяг основного тексту 124 сторінки) і складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 6 розділів власних досліджень, висновків та списку використаних джерел, який включає 160 джерел, серед яких 72 – кирилицею та 88 – латиницею. Робота проілюстрована 28 таблицями, 18 рисунками.

**розділ 1**

**Токсичний вплив алкоголю на організм та методи лікування алкогольної інтоксикації**

**(Огляд літератури)**

Проблеми, пов’язані зі зловживанням алкоголю – це не тільки гострі та хронічні отруєння, алкогольна залежність, але й розвиток чи ускладнення хронічних захворювань центральної нервової системи, серця і судин, печінки та шлунково-кишкового тракту в цілому, ендокринної системи, канцерогенез та ін.

Лікування алкоголізму та його ускладнень може бути ефективним на початкових стадіях, і тривале та комплексне, практично, безрезультативне на етапі розвитку залежності.

Вплив алкоголю на організм та існуючим на даний час можливостям лікування алкогольної інтоксикації, а також властивостям обраного нами для дослідження яблучного пектину (ЯП) присвячений даний розділ роботи.

* 1. **Токсикологічні властивості етилового спирту**

Етанол, С2Н6О, будь-якого походження (зерновий, виноградний, фруктовий, синтетичний та ін.) давно використовується людством у різних концентраціях і з різною метою. Алкогольні напої різної міцності широко вживають у всьому світі, а отже і проблеми, пов’язані з цим, є глобальними [152]. Завдяки невеликому розміру молекули і гідроксильній групі добре розчиняється у воді та ліпідах, що сприяє його вільному переходу з рідин тіла у клітини. Алкогольні напої переважно всмоктуються у тонкій кишці і тільки 20 % від спожитої дози всмоктуються у шлунку, де відбувається пресистемний метаболізм етанолу за допомогою алкогольдегідрогенази, котра продукується мікробною флорою шлунку. У здорових людей прийнятий натще алкоголь повністю всмоктується протягом 1 години після одноразового приймання. Після всмоктування через портальну циркуляцію з кишечника етанол проходить спочатку через печінку, де метаболізується основна його маса. Швидкість окиснення етанолу після одноразового вживання становить приблизно 100 мг/кг /год для чоловіків і 85 мг/к /год для жінок. При вживанні алкоголю в дозі 1 г / кг (пікова концентрація етанолу в крові - близько 1,0 г/л) ацетальдегід виявляється в крові на протязі 3-х годин в концентраціях 0,0001 - 0,001 г/л [93].

Процес окиснення етанолу може відбуватись принаймні трьома різними ферментативними шляхами. Найбільш вагомим варіантом є окиснення під впливом цитозольної АДГ гепатоцитів, яка активується за участі НАД+ і перетворює етанол на ацетальдегід, котрий далі під впливом мітохондріальної альдегіддегідрогенази окиснюється до ацетату [43]. Окиснення етанолу в печінці під впливом АДГ не залежить від його концентрації. Другим основним шляхом метаболізму алкоголю є мікросомальна система окиснення етанолу (МСОЕ), яка включає фермент цитохром Р450 CYP2E1 і потребує НАДФ. МСОЕ включає активність цитохрому P450, що відповідає за окиснення етанолу, і що ця активність відрізняється від АДГ і каталази. Етанол-індукований цитохром Р450, присутній в МЕОС, був очищений і позначений як CYP2E1. Індукція мРНК і ферментативної активності CYP2E1 коливається від 4 до 10 разів у печінці після споживання алкоголю. Враховуючи, що шлях метаболізму етанолу в МСОЕ індукується у хронічних алкоголіків, підвищення метаболізму етанолу, ймовірно, сприяє метаболічній толерантності алкоголіків до нього, що, в свою чергу, сприяє подальшому вживанню алкоголю. Активність CYP2E1 також є важливою в метаболізмі декількох ксенобіотиків, особливо тих, що містяться в сигаретному димі (наприклад, бензол і нітрозаміни) [43]. Таким чином, підвищений рівень експресії цього ферменту у алкоголіків може мати значний вплив на вироблення токсичних метаболітів, і це, як вважають, сприяє індукованому етанолом пошкодженню печінки [2, 4, 111].

Третій шлях перетворень - неокислювальний, що призводить до утворення етилових ефірів жирних кислот і відбувається в першу чергу в печінці і підшлунковій залозі – органах дуже чутливих до токсичного впливу алкоголю.

Ще один із можливих варіантів – метаболізм етанолу в пероксисомах через активність каталази. Так, розщеплюється близько 2 % спирту і це не відіграє великої ролі в метаболізмі алкоголю у людей, що не зловживають алкоголем, але у хронічних алкоголіків цей відсоток є значно більшим. Окиснення етанолу каталазою залежить від концентрації його у тканинах [4]. Об’єм розподілу етанолу в організмі складає 0,53л/кг, а швидкість розподілу в рідких середовищах прямо пропорційна швидкості кровотоку [43, 152].

Відмінності в швидкості абсорбції, розподілу та елімінації алкоголю значною мірою сприяють розвитку клінічних проявів, що спостерігаються за хронічного споживання алкоголю. Ці відмінності пояснюються як генетичними, так і екологічними факторами, статтю, схемою вживання алкоголю, голодуванням або харчуванням, хронічним вживанням алкоголю [98]. Оскільки поліморфізми АДГ та альдегіддегідрогенази відіграють важливу роль у визначенні пікових рівнів ацетальдегіду крові та бажання вживати алкоголь, вони також впливають на чутливість до алкогольної залежності [107]. Крім того, певні білки особливо сприйнятливі до утворення комплексів з ацетальдегідом. До них належать білки на мембранах еритроцитів, ліпопротеїни, гемоглобін, альбумін, колаген, тубулін і кілька цитохромів, включаючи CYP2E1 [110]. Вважають, що не менше 15 % циркулюючого у крові ацетальдегіду зв’язані з гемоглобіном, такі сполуки стабільні і мають напівперіод життя 5,5 днів. Утворення стійких комплексів ацетальдегіду з гемоглобіном може призвести до зниження здатності зв’язувати і транспортувати кисень, а отже до гіпоксії та анемії [95, 117]. За хронічного алкоголізму спостерігається мієлосупресія, що супроводжується зменшенням кількості клітин крові. Алкоголіки страждають на помірну анемію, зниження кількості лейкоцитів, особливо нейтрофілів, різного ступеня зменшення кількості тромбоцитів [92]. За хронічного алкоголізму часто спостерігається мегалобластичний тип еритропоезу через дефіцит ціанокобаламіну та фолієвої кислоти [73, 117, 128].

Ще однією особливістю алкогольного обміну є генерування АФК, які значною мірою регулюються (і які можуть посилюватися) сімейством CYP2E1 [107]. Ці активні радикали зазвичай виробляються мітохондріями, ендоплазматичним ретикулумом або клітинами Купфера. Вони швидко утворюють різноманітні активні метаболіти, які можуть додатково сприяти окислювальному стресу в гепатоцитах [110]. Крім того, ацетальдегід, основний метаболіт етанолу С2Н4О, є потужним гепатотоксином. Чисельні дослідження показують, що індуковане ацетальдегідом пошкодження печінки відбувається за допомогою механізмів, що сприяють виснаженню глутатіону, токсичності АФК та пероксидації ліпідів [ 84, 85, 102, 110].

Таким чином, метаболізм етанолу може призвести до прямих біохімічних змін гепатоцитів, включаючи цитотоксичні метаболіти, накопичення АФК та перекисного окислення ліпідів. Важливо, що всі ці наслідки можуть додатково викликати складні патологічні реакції, які з часом спричиняють пошкодження печінки: запалення, різні типи загибелі клітин (переважно апоптоз та некроз), стеатоз, фіброгенез і навіть дегенерацію печінки [113, 121].

Клітина регулює кількість АФК через систему антиоксидантного захисту, що включають різні антиоксидантні сполуки (наприклад, глутатіон, GSH). Оскільки ацетальдегід зв’язує SH-групи глутатіону і цим зменшує кількість відновленого глутатіону в клітині, тим самим обмежує активність і функції глутатіонпероксидази, яка приймає участь у катаболізмі перекису водню. Під час окислення етанолу виробництво АФК різко зростає внаслідок індукції CYP2E1 і активації клітин Купфера в печінці. Накопичення вільних радикалів індукує активацію ПОЛ мембран і порушення структури ліпідного шару [126]. Як гостре, так і хронічне споживання алкоголю може збільшити продукцію АФК і призвести до оксидативного стресу [85]. На початкових стадіях алкоголізму окиснення ацетил-КоА у циклі Кребса є основним джерелом енергії для клітини [43]. У цитоплазмі починається синтез жирних кислот і триацилгліцеролів, розвивається гіпертриацилгліцеролемія. За хронічного алкоголізму зменшення синтезу фосфоліпідів і протеїнів у печінці викликає накопичення триацилгліцеролів у гепатоцитах та ожиріння печінки [127]. За гострої алкогольної інтоксикації збільшується синтез кетонових тіл, підвищується концентрація лактату та ацетооцтової кислоти, що є причиною метаболічного ацидозу [43, 121]. Крім того, метаболізм етанолу за хронічної інтоксикації призводить до зменшення окиснення жирних кислот і перетворення вуглеводів у ліпіди, збільшення триацилгліцеролів, викликає жирову інфільтрацію і печінкову недостатність [4, 9, 42]. Порушення енергетичних процесів пов'язане також із збільшенням утворенням аміаку, який відволікає 2-оксіглутарат з циклу Кребса. Мітохондрії в зв'язку з цим відчувають дефіцит сукцинату – найбільш потужного енергетичного джерела серед усіх субстратів циклу трикарбонових кислот. Ацетальдегід, завдяки високій реакційній здатності своєї карбонільної групи, майже не циркулює у вільному вигляді. Його здатність до прямої, неферментативної взаємодії поширюється насамперед на білки і визначається можливістю вступати до ковалентної взаємодії з їх аміно- і сульфгідрильними групами [145]. Вступаючи у взаємодію зі структурними та функціональними білками плазми і формених елементів крові, клітинних елементів ендотелію судин і інших тканин, ацетальдегід порушує їх структурну організацію і функціональну активність [102, 110].

Важливе значення має інгібіція білкового обміну. При хронічній алкогольній інтоксикації розвивається порушення білковосинтезуючої функції печінки, що проявляється зниженням рівнів альбуміну, глобуліну, факторів згортання крові порушенням репаративних процесів і розвитком дистрофічних процесів у різних органах [30, 41, 48] .

Хоча метаболізм етанолу відбувається переважно в гепатоцитах, ферменти, що беруть в цьому участь окислювальному метаболізмі алкоголю, також присутні в слизовій оболонці кишечника, а кишкові бактерії також виробляють ацетальдегід в ШКТ [89, 108, 109]. Крім того, рідше неоксидативний метаболізм алкоголю відбувається в кишечнику через реакції з мембранними фосфоліпідами та / або вільними жирними кислотами. Цей альтернативний шлях може стати особливо актуальним, коли кишкові пошкодження виникають після хронічного вживання алкоголю [110]. Як тонка, так і товста кишка можуть пошкоджуватись алкоголем та його метаболітами внаслідок окислювального та неоксидативного обміну речовин. Метаболізм алкоголю в ШКТ може призвести до порушення тканинного гомеостазу і хронічного запалення слизової оболонки кишок [126, 127]. Основними механізмами розвитку ураження кишок за впливу алкоголю є бактеріальний дизбіоз, надмірне зростання кількості бактерій, підвищення проникності кишкової стінки, пригнічення локального імунітету [79, 99].

Дослідження показують, що алкоголь сприяє як дисбактеріозу, так і бактеріальному розростанню, що, в свою чергу, призводить до збільшення вивільнення ендотоксинів, які продукуються грамнегативними бактеріями. Ендотоксини активують білки та імунні клітини, що сприяють розвитку запалення [79]. Збільшення кишкової проникності полягає в порушенні самих епітеліальних клітин (трансепітеліальна проникність) та зміні проміжків між ними (параклітинна проникність), які складаються з тісних з’єднань, цитоскелету та кількох асоційованих білків. Транс-епітеліальна проникність обумовлена прямим пошкодженням клітин [86]. Вважається, що спричинене алкоголем запалення кишок сприяє як розвитку раку та запальних захворювань кишечника, так і поза шлунково-кишковим трактом у вигляді захворювань печінки та нейрозапалення [99, 129].

За останні роки набула популярності ідея «кишково-мозкової вісі». Хоча не дивно, що мозок може контролювати функцію кишечника, уже є достатньо доказів, що кишка може взаємно впливати на функцію мозку. Основним рушієм цієї поведінки кишечника для контролю мозку у людини є результат життєдіяльності мікробіому кишечника [79, 99]. Переконливі докази змін у кишечнику, що призводять до змін у мозку, полягають у результатах лікування печінкової енцефалопатії, яка розвивається як наслідок відмови печінки фільтрувати молекули аміаку, що утворюються бактеріями кишечника, а це призводить до накопичення цих малих молекул в мозку, що викликає астроцитарний набряк. Печінкова енцефалопатія лікується лактулозою, проносним та пероральним рифаксиміном, антибіотиком, який первинно залишається в просвіті кишечника і мало всмоктується [79]. Обробляючи лише кишечник, можна лікувати патологію центральної нервової системи. Більш прямі докази цього є результатами двох незалежних досліджень, де трансплантація вмісту кишок від однієї тварини до іншої могла неодноразово викликати зміни поведінки [79, 99].

Виділяють також постінтоксикаційний стан, що виникає при вживанні алкоголю в дозах, які перевищують 1,0 г/кг, і розвивається після зниження концентрації етанолу в крові до 0,2 г / л і нижче. Виразність цього стану прямо залежить від кількості спожитого алкоголю і тяжкості інтоксикації [21, 111, 116]. Тяжкість перебігу у різних осіб за умови вживання однакової дози етанолу сильно варіює. Це пояснюється етнічними, віковими та індивідуальними особливостями метаболізму алкоголю, що визначають інтенсивність процесів продукції і окиснення ацетальдегіду в печінці. З віком тяжкість постінтоксикаційного стану збільшується. Характерними ознаками названого синдрому є біль голови, диспепсичні розлади, проблеми з концентрацією уваги, пригнічення психомоторних і поведінкових реакцій, що може створювати проблеми при виконанні службових обов’язків або керуванні автотранспортом [ 91, 113, 121, 127].

Хронічне зловживання етанолом сприяє спектру метаболічних порушень, які часто зустрічаються у алкоголіків. Ці порушення включають алкогольну хворобу печінки, гіперліпідемію, лактоацидоз, кетоацидоз і гіперурикремію. Першою стадією ураження печінки після хронічного споживання алкоголю є поява жирової дистрофії печінки, що супроводжується запаленням, апоптозом, фіброзом і, нарешті, цирозом [4, 42, 103, 116].

Печінка та мозок взаємодіють різними способами, щоб забезпечити нормальну роботу мозку. Печінка також виводить з крові токсичні речовини, в тому числі речовини, що утворюються в мозку та інших тканинах і повинні бути виведені з організму, в тому числі і нейротоксичні. Таким чином, порушення детоксикуючої функції печінки може викликати порушення роботи мозку і навіть сприяти пошкодженню мозку.

Дисфункція печінки різного ступеня тяжкості є частим ускладненням хронічного зловживання алкоголем. Коли печінка стає фіброзною і циротичною, кількість функціональних гепатоцитів зменшується, а печінка втрачає здатність виводити токсичні речовини з крові. Дослідники виділили декілька токсинів, які зазвичай виводяться в печінці, але виявляються в обігу хворих на алкогольний цироз, включаючи аміак, марганець та хімічні речовини, звані меркаптанами, всі вони легко потрапляють у мозок і є нейротоксичними. Отже, функція мозку у пацієнтів із важким алкогольним захворюванням печінки порушена, що призводить до стану, відомого як печінкова енцефалопатія або портально-системна енцефалопатія [85, 95, 96, 121, 125].

Відомо, що хронічне споживання алкоголю значно підвищує ризик розвитку раку стравоходу та ротової порожнини, нирок і підшлункової залози, а також відіграє важливу роль у розвитку раку печінки [78, 107, 144]. Як зазначено вище, метаболізм етанолу призводить до збільшення продукції ацетальдегіду і АФК, а комплекси ацетальдегіду з білками сприяють розвитку раку [14, 82, 145]. Крім того, індукція CYP2E1 призводить до збільшення продукції АФК і всіх пов'язаних з ними клітинних порушень, включно з онкологічними захворюваннями [78, 144].

Чисельні багатоцентрові дослідження, проведені в Європі та Північній Америці, підтверджують суттєвий вплив зловживання алкоголем на перебіг і летальність від серцево-судинних захворювань [28, 114, 131, 136]; зростання ускладнень цукрового діабету [88, 143]; збільшення частоти ускладнень у людей з патологією ЦНС, зростання захворюваності на інфекційні захворювання (в тому числі і такі, що передаються статевим шляхом), порушення функцій ШКТ [145]. Особливо небезпечним є вживання і зловживання алкоголем протягом вагітності [152].

Вживання алкоголю є однією з найчастіших причин дорожньо-транспортних пригод з летальними наслідками у світі і в Україні зокрема, а також домашнього насильства, кримінальних злочинів та виробничого травматизму [98].

Діагностика гострих і хронічних отруєнь грунтується на відповідному анамнезі, визначенні вмісту алкоголю у біологічних рідинах – крові, сечі та волоссі різними методами [21, 40, 41], у тому числі, і методом газо-рідинної хроматорафії (ГРХ) [5, 56, 72], а також за показниками біомаркерів алкоголізму [21, 56, 83, 106]. До прямих біомаркерів алкогольної інтоксикації, валідних за гострої алкогольної інтоксикації належать: вміст алкоголю в крові (ГРХ); етилглюкуронід та етилсульфат, котрі визначаються до 36 год у крові та до 5 днів у сечі після вживання алкоголю, але чутливість даних методів значно знижується через 24 год та за вживання малих доз [74]. За умов хронічної інтоксикації специфічними і високочутливими маркерами є вуглевод-дефіцитний трансферин та фосфатидилетанол [106]. До неспецифічних біомаркерів відносять показники активності АлАТ, АсАТ, гама-глютамилтрансферази [45], та середній об’єм молекул [72]. Позитивним моментом у визначенні названих біомаркерів є те, що виявити вживання алкоголю за їх змінами можна протягом 3-6 тижнів після такого, а негативним – те, що ці зміни не є специфічними лише для впливу алкоголю і можуть бути підвищеними за інших патологічних або фізіологічних станів [106].

* 1. **Засоби для лікування гострого алкогольного отруєння та хронічного алкоголізму. Основні механізми дії препаратів, що використовуються**

Ступінь алкогольного отруєння визначається вмістом алкоголю в крові. Лікування гострого алкогольного отруєння у всьому світі проводиться згідно до стандартних протоколів надання медичної допомоги [27].

Ступінь гострої інтоксикації визначається за вмістом алкоголю в крові. Згідно до прийнятої класифікації розрізняють наступні ступені сп’яніння:

легкий ступінь – концентрація етанолу в крові від 1 до 1,5 ‰;

середній ступінь – концентрація етанолу в крові від 1,5 до 3 ‰;

тяжкий ступінь – концентрація етанолу в крові від 3 до 5 ‰;

алкогольна кома – концентрація етанолу в крові від 5 ‰ та більше.

Летальна доза 96 % етанолу коливається в межах від 4 до 12 г /кг маси тіла.

Концентрація етанолу в крові більша за 6 ‰ є смертельною [25, 42].

Лікування залежить від ступеня інтоксикації – як правило, легкий ступінь не потребує медикаментозного втручання, середній, тяжкий та стан алкогольної коми вимагають проведення нефармакологічних та фармакологічних заходів [57].

Згідно до Протоколу надання медичної допомоги необхідна корекція дегідратації, гіпоглікемії, водно-електролітного балансу, введення препаратів вітамінів В і С. З метою виведення алкоголю, що не всмоктався, проводять промивання шлунку та введення сорбентів [57]. Рекомендоване використання препаратів, що зменшують концентрацію алкоголю та ацетальдегіду в крові – метадоксину, та відновлюють пригнічене дихання і нормалізують артеріальний тиск через блокаду опіатних рецепторів – налоксону [42, 57, 83]. Налоксон впливає на опіатні рецептори, які, як вважають, мають безпосереднє відношення до розвитку алкоголізму через генетичні механізми. Налоксон застосовують за гострого отруєння алкоголем, а препарат з тієї ж групи – налтрексон – застосовують у лікуванні алкогольної залежності за хронічної алкогольної інтоксикації.

Метадоксин збільшує активність алкогольдегідрогенази та ацетальдегіддегідрогенази, чим прискорює окиснення алкоголю і його метаболітів, зниження концентрації у крові і зменшує токсичність [83, 76].

Метадоксин – це селективний антагоніст підтипу 5-HT2B серотонінових рецепторів, що має високу афінність до гамма-аміномасляної кислоти і діє як моноамін-незалежний модулятор ГАМК. Не впливає на рівень дофаміну, норепінефрину або серотоніну [64]. У дослідженнях на тваринах метадоксин підвищував активність ферменту ацетальдегіддегідрогенази, перешкоджав зниженню активності АДГ у тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією, прискореним плазмовим і нирковим кліренсом етанолу, зменшував утворення триацилгліцеролів, попереджував розвиток стеатозу печінки та викликав підвищення рівня глутатіону в гепатоцитах і пригнічення активності процесів ПОЛ [64]. Метадоксин включений до протоколів лікування гострої та підгострої алкогольної інтоксикації у США та деяких європейських країнах [64, 76, 83].

Наступним препаратом, схваленим для лікування хронічного алкоголізму, був акампрозат. Вперше затверджений як лікування алкогольної залежності в Європі в 1989 році, згодом акампрозат був зареєстрований і дозволений до використання у США, Канаді та Японії. Хоча точні механізми дії акампрозату досі не вивчені повністю, є дані, що він модулюює гіперактивні глутаматергічні стани, можливо, діючи як агоніст рецептора N-метил-D-аспартату [76, 83].

Ентеросорбція рекомендована протягом усього гострого періоду інтоксикації. Із препаратів сорбентів рекомендуються гідрогель метилкремнієвої кислоти, активоване вугілля, або інші сорбенти [25, 27, 40, 57].

У лікуванні хронічного алкоголізму (хронічної інтоксикації алкоголем) використовують препарати різних хімічних груп, які поділяються за фармакодинамічними ефектами та походженням, але в основі призначення ЛЗ лежить здатність до формування негативного умовного рефлексу на алкоголь, що грунтується на зміні перебігу метаболізму етанолу. Найбільш поширеним є метод лікування алкогольної залежності застосуванням дисульфіраму (антабусу). Дисульфірам блокує окиснення етанолу на етапі утворення ацетальдегіду і збільшує його концентрацію в крові у 5-10 разів, чим викликає розвиток неприємних симптомів за вживання навіть невеликої кількості алкоголю. Дисульфірам не впливає на швидкість виведення алкоголю, до нього не розвивається толерантність [75].

В Україні, згідно до «Клінічного протоколу надання медичної допомоги хворим з психічними та поведінковими розладами внаслідок вживання алкоголю» [40] у лікуванні застосовують такі групи ЛЗ, як психолептики, протиепілептичні препарати, вітаміни, гепатопротектори, периферичні вазодилятатори, засоби для зменшення ендотоксикозу та проявів енцефалопатії, про- і пребіотики.

Тривале зловживання алкоголем призводить до розвитку алкогольної хвороби печінки [3], котра може трансформуватись у цироз чи рак. Проблема алкогольного гепатиту та фіброзу потребує відповідного лікування, а отже препарати з групи гепатопротекторів, вітамінів та пре- та пробіотиків є необхідними складовими комплексного лікування, що було доведено експериментально та клінічно [4, 85, 96, 116, 125].

Так як метаболізм практично 95 % алкоголю відбувається в печінці, то саме вона є органом-мішенню його токсичної дії. Оскільки ураження печінки є найчастішим ускладненням хронічного зловживання алкоголем, то розвиток алкогольного гепатиту і цирозу в Україні був причиною смертності у 51,6 % чоловіків та 58,4 % жінок від загальної кількості осіб, що мали подібну патологію іншого походження [98] Досліджено, що етанол і продукти його метаболізму пригнічують білковосинтезуючу функцію печінки [48, 62] та суттєво впливають на обмін ліпідів [102, 103].

Зловживання алкоголем вважають одним із можливих чинників розвитку метаболічного синдрому, який проявляється комплексом розладів обмінних процесів і супроводжується абдомінальним ожирінням, високим артеріальним тиском, зростанням рівня триацилгліцеролів та низьким рівнем ліпопротеїнів холестерину високої щільності, резистентністю до інсуліну та непереносимістю глюкози [143, 150]. Перераховані симптоми сприяють розвитку ускладнень цукрового діабету та серцево-судинної патології. Враховуючи вищевказане, не підлягає сумніву доцільність введення до фармакотерапії алкогольної інтоксикації гіполіпідемічних ЛЗ.

Окремо слід виділити групу інтестинальних сорбентів, до якої входить цілий ряд ЛЗ, що мають здатність зв’язувати ендо- і екзогенні речовини у просвіті кишки, чим суттєво зменшують їх всмоктування і біодоступність. Згідно до даних літератури відомо, що група інтестинальних сорбентів складається з різних ЛЗ, котрі поділяються за походженням, хімічною структурою, за лікарською формою та фізико-хімічними властивостями, за механізмом сорбції і селективністю. За хімічною будовою виділяють наступні групи: вуглецеві, кремнійвмісні, природні органічні та комбіновані [16, 20 29]. За механізмом сорбуючої дії виокремлюють: абсорбенти, адсорбенти, іонообмінні речовини, сорбенти з комбінованими механізмами та з каталітичними властивостями [20].

В Україні зареєстровані сорбенти всіх перелічених груп, але найбільш часто для детоксикації застосовують із вуглецевих – АВ, із кремнійвмісних – силікагель чи «біле вугілля» - КД [7, 38, 51, 147].

Адсорбція ксенобіотиків АВ у травному тракті ґрунтується на рівновазі між вільним ксенобіотиком і комплексом AВ / ксенобіотик. За недостатньої кількості АВ можлива десорбція ксенобіотиків із АВ. Але застосування адекватних доз АВ зміщує рівновагу в бік комплексу АВ / ксенобіотик. Такий тип взаємодії є обґрунтуванням дозування: співвідношення АВ: ксенобіотик 10: 1 [147].

Найкраще адсорбує ксенобіотики в їх неіонізованих формах AВ. Завдяки фармакодинаміці АВ, неполярні, погано розчинні у воді органічні ксенобіотики найкраще абсорбуються, а полярні, водорозчинні молекули адсорбуються менше [16]. Ряд ЛЗ мають знижену системну абсорбцію в присутності АВ, наприклад ацетамінофен, аспірин, барбітурати, трициклічні антидепресанти, теофілін, фенітоїн і більшість неорганічних і органічних матеріалів. Досліджено, що АВ дуже слабо адсорбує спирти, метали (залізо і літій), електроліти, а також кислоти або луги за рахунок полярності цих речовин [20].

Призначення АВ має ряд протипоказів, а саме:

- у пацієнтів з незахищеними дихальними шляхами без ендотрахеальної інтубації;

- за високого ризику гастро-інтестинальної перфорації або кровотечі;

- за необхідності проведення ендоскопії, оскільки АВ може перешкоджати ендоскопічній візуалізації;

- за наявності кишкової непрохідності;

# - за умов, отруєння металами, кислотами, лугами, електролітами або спиртами, які мало адсорбуються АВ [20, 147].

В якості ЛЗ, КД використовують у різних лікарських формах, що містять частинки диоксиду кремнію різних розмірів, у тому числі, і наночастинки. Досліджено, що адсорбція спостерігається тільки для депротонованих молекул і має незворотній характер, оскільки утворюються поверхневі структури з міцними координаційними зв’язками між атомами кремнію та аніонами адсорбату [38]. Збільшення адсорбції відбувається за збільшення молекулярної маси, зменшення полярності адсорбата та ін. Вважають, що основою біологічної активності КД є його фізико-хімічні властивості, визначені структурою та реакційною здатністю адсорбційних центрів поверхні, а саме: висока гідрофільність поверхні; здатність до сорбції білків; активне зв’язування патогенних мікроорганізмів і вірусів і адсорбція низькомолекулярних полярних речовин [63]. ЛЗ, що містить наночастинки КД (Силікс) діє як обволікаючий засіб завдяки взаємодії з глікопротеїнами слизової кишки. Результатом такої взаємодії є створення перешкоди для дифузії патогенних речовин крізь слизову і зменшення їх абсорбції та захист рецепторів слизової від адгезії мікроорганізмів та впливу мікробних токсинів. Враховуючи, що слизова кишки на всьому протязі за рН від 6.0 до 9.0 має негативний заряд, то така взаємодія для КД має відбуватися з подоланням електростатичного відштовхування. Це означає, що обволікаюча здатність КД буде слабшою, ніж у препаратів на основі оксиду алюмінію, які в кишечнику заряджені позитивно [34, 35, 38]. Загалом, поглинаючий механізм як основний для прояву лікувальної дії може бути застосований лише у разі високопористих сорбентів: активованого вугілля, цеолітів, силікагелю, Syloid® 244FP та ін. [16, 18, 29].

Інші препарати групи ентеросорбентів (антрален, смекта, ентеросгель, мікотон, поліфепан, полісорб, пектини, альгінати та ін.) частіше призначають за амбулаторного лікування чи самолікування кишкових розладів, діареї у дітей, харчового отруєння. Враховуючи структуру, фізико-хімічні, хімічні та фармакологічні властивості ЯП і практично відсутню токсичність ми зацікавились можливістю його дослідження за інтоксикації етанолом.

**1.3 Пектини (структура, ефекти, механізми дії). Властивості яблучного пектину та його застосування в медицині і фармації**

Пектини – це високомолекулярні гетерополісахариди, що становлять приблизно 1/3 складу клітинної стінки вищих рослин у перерахунку на суху речовину. Джерелами отримання пектину є яблука, цитрусові, цукровий буряк, соя та ін. [37]. Залежно від будови і ступеню полімеризації пектини поділяють на пектові кислоти (продукти полімеризації залишків альфа-D-галактуронової кислоти, що зв’язані 1,4-зв’язками, у лінійні ланцюги, розчинні у воді і є основої для інших груп пектинових речовин), пектинові кислоти (більш високомолекулярні сполуки, містять 100-200 одиниць альфа-Д-галактуронової кислоти, карбонільні групи якої можуть в різному ступені бути метоксильовані), пектати, пектинати (солі пектових і пектинових кислот), протопектини – високомолекулярні полімери метоксильованої полігалактуронової кислоти з галактаном і арабінаном клітинної стінки, що подекуди переривається залишками рамнози, нерозчинні у воді).

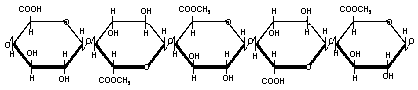


Рис. 1. Молекулярна структура пектину.

Емпірична формула: (C6H8O6)n·(OCH3)m, де n близько 50; m = 30-80 % від n. [50].

Пектини отримують з відходів виробництва фруктових соків (яблучного, лимонного, лаймового, апельсинового, мандаринового), іноді з відходів виробництва бурякового цукру або соняшникової олії кислою екстракцією і осадженням спиртом. Пектини класифікують за ступенем метоксилювання (естерифікації), а саме за співвідношенням кількості метоксильних груп -ОСН3 до всіх кислотних залишків у молекулі [50]. Високо метоксильований пектин утворює гель в присутності кислоти (в межах рН близько 3) та цукрів. При зниженні рН сповільнюється дисоціація вільних карбоксильних груп, відповідно зменшується кількість негативно заряджених іонів в пектині. Це в свою чергу зменшує притягання між молекулами пектину і молекулами води та зменшує відштовхувальну силу між самими молекулами високо молекулярної речовини. Цукор в подальшому зменшує гідратацію пектину, конкуруючи за воду. Ці умови зменшують здатність пектину перебувати в диспергованому стані. Тому при зниженій температурі менше гідратований пектин утворює гель – безперервну сітку пектину, що утримує водний розчин.

Низько метоксильований пектин для утворення гелю потребує двовалентних металів. У складі ЯП присутні іони кальцію та магнію [44, 46]. Пектини високометоксильовані зі ступенем естерифікації понад 50 % мають високу молекулярну масу і здатні до утворення драглів. Для того щоб драглі були стійкими повинні бути певні умови, а саме – кисла реакція (рН близько 3,0) та присутність цукру [6, 26]. Низькометоксильовані пектини здатні утворювати в організмі хелатні сполуки за рахунок деметоксилювання пектину і перетворення його у полігалактуронову кислоту, яка зв’язується з деякими важкими металами та радіонуклідами, і виводити їх з організму з калом [130, 118]. Молекулярна маса та ступінь естерифікації впливають на активність пектинів в утворенні комплексів з металами: пектин сильніше за АВ адсорбує свинець, радіоактивний кобальт, стронцій, цезій, рутеній та інші метали шляхом утворення пектатів і пектинатів [55, 118, 133, 157]. Різні методи екстракції, види рослин, з яких його отримують, різноманітні методи фрагментації і складна структура роблять характеристику активної молекули пектину складною.

Високоестерифіковані пектини, мають ступінь метоксилювання 50 % і більше, добре розчинні у воді. Відомі властивості пектину утворювати хелатні сполуки з солями металів – пектинати, що нерозчинні у воді і не адсорбуються у кишці [101]. Ці властивості зумовлені наявністю у молекулі пектину карбоксильних та гідроксильних груп [105]. Також досліджено, що низькоестерифіковані пектини, що мають більше карбоксильних груп ніж високоестерифіковані, легше утворюють хелати металів. Високоестерифікований пектин обволікує стінку кишки і зменшує контакт їжі та інших складових хімусу з її поверхнею, і через механізм гель-фільтрації зменшує всмоктування малих молекул [89, 90, 158].

Дослідження in vitro, проведені Dongovski G. та співавторами [62], показали, що за умов, котрі імітують просвіт шлунково-кишкового тракту, дещо знижувався ступінь етерифікації пектину у тонкій кишці щурів без мікрофлори і звичайних щурів і додатково в сліпій і товстій кишці щурів за відсутності мікрофлори. Пектин проходить тонкий кишечник у вигляді макромолекули. Молекулярно-масовий розподіл пектинів, виміряний за допомогою гель-хроматографії з виявленням в'язкості майже не змінювався. Проте під час ферментації in vitro пектину з людською фекальною флорою були виявлені ненасичені олігогалактуронові кислоти в якості проміжних продуктів у змінній концентрації і складі в межах приблизно 8 годин [90]. Пектин зменшує швидкість травлення через іммобілізацію компонентів їжі в кишці. Це призводить до меншого всмоктування їжі. Товщина шару пектину впливає на всмоктування, обмежуючи контакт між травними ферментами і їжею, таким чином зменшуючи її доступність [159]. Пектин зменшує всмоктування води і глюкози у тонкій кишці за різного дозування [87, 94, 105, 115, 124].

Пребіотичні властивості пектину пов’язані зі здатністю окремих представників нормальної кишкової мікрофлори ферментувати пектин і утилізувати його для потреб росту і розвитку колоній мікробіоти [80, 89, 108, 109].

В організмі людини пектин не всмоктується. У верхніх відділах шлунково-кишкового тракту пектин не перетравлюється і може захистити клітини від мутагенних нападів. У товстій кишці бактерії ферментують пектин у бутират, який пригнічує запалення товстої кишки і запобігає канцерогенезу [132].

Пектин широко використовують у харчовій промисловості як для гелювання, так і в якості стабілізатора – у вигляді харчової добавки Е440 дозволений до використання практично у всіх країнах світу [46, 141].

У медичній практиці властивості пектину знайшли застосування в декількох галузях і за різними показаннями. Здатність пектину до аглютинації мікроорганізмів використовують для лікування ран та опіків у хірургії та комбустіології [24, 33]. Можливість зменшувати всмоктування глюкози та жирів у кишечнику вживанням пектину використовують у комплексному лікуванні цукрового діабету та гіперліпідемій [112, 119, 123].

Антидіарейний ефект пектину використовують у лікуванні кишкової недостатності та як симптоматичний засіб при діареї у педіатричній практиці [19, 20, 153]. Досліджено також гастропротективні властивості пектину за застосування аспірину та алкоголю [94].

Чисельні експериментальні дослідження показали ефективність використання пектину за умов раку кишки та зменшення метастазування. Експериментально доведено, що пектин має здатність інгібувати ріст пухлини, індукувати апоптоз через фрагментацію ДНК у клітинах раку товстої кишки HT29, пригнічувати метастази і модулювати імунологічні відповіді [78, 132].

Хелатоутворення із солями важких металів та радіонуклідами стало показанням до застосування пектину з метою профілактики [109] та лікування інтоксикацій у людей, що живуть на забруднених солями важких металів та радіонуклідами територіях [79, 151].

Властивості пектину, як абсорбента, використовують з лікувальною метою при ендо- та екзогенних токсикозах [20]. Пектин укорочує час згортання крові і може бути використаний для місцевої зупинки кровотеч. Пектин сповільнює моторику шлунка, дає відчуття насичення, що використовують у лікуванні ожиріння та переїдання [87, 123].

Пребіотики використовують для зміни мікробіоти кишечника через селективну стимуляцію бактерій у кишковому тракті, які вважаються позитивними для здоров'я людини. Пребіотики, такі як інулін та галакто-олігосахариди (пектини), часто націлені на рід Bifidobacterium. Це пов’язано з розміром і структурою молекул цих пребіотиків. Дослідження продукту гетеро-олігосахаридів, що виготовлений методом зворотного синтезу β-галактозидази з ферментів Bifidobacterium bifidum NCIMB 41 171 показало, що ця суміш Бімуно-GOS підтримує ріст біфідобактерій у молодих, літніх людей із надмірною вагою та у пацієнтів із синдромом подразненого кишечника. Крім того, тваринні моделі показали, що суміш демонструє протимікробні механізми проти Salmonella enterica Typhimurium, а також спостерігався позитивний вплив на імунну відповідь у літніх людей із надмірною вагою [84].

Пектин використовують у якості сорбента у вигляді монопрепарату та у різноманітних комбінаціях для лікування отруєнь солями важких металів [105, 115, 157].

У фармацевтичній промисловості пектин знайшов широке застосування в якості стабілізатора, допоміжної речовини у виробництві ліків: капсули з пектину, що не руйнується під впливом травних ферментів у верхніх відділах ШКТ [87], дозволяють постачати лікарські речовини до місця призначення – у товсту кишку [138, 149, 151], чим посилюють ефект або зменшують токсичні прояви ліків.

Поєднання цисплатину з пектином суттєво зменшує токсичність цього протипухлинного препарату [154], а введення пектину до назального спрею з фентанілом покращує фармакокінетичні властивості останнього водночас не змінюючи біодоступності [122].

Пектини використовуються у фармацевтичній та харчовій промисловості як гелеутворювачі, адсорбенти, емульгатори, стабілізатори, загусники, водоутримувальні агенти, освітлювачі, речовини, які полегшують фільтрування, засоби для капсулювання, виробництва живильних середовищ [37, 133]. Вони мають властивість пролонгувати дію ліків.

Враховуючи сорбційні та пребіотичні властивості пектинових речовин логічно припустити, що за алкогольної інтоксикації імовірно отримати позитивний детоксикуючий ефект.

**РЕЗЮМЕ**

Вивчено літературні дані про метаболізм алкоголю та його вплив на організм людини. Відповідно до результатів аналізу, проведеного експертами ВООЗ у 2016 р. встановлено, що кількість споживання алкоголю на душу населення є однією із найвищих в Європі і становить 13,8 л.

На підставі огляду літератури окреслені основні ризики за гострої та хронічної алкогольної інтоксикації: алкогольна кома, гострий алкогольний гепатит, алкогольна хвороба печінки, цироз, рак, серцево-судинні захворювання, алкогольна енцефалопатія та психоз та ін. Виділені основні моменти метаболізму алкоголю та токсикологічні аспекти його метаболітів, відзначено біомаркери алкоголю. Розглянуті основні аспекти лікування гострого отруєння алкоголем та зазначено перелік сучасних препаратів, вивчено їх ефекти та механізми дії. На основі аналізу протоколів надання медичної допомоги за хронічного отруєння, виділено основні фармакологічні групи, що застосовують у різних країнах – США, Італії, Україні. Визначено основні і побічні ефекти ЛЗ, що використовуються у лікуванні алкогольної інтоксикації. З’ясовано і узагальнено літературні дані про структуру, функції, лікувальні ефекти та перспективи застосування ЯП в медичній та фармацевтичній практиці. Викладені вище дані літератури стали підгрунтям для нашого дослідження.

**розділ 2**

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ**

**2.1 Тест-системи**

Для досліджень було використано білих статевозрілих рандобредних щурів обох статей масою 180-220 г, отриманих із розплідника віварію Івано-Франківського національного медичного університету.

Вибір тварин грунтувався на тому, що щури є стандартним об’єктом у біологічних дослідженнях; відрізняються високою стійкістю до послідовного розмноження, з меншою генетичною мінливістю між окремими тваринами (і поколіннями); мають короткий термін експлуатації та швидкий темп відтворення, що дозволяє швидше накопичувати дані; мають порівняно з іншими видами лабораторних тварин та людиною чутливість до дії токсикантів [142] та використовуються для доклінічної оцінки фармакологічних засобів [136].

Для відтворення гострої алкогольної інтоксикації описані моделі одноразового введення та застосування етанолу одномоментно та протягом 3 діб [11, 30, 48, 42, 61, 62, 64, 140]. Хронічну інтоксикацію моделюють від 4 до 12 тижнів і більше (6 міс), залежно від методики [17, 36, 42, 52, 60, 116].

Ми використали модель гострої інтоксикації з уведенням розчину етанолу протягом 3 днів та підгострої (назва - наша, для диференціації моделей) з уведенням токсиканта протягом 11 днів [11, 60]. Модель із введенням етанолу протягом 28 днів – субхронічна, оскільки не викликає у тварин тотального розвитку алкогольної хвороби печінки та залежності, водночас, є достатньою для помітних змін у вітальних функціях, біохімічних показниках і зростанню активності біомаркерів алкогольної інтоксикації (АсАТ, АлАТ, МСМ) [48, 61, 62].

Тварин утримували в умовах віварію на стандартному раціоні. Корм тваринам вносили 1 раз на добу у першій половині дня, доступ до води та їжі ad libitum. За добу до початку експерименту тварин зважували і мітили розчином пікринової кислоти.

При проведенні експерименту дотримувалися вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) та Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

На проведення експерименту отримано дозвіл комісії з питань етики ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (протокол № 108/19 від 17.04.2019 р.).

В експериментах використовували наступні фармакологічні засоби:

* порошок пектину яблучного (ПП «Компанія Дана, Я», м. Київ, Україна); дозування 200 мг/100 г маси тіла.
* активоване вугілля (таблетки по 250 мг, ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна); дозування по 250 мг/100 г маси тіла;
* кремнію диоксид («біле вугілля» таблетки по 210 мг, ТОВ «[Омніфарма», Київ, Україна](https://tabletki.ua/uk/producer/?id=bfabc6633568)); дозування по 50 мг/100 г маси тіла.

Активоване вугілля та кремнію диоксид були обрані за препарати порівняння, оскільки вони мають подібний до пектинів механізм дії, належать до тієї ж групи кишкових сорбентів, що і ЯП, є фармакопейними препаратами і внесені до протоколів лікування гострих отруєнь (у тому числі і алкогольних). Доза пектину для приймання всередину за умов радіоактивного забруднення становить для людини не менше 15-16 г [130], а для зниження вмісту холестеролу – від 10 до 20 г на день [133].

Дози досліджуваного ЯП і препаратів порівняння обрані згідно до літературних джерел [95, 75, 61, 125], протоколів лікування гострих отруєнь у людини [11, 128] та екcтрапольовані на тварин з використанням таблиці співвідношення між дозами лікарської речовини у людини і тварин [49].

Введення тваринам розчину етанолу проводили через 30 хв після годування, у першій половині дня. Такий режим введення обгрунтований тим, що за цей час завершується повна евакуація вмісту шлунку у 12-палу кишку, в тому числі і твердих частинок корму [81, 86, 87], а, оскільки, всмоктування алкоголю, в основному, відбувається в тонкій кишці, такий режим дозволяє зменшити летальність тварин і є наближеним до ситуації, що спостерігається у людини – споживання алкоголю після вживання їжі, а не після тривалого голодування.

Відомо, що перехід їжі зі шлунку щура до 12-палої кишки відбувається протягом 8 – 20 хв залежно від складу і консистенції їжі [59, 136]. Час, за який хімус проходить тонку кишку щура становить 3-4 год. Як і у людини, швидкість проходження проксимального відділу тонкої кишки є більшою, ніж у дистальних відділах. Час транзиту через товсту кишку становить приблизно 15 годин з великими варіаціями залежно від віку і стану тварин, складу і осмолярності, консистенції їжі та інших факторів [59].

Дослідження проводили поетапно, як описано в табл. 2.1.

Таблиця 2.1

Загальна схема дослідження

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Модельована інтоксикація | Схема введення токсиканта і лікарських засобів | Кількість тварин, стать |
| 1 | 2 | 3 |
| Гостра інтоксикація етанолом 40 %,  2 мл/100г маси тіла | Одноразове (лікувальне) введення ЯП та препаратів порівняння через 30 хв після внутрішньошлункового введення етанолу протягом 3 діб | 65 (35 самців і  30 самок) |
| Введення ЯП та препаратів порівняння за 1 год. до та через 30 хв. після внутрішньошлункового введення етанолу (профілактично-лікувальний режим) протягом 3 діб | 35 (30 самців і  5 самок) |
| 1 | 2 | 3 |
| Підгостра інтоксикація етанолом 30 %,  2 мл/100г маси тіла  Субхронічна інтоксикація алкоголем 30 %,  2 мл/100г маси тіла | Введення ЯП та препаратів порівняння через 30 хв. після 30 % розчину етанолу протягом 11 днів | 65 (35 самців і  30 самок) |
| Введення ЯП та препаратів порівняння через 30 хв. після розчину 30 % етанолу протягом 28 днів | 35 самців |
| Усього тварин |  | 200 |

Обсяг і методи вивчення детоксикаційної ефективності ЯП проводили за наступними показниками, що представлені у табл. 2.2.

Таблиця 2.2

Етапи експерименту та досліджувані показники

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Модель інтоксикації і режим введення ЯП та препаратів порівняння | Показники, що вивчались | Біохімічні та інші дослідження |
| 1 | 2 | 3 |
| Гостра інтоксикація етанолом 40 %, введення одноразове (лікувальний режим) | Летальність, частота дихання, температура тіла (ректальна), поведінкові реакції, динаміка змін маси тіла,  масовий коефіцієнт печінки. | Вміст гемоглобіну, к-сть еритроцитів, АлАТ, АсАТ, холестерол, глюкоза, ДК, МДА, ГРХ і морфологічні дослідження тканини печінки |
| 1 | 2 | 3 |
| Гостра інтоксикація етанолом 40 %, введення дворазове (профілактично-лікувальний режим) | Летальність, частота дихання, температура тіла (ректальна), динаміка змін маси тіла,  масовий коефіцієнт печінки. | Активність ДК, МДА, каталази, гістологічні дослідження.  кількість еритроцитів та вміст гемоглобіну, рівень глюкози, холестеролу, АлАТ, АсАТ. |
| Підгостра інтоксикація етанолом 30 %, 11 діб | Летальність, частота дихання, температура тіла (ректальна), поведінкові реакції, динаміка змін маси тіла,  масовий коефіцієнт печінки. | Вміст гемоглобіну, к-сть еритроцитів, рівень глюкози, холестеролу, тригліцеридів, заг. ліпідів, заг.білку, АсАТ, АлАТ, МСМ. |
| Субхронічна інтоксикація етанолом  30 %, 28 діб | Летальність, частота дихання, температура тіла (ректальна), поведінкові реакції, динаміка змін маси тіла,  масовий коефіцієнт печінки. | Активність ДК,МДА, каталази сироватки крові. АсАТ, АлАТ, МСМ, морфологічні дослідження тканини печінки. |

За тваринами спостерігали щоденно, всі дослідження проводили у першій половині дня.

* 1. **Модель гострої інтоксикації етанолом**

На 1 етапі моделювали гостру алкогольну інтоксикацію на 65 білих нелінійних щурах обох статей масою (180-200) г, котрих утримували на стандартному харчовому раціоні і з необмеженим доступом до води. Тваринам вводили 40 % розчин етанолу у шлунок за допомогою зонда з оливою із розрахунку 2 мл/100 г маси тіла протягом 3 діб [128]. Порошок ЯП застосовували через 30 хв після введення етанолу в кількості 200 мг/100 г маси тіла, а препарати порівняння – вугілля активоване та диоксид кремнію по 0,25 та 0,05 г відповідно, розрахунки доз проводили за [49]. Евтаназію тварин здійснювали введенням розчину тіопенталу натрію з розрахунку 40 мг/кг маси тіла [140], після чого проводили забір крові та тканин печінки для досліджень.

Частині тварин даної групи (30) визначали вміст алкоголю в крові методом ГРХ, яку проводили на газо-рідинному хроматографі «Купол» у лабораторії навчально-практичного центру «Фармація» ІФНМУ за використання загальноприйнятої методики [5, 72].

На 2 етапі моделювали гостру інтоксикацію алкоголем за описаною вище методикою на 65 білих безпородних щурах обох статей масою 180-200 г, котрих утримували в аналогічних умовах. Порошок ЯП і препарати порівняння (ті ж, що і на 1 етапі) вводили у шлунок зондом з оливою за 30 хв до та через 1 годину після введення алкоголю. Евтаназію тварин здійснювали на 3 добу, введенням тіопенталу натрію, як і на попередньому етапі, після чого проводили забір крові та тканин печінки для досліджень.

У 1960-х роках у ряді досліджень Lieber CS та DeCarli LM розробили дієту, що містить етанол та інші харчові компоненти. Вони продемонстрували, що годування рідкою їжею з пониженим вмістом жирів призводить до зменшення абсорбції алкоголю, що зменшує розвиток значних пошкоджень печінки через природну неприязнь гризунів до етанолу. У цьому випадку добовий прийом етанолу у щурів може досягати (12-18) г / кг, що було в два-три рази більше, ніж досягнуто від введення самого етанолу [116].

* 1. **Модель підгострої інтоксикації етанолом**

Моделювання підгострої інтоксикації було проведене на 65 білих рандобредних щурах обох статей масою 180–220 г. Дослідним тваринам вводили етанол (30 %) у шлунок протягом 11 діб у дозі 2 мл / 100 г маси тіла зондом з оливою [11, 60]. Порошок ЯП і препарати порівняння ті ж, що і у попередніх експериментах у аналогічних дозах вводили у шлунок через 30 хв. після введення токсиканта. Евтаназію тварин здійснювали на 12 добу експерименту за тією ж методикою, що і на попередніх етапах дослідження.

* 1. **Модель субхронічної інтоксикації етанолом**

Дослідження проводили на 35 білих рандобредних щурах (самцях) масою (180–220) г, котрих утримували на стандартному раціоні віварію з вільним доступом до води та їжі. Дослідним тваринам вводили етанол (30 %) у шлунок протягом 28 діб через 1 год. після годування зондом із оливою з розрахунку 2 мл/100 г маси тіла 1 раз на добу за стандартною методикою [60, 61, 62]. Порошок ЯП і препарати порівняння вводили так само, як описано вище. Евтаназію тварин проводили на 28 добу експерименту.

Протягом кожного етапу експерименту із вивчення детоксикуючої дії ЯП спостерігали за загальним станом тварин, виживаністю, частотою дихання, температурою (ректальною), руховою та орієнтовно-дослідницькою активністю у тесті «відкрите поле».

Частоту дихання вимірювали за допомогою реоплетизмографа. Вимірювання проводили на 1, 3 і останню добу експерименту (через 1 год після введення токсиканта).

Температуру тіла тварин вимірювали у прямій кишці за допомогою електронного термометра «Medicare» SC12 у ті ж терміни, що і визначення частоти дихання.

Рухову та орієнтовно-дослідницьку активність тварин вивчали у тесті «відкрите поле». Експериментальна установка "відкрите поле" у нашій лабораторії є круглою камерою діаметром 100 см із непрозорими стінками висотою 40 см. Підлога розділена на 16 квадратів, в кожному з яких є круглі крізні отвори - "нірки". Відкрите поле під час експерименту рівномірно освітлювалось. Поведінку кожного щура тестували протягом 3 хв. Вивчали кількість перетнутих квадратів, кількість заглядань у отвори, кількість умивань, кількість дефекацій та вертикальних стійок. Також обліковували кількість тварин, що прийняли бічне положення і час перебування в цьому положенні [36, 52].

Після закінчення експерименту розраховували динаміку змін маси тіла та масовий коефіцієнт печінки, який визначали за формулою [49, 59].

В якості маркерів алкоголю вміст алкоголю в крові методом ГРХ, активність АлАт і АсАТ, каталази та вміст МСМ.

Стан активностві ПОЛ здійснювали шляхом визначення МДА за методом Стальної І.Д. та Гаришвілі Т.Г. у реакції з тіобірбітуровою кислотою [47] та ДК за методом Волчегорського і співавт. [12] у гептан-ізопропропанольних екстрактах крові за допомогою спектрофотометра SPECORD M40 (Німеччина), використовуючи реактиви гептан (Польща) та ізопропіловий спирт (Німеччина), тіобарбітурову кислоту (Німеччина), фосфорно-вольфрамову та трихлороцтову кислоти (Китай);

визначення каталази крові проводили титриметричним методом за кількістю пероксиду водню, що розкладається під впливом ферменту [32];

визначення ліпопротеїдів, холестеролу та АсАТ сироватки крові – за допомогою стандартних наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика» (Україна);

АлАТ – колориметричним методом Райтмана-Френкеля;

загальний білок визначали біуретовим методом (біуретовий реактив виробництва «Сімко» (Львів).

Для визначення рівня МСМ використано визначення середньомолекулярних пептидів за скринінг- методикою Н.І. Габриеляна (1985). 1 мл сироватки венозної крові обробляли 0,5 мл 10 % розчину трихлороцтової кислоти, потім центрифугували 30 хв при швидкості 3000 об/хв. Супернатант розчиняли дистильованою водою у співвідношені 1:10 і при довжині хвилі 254 нм на спектрофотометрі СФ – визначали вміст МСМ в умовних одиницях.

* 1. **Морфологічні дослідження**

Тварин виводили з експерименту внутрішньочеревним наркозом з використаннями тіопенталу натрію (з розрахунку 40 мг/кг). Як матеріал для гістологічного дослідження використовували шматочки печінки щурів.

Препарування виконували для одержання доступу та підготовки органу з метою взяття гістологічного матеріалу.

Для здійснення загальногістологічного дослідження печінку фіксували у 10 % розчині нейтрального формаліну (Ph-7,0). Час фіксації складав 24 години. В подальшому шматочки печінки поміщали у висхідну батарею спиртів для дегідратації, далі у хлороформ, суміш хлороформ-парафін (1:1), парафін (при температурі 37°С). Після парафінової препідготовки, шматочки заливали у парафін. Виготовлення серійних парафінових зрізів товщиною 4-6 мкм проводилося на санному мікротомі.

Гістологічні дослідження проведені у світлооптичному мікроскопі Leica DME (Німеччина) на гістологічних препаратах, забарвлених гематоксиліном і еозином, з осягненням перивазальних, перипортальних і проміжних відділів часточок.

З метою об’єктивізації кількісних досліджень проводили комп’ютерну морфометрію об’єктів у гістологічних препаратах. На першому етапі отримували цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500 (Японія) при використанні різних об’єктивів мікроскопа (×4, ×10, ×20, ×40, ×100). В подальшому цифрові копії зображення аналізували за допомогою комп’ютерної програми Image Tool 3,0 for Windows (вільна ліцензія).

Підрахунок морфометричних показників проводився мінімум у 10 цифрових копіях (збільшення об’єктиву ×40) оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів у кожної тварини.

*Морфометричний аналіз печінки здійснювали з врахуванням наступних показників:*

1. Частка паренхіми у відсотковому співвідношенні.

2. Кількість одноядерних нормальних клітин на 100 гепатоцитів.

3. Кількість двохядерних нормальних клітин на 100 гепатоцитів.

4. Кількість дистрофічно змінених клітин на 100 гепатоцитів.

5. Кількість некротично-апоптично змінених клітин на 100 гепатоцитів.

6. Середня площа гепатоцита

7. Середній периметр гепатоцита

8. Середня площа ядра гепатоцита

9. Середній периметр ядра гепатоцита

10. Ядерно-цитоплазматичний індекс.

11. Частка синусоїдних капілярів у відсотковому співвідношенні.

12. Частка синусоїдних капілярів без крові у відсотковому співвідношенні.

13. Частка синусоїдних капілярів з кров’ю у відсотковому співвідношенні.

14. Частка сполучної тканини у відсотковому співвідношенні.

*Для півкількісної оцінки вмісту ліпідів* використовували п’ятибальну шкалу: 1 ступінь (мінімальний) – гепатоцити з жировими включеннями знаходяться лише по периферії часточки в ділянці тріади, 2 ступінь (слабкий) – гепатоцити, які містять ліпіди, займають приблизно 1/4 – 1/3 довжини печінкових пластинок у перипортальній зоні, 3 ступінь (помірний) – подібні гепатоцити займають 1/3 – 1/4  довжини печінкових пластинок по периферії часточки, 4 ступінь (високий) – гепатоцити з жировими краплями займають 1/2 – 2/3 довжини печінкових пластинок, 5 ступінь (максимальний) – гепатоцити з жировими включеннями знаходяться в усій часточці.

*Напівкількісну оцінку інтенсивності некротично-апоптичного процесу* проводили за п’ятибальною системою, відповідно до якої: 1 бал – слабкі зміни, 2 бали – середні зміни, 3 бали – виразні зміни та 4 бали – зміни дуже виражені.

Статистичний аналіз результатів здійснено за допомогою комп’ютерних програм Microsoft Exel із використанням методів варіаційної статистики. Визначали середньоарифметичне значення (М), стандартну похибку (m), критерій Стьюдента (t), коефіцієнт вірогідності (р). За вірогідні приймали значення р<0,05.

**2.6 Дослідження *in vitro***

З метою з’ясування можливого механізму дії ЯП проведене визначення рН у сумішах, що імітують вміст шлунку, тонкої та товстої кишки з додаванням хлороводневої кислоти та алкоголю. Для визначення рН у середовищі шлунку використовували 0,1 н розчин HCl [71], тонкої кишки - буфер гідрокарбонатний з рН 7,5, товстої кишки - буфер гідрокарбонатний з рН 8,5 [59].

Вимірювання проводили за температури 200 і 350 С за допомогою іономіра лабораторного И-160-М.

Співвідношення розчинів та дозування ЯП, АВ і КД у всіх пробах було однакове.

Для вияснення можливого механізму дії ЯП визначали фізико-хімічні властивості ЯП.

З метою визначення точки нульового заряду ЯП вимірювання проводили в лабораторії кафедри хімії ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника».

**2.7 Методи статистичної обробки отриманих даних**

Статистичну обробку отриманих в результаті експериментів даних проводили за допомогою програмного середовища статистичних розрахунків R [136], яке розповсюджується з вільною ліцензією, та «Excel for Windows» з використанням надбудови «Пакет аналізу» (Microsoft Office 2016, з ліцензійним ключем MFM9H-PNXDT-FKJRM-R8Q7Q-3PFHM). Отримані кількісні дані відповідали нормальному і ненормальному типу розподілу (тест Шапіро-Вілка), а отже для описання обрано інтервал М±m, а для перевірки достовірності даних досліджуваних груп з контрольною використали параметричний тест Стьюдента. Дані були представлені у вигляді M± m, де М – середнє арифметичне, m – стандартна похибка середнього арифметичного. Оскільки в дослідженні було 5 груп порівняння, оцінка достовірності різниці отриманих даних у цих групах здійснена за допомогою ANOVA аналізу (функції aov() пакету stats із R) , а саме post hoc test (функція TukeyHSD [136] пакету stats із R). Ймовірність р≤0,05 вважали достатньою для висновку про статистичну достовірність різниці отриманих даних.

**РОЗДІЛ 3**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ДЕТОКСИКУЮЧОЇ ДІЇ ЯБЛУЧНОГО ПЕКТИНУ ЗА АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**

Згідно до сучасних наукових даних, механізми розвитку гострої алкогольної інтоксикації пов’язані із токсичним впливом самого етанолу та продуктів його метаболізму, зокрема – ацетальдегіду. Токсичність цих продуктів залежить від дози, концентрації спирту, приймання їжі та її складу, генетичних факторів, способу вживання алкоголю та ін. Крім того, етанол і ацетальдегід стимулюють зростання активності процесів ПОЛ та збільшують продукцію АФК, які є пошкоджуючими факторами для фосфоліпідів мембран клітин в цілому, і для еритроцитів та гепатоцитів зокрема. Наслідком такого впливу є пригнічення детоксикуючої функції печінки, розвиток порушень вуглеводневого, білкового та ліпідного метаболізму, зростання активності біомаркерів алкоголю АсАТ, АлАТ, зміни активності КТ та ін.

Враховуючи особливості фармакодинаміки та фармакокінетичні характеристики слід вважати доцільним дослідження ефективності ЯП за умов гострої алкогольної інтоксикації, чому і присвячений цей розділ роботи.

**3.1 Дослідження детоксикуючої дії яблучного пектину за гострого отруєння етиловим спиртом**

Вивчення ефективності ЯП за гострої алкогольної інтоксикації проводили у декілька етапів. На першому етапі ЯП і препарати порівняння вводили одноразово після введення алкоголю. Розвиток гострої алкогольної інтоксикації у піддослідних тварин проявлявся пригніченням рухової активності, перебуванням у бічному положенні різної тривалості, в’ялістю, пригніченням апетиту, збільшенням вживання води.

У контрольній групі алкоголізованих тварин без лікування загинула 1 тварина. У інших експериментальних групах летальності не спостерігали.

Перший етап екcперименту проведений на 30 білих нелінійних щурах обох статей масою 180-220 г, що утримувались в умовах віварію на стандартному раціоні з необмеженим доступом до води. Після введення алкоголю тварини контрольної групи займали бічне положення і перебували у ньому в середньому 58,7 ±14,3 хв, відмовлялись від їжі і споживали багато води. У тварин, що отримували ЯП та препарати порівняння протягом усього експерименту апетит був збережений, у бічному положенні щури із введенням ЯП і КД не перебували, за введення АВ – 30 % приймала бічне положення і залишалась у ньому в середньому 48,6 ± 12,7 хв, тобто на 17 % менше часу, ніж контрольні. За умов лікування тварини були більш активні, а їх поведінкові реакції нормалізувались швидше, порівняно з контролем.

Після виведення тварин з експерименту під тіопенталовою анестезією [140] проведено обрахунок зміни маси тіла та масового коефіцієнту печінки (табл.3.1).

Таблиця 3.1.

Показники летальності, приросту маси тіла та масового коефіцієнту печінки щурів за умов гострої алкогольної інтоксикації та одноразового введення ЯП, АВ і КД (M±m; n=6)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | Приріст маси тіла, г | Масовий коефіцієнт печінки | Летальність, % |
| Інтактні | 4,0±0,37 | 4,55±0,22 | - |
| Етанол + ЯП | 3,67±0,21 | 4,79±0,2 | - |
| Етанол, контроль | 0,4±0,681,2 | 5,76±0,261,2 | 16,6 |
| Етанол+АВ | 2,67±0,331,2 | 4,72±0,21 | - |
| Етанол+КД | 3,17±0,4 | 5,03±0,27 | - |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Досліджено, що приріст маси тіла був достовірно найнижчим у нелікованих тварин порівняно з інтактними та експериментальними групами, що отримували лікування (р˂0,05). Водночас, показано, що цей показник мало відрізнявся у лікованих ЯП і КД. Тварини, що отримували АВ мали найменший приріст маси тіла серед усіх груп тварин, що отримували ЛЗ (р˂0,05).

Масовий коефіцієнт печінки, розрахований за формулою [49], у нелікованих тварин був на 25,7 % вищим, ніж у інтактних і на 19,4 % порівняно з лікованими ЯП (р˂0,05), що свідчить про детоксикуючу дію досліджуваного засобу та зменшення пошкодження печінки.

Визначення таких показників, як частота дихання та температура тіла засвідчили прояви інтоксикації (див. табл.3.2).

Таблиця 3.2

Показники окремих вітальних функцій у тварин з гострою інтоксикацією етанолом (M ± m; n=5)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | | Температура тіла (ректальна), 0 С | Частота дихання за 1 хв |
| Інтактні | 1 доба | 38,1±0,28 | 122,6±2,38 |
| 3 доба | 38,2±0,28 | 119,4±2,2 |
| Етанол+ЯП | 1 доба | 37,42±0,272 | 102,8±2,271,2 |
| 3 доба | 37,66±0,242 | 122,2±2,462 |
| Етанол (контроль) | 1 доба | 35,62±0,321,3 | 82,8±3,071,3 |
| 3 доба | 35,44±0,291,3 | 82,0±2,491,3 |
| Етанол+АВ | 1 доба | 35,98±0,181,3 | 91,6±1,861,3 |
| 3 доба | 35,98±0,141,3 | 85,2±3,761,3 |
| Етанол+КД | 1 доба | 37,26±0,242 | 96,3±2,941,2 |
| 3 доба | 36,5±0,301,2,3 | 97,4±4,921,2,3 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з алкоголізованими; 3 - р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Досліджено, що після введення етанолу частота дихальних рухів у тварин контрольної групи зменшилась на 33 % порівняно з інтактними, а у групах лікованих тварин ці показники були рівнозначні з нормою за використання ЯП, зменшились на 29 % при АВ та 18 % при КД, що достовірно відрізняло їх від результату досліджуваного засобу. Температура тіла у тварин контрольної групи знизилась в середньому на 8 %, та 1,5 %, 4 % і 7 % у лікованих ЯП, КД і АВ відповідно. Найбільш ефективна дія у підтримці дихання та температури тіла тварин спостерігалась при застосуванні ЯП та КД, порівняно з контрольною групою.

Оскільки етанол є нейротоксичним агентом і прояви інтоксикації виявляються у зміні поведінкових реакцій, ми дослідили зміни рухової та орієнтовно-дослідницької активності у тесті «відкрите поле» (див. табл. 3.3).

Зменшення рухової горизонтальної активності на 1-шу та 3-тю добу експерименту спостерігали у всіх групах алкоголізованих тварин порівняно з інтактними (р<0,05), що свідчило про пригнічення активності ЦНС. У групах контролю та за використання АВ даний показник був також достовірно нижчим, ніж за лікування ЯП. Введення КД сприяло збереженню рухової активності тварин на рівні інтактних та із застосуванням ЯП (р<0,05; табл. 3.3).

Кількість заглядань у отвори – тест, що характеризує орієнтовно-дослідницьку активність.

У нашому експерименті відзначено позитивний вплив ЯП та КД, у порівнянні з групами контролю та лікованими АВ, де цей показник був суттєво меншим за норму (інтактних) та за використання ЯП (р<0,05; табл. 3.3).

Кількість дефекацій була дещо меншою у всіх групах алкоголізованих тварин на 1-шу добу та зростала на 3-тю добу практично у всіх групах тварин, але показники не були статистично достовірними.

Таблиця 3.3

Показники рухової активності тварин з госрою інтоксикацією етанолом при лікувальному режимі введення ЯП, АВ і КД (М±m, n=5)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | | К-сть пересічень | К-сть заглядань у отвори | К-сть дефекацій | К-сть пристінкових верт. стійок |
| Інтактні | 1 доба | 11,8 ±0,66 | 13,6±0,41 | 0,75±0,5 | 11,2±1,02 |
| 3 доба | 13,2 ±0,73 | 15,2±0,55 | 1,0±0,2 | 13,2±0,73 |
| Етанол+ЯП | 1 доба | 9,0±0,451,2 | 14,2±0,24 | 0,8±0,3 | 10,0±0,712 |
| 3 доба | 9,2±0,371,2 | 16,5±0,34 | 1,12±0,44 | 11,2±0,492 |
| Етанол (контроль) | 1 доба | 6,4±0,511,3 | 6,2±0,551,3 | 0,6±0,441 | 5,6±0,551,3 |
| 3 доба | 4,8±0,371,3 | 5,5±0,421,3 | 1,3±0,62 | 5,6±0,371,3 |
| Етанол+АВ | 1 доба | 7,4±0,41,3 | 9,4±0,241,3 | 0,65±0,37 | 5,6±0,511,3 |
| 3 доба | 5,6±0,511,3 | 7,3±0,671,2,3 | 1,0±0,2 | 5,4±0,241,3 |
| Етанол+КД | 1 доба | 8,2±0,371,2 | 14,2±0,442 | 0,8±0,24 | 7,0±0,451,2,3 |
| 3 доба | 7,0±0,551,2 | 12,6±0,172 | 1,0±0,32 | 7,2±0,661,2,3 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з контролем; 3 - р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

За кількістю вертикальних пристінкових стійок можна зробити висновок про порушення координації рухів та зменшення «вертикальної рухової» активності у групах контролю, з використанням АВ і КД, що свідчить про пригнічення пізнавальної активності тварин та, водночас, про позитивний вплив ЯП (табл. 3.3).

**3.1.1 Гематологічні та біохімічні показники крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації та одноразового введення яблучного пектину**

Як було вказано вище, гостра інтоксикація алкоголем викликає зміни гематологічних та біохімічних показників. Оскільки нашим завданням було дослідити детоксикуючий вплив ЯП, ми провели визначення кількості еритроцитів та гемоглобіну у експериментальних тварин (див. табл. 3.4).

Таблиця 3.4

Гематологічні показники тварин за умов гострої алкогольної інтоксикації та одноразового введення ЯП, АВ і КД (М ± m, n=5-6)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показник | Інтактні | Етанол+ЯП | Етанол,контроль | Етанол+АВ | Етанол+КД |
| К-сть еритроцитів, х1012 /л | 7,08±0,06 | 6,91±0,14 | 5,81±0,161,2 | 6,18±0,051,2 | 6,68±0,12 |
| Вміст гемоглобіну, г/л | 145,7±2,3 | 139,8±1,96 | 129,2±1,21,2 | 132±1,981,2 | 133,3±1,81,2 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Виявлено, що гостра алкогольна інтоксикація викликала зменшення кількості еритроцитів у тварин без лікування на 18 % порівняно з інтактними (р˂0,05).

В той же час, у групах, що отримували ЯП і КД цей показник був практично рівнозначний, а у тварин, лікованих АВ він достовірно відрізнявся як від інтактних, так і від лікованих ЯП (р˂0,05), що свідчить про недостатню детоксикуючу активність АВ.

Визначення вмісту гемоглобіну показало відповідний результат, а саме: у лікованих ЯП показник був наближений до норми, а достовірна різниця була визначена між групами нелікованих, лікованих АВ та КД стосовно інтактних та лікованих ЯП (р˂0,05; табл. 3.4).

За даними літератури відомо, що алкоголь індукує процеси ПОЛ і надмірну продукцію АФК, а отже таким чином пошкоджує мембрани клітин і сприяє розвитку цілого ряду патологічних процесів в організмі [85, 110]. В зв’язку з цим, ми визначали вплив ЯП на активність процесів ПОЛ, а саме МДА і ДК, у сироватці крові тварин за введення алкоголю та при використанні ЛЗ (табл. 3.5).

Експериментально доведене достовірне зростання вмісту МДА у крові нелікованих тварин (р˂0,05), що було на 72 % більше за показник інтактних, а також порівняно з усіма дослідними групами тварин, що свідчить про виразну індукцію ВРО за введення алкоголю (див. табл. 3.5).

За умов застосування ЯП вміст такого кінцевого продукту ПОЛ, як МДА, достовірно зріс порівняно з інтактними тваринами і становив 2,7 ± 0,13 ммоль/л (р˂0,05), що було на 21 % більше за визначену норму (інтактних). Водночас, відзначена вірогідна різниця між названим показником за лікування ЯП та у контрольних нелікованих тварин – на 50 % (р˂0,05).

Використання препаратів порівняння теж сприяло вірогідному зниженню активності ВРО, порівняно з контрольними тваринами (р˂0,05), в той же час, вміст МДА був суттєво більшим за такий у інтактних за введення АВ і КД - на 34 % і 36 % відповідно (р˂0,05) і не значно відрізнявся від показника тварин, що отримували ЯП (7 %) (табл. 3.4).

Визначено також, що рівень іншого продукту ПОЛ – ДК також істотно зростав за введення алкоголю і у групі контрольних тварин становив 4,21 ± 0,13 ммоль/л, або на 20 % більше, ніж у інтактних (р˂0,05).

Таблиця 3.5

Вплив ЯП та препаратів порівняння на вміст МДА і ДК у сироватці крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації (М ± m, n = 6)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | МДА, ммоль/л | ДК, ммоль/л |
| Інтактні | 2,22 ±0,06 | 3,51±0,18 |
| Етанол+ЯП | 2,7 ±0,131,3 | 3,74±0,14 |
| Етанол, контроль | 3,82 ±0,131,2 | 4,21±0,131,2 |
| Етанол+АВ | 3,02 ±0,081,3 | 4,1±0,071,2,3 |
| Етанол+КД | 2,98 ±0,081,3 | 3,95±0,081 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП; 3- р˂0,05 порівняно з контролем.

За введення дослідним тваринам ЯП вміст ДК практично не відрізнявся від інтактних і був на 13 % меншим за такий у групі контролю (р˂0,05).

За використання КД вище названий показник достовірно відрізнявся лише від інтактних (на 13 %; р˂0,05), а за введення АВ був суттєво вищий за норму (на 17 %; р˂0,05) та такий у інших групах, що отримували лікування, водночас менший за аналогічний у контрольних тварин (р˂0,05; табл. 3.5).

Отримані дані свідчать про більш виражений пригнічувальний вплив ЯП на активацію ПОЛ, ніж препаратів порівняння, що має підтвердження і за даними літератури [103, 115].

Для з’ясування детоксикуючого впливу ЯП ми провели визначення біомаркерів алкоголю – АсАТ і АлАТ, а також вмісту глюкози та холестеролу в сироватці крові дослідних тварин.

За введення щурам 40 % розчину етилового спирту протягом 3 діб показано збільшення амінотрансферазної активності, що вказує на пряму гепатотоксичну дію алкоголю та його метаболітів і посилення цитолізу гепатоцитів (табл. 3.6).

Так, активність АсАТ зросла на 36 % порівняно з інтактними і становила 3,53 ± 0,08 мккат/л (р˂0,05). Досліджено, що за застосування ЯП показник активності АсАТ був практично рівнозначним з таким у інтактних тварин. Однак, він був достовірно меншим порівняно з контрольними та лікованими АВ тваринами (р˂0,05; табл. 3.6). Відмінності із аналогічним показником у групі з використанням КД були не суттєвими.

Виражений вплив мало введення алкоголю і на рівень АлАТ у всіх дослідних групах, що отримували алкоголь. Так, у контрольних нелікованих тварин активність цього біомаркера алкоголю зросла порівняно з нормою на 50 % і становила 4,34 ± 0,05 мккат/л (р˂0,05; табл. 3.6).

За введення ЯП в дозі 0,2 г / 100 г маси тіла спостерігали позитивні зміни, що виражались у суттєвому зменшенні рівня АлАТ порівняно з контрольною групою (р˂0,05; 39 %) та з групою тварин, лікованих АВ (22 %), хоча цей показник був на 11% вищим за інтактних (р˂0,05).

У групі тварин, що отримували препарат порівняння КД зміни були рівнозначними з групою із застосуванням ЯП (табл. 3.6).

Згідно до літературних даних, алкоголь пригнічує вуглеводневий обмін, порушуючи гліколіз і глюконеогенез у печінці, що виявляється зниженням рівня глюкози в крові навіть після одноразового вживання [91, 143]. Наші дослідження показали достовірне зниження рівня глюкози в сироватці крові алкоголізованих тварин (р˂0,05). Вміст глюкози у тварин контрольної групи зменшився на 40 % порівняно з нормою і становив 3,67 ± 0,15 ммоль/л (р˂0,05).

Таблиця 3.6

Вплив ЯП та препаратів порівняння на активність АлАТ і АсАТ у сироватці крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації (М ± m, n = 6)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Групи тварин | АсАТ, мккат/л | АлАТ, мккат/л |
| Інтактні | 2,6±0,1 | 2,9±0,08 |
| Етанол+ЯП | 2,9±0,092 | 3,21±0,051,2 |
| Етанол, контроль | 3,53±0,081,3 | 4,34±0,051,3 |
| Етанол+АВ | 3,19±0,061,2,3 | 3,85±0,061,2,3 |
| Етанол+КД | 3,14±0,061,2 | 3,32±0,081,2 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з контролем; 3- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Застосування ЯП у гостро алкоголізованих тварин істотно зменшувало інгібуючий вплив етанолу на вуглеводневий обмін, що доведено практично рівнозначним рівнем глюкози у інтактних та лікованих ЯП щурів (табл. 3.7).

За введення алкоголізованим тваринам препарату порівняння АВ відзначено достовірне зниження вмісту глюкози порівняно з інтактними, контрольними та лікованими ЯП тваринами (р˂0,05; табл. 3.7), при чому названий показник був у майже 2 рази меншим за контроль і не достовірно відрізнявся від такого у групі з використанням КД. Лікування алкоголізованих тварин препаратом порівняння КД теж справило позитивний вплив на метаболізм глюкози, а саме: вміст глюкози в крові тварин зменшився на 13 % і становив 5,32 ± 0,31 ммоль/л, що було достовірно менше за показник нелікованих тварин (р˂0,05; табл. 3.7).

Порушення ліпідного обміну, накопичення жирних кислот, холестеролу та триацилгліцеролів, як відомо, є причиною жирової дистрофії печінки у людей, що зловживають алкоголем тривалий час [148].

Таблиця 3.7

Вплив ЯП та препаратів порівняння на рівень глюкози і холестеролу у сироватці крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації (М ± m, n = 6)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Групи тварин | Холестерол, ммоль/л | Глюкоза, ммоль/л |
| Інтактні | 3,02±0,07 | 6,1±0,19 |
| етанол+ЯП | 3,04±0,062 | 5,98±0,212 |
| Етанол, контроль | 3,71±0,091,3 | 3,67±0,151,3 |
| Етанол+АВ | 3,37±0,11,2,3 | 5,02±0,281,2,3 |
| Етанол+КД | 3,07±0,092 | 5,32±0,311,2 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з нелікованими; 3- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

За гострої інтоксикації це проявляється підвищенням рівня холестеролу, як і у нашому експерименті (див. табл. 3.7). Так, рівень холестеролу у контрольних тварин зріс на 23 % порівняно з інтактними (р˂0,05) і дорівнював 3,71 ± 0,09 ммоль/л. Застосування ЯП за гострої алкогольної інтоксикації спричиняло позитивний вплив на ліпідний обмін, зокрема, на вміст холестеролу. Використання ЯП сприяло нормалізації вказаного показника на рівні інтактних тварин (табл. 3.7).

Використання КД теж довело його позитивний ефект, оскільки вміст холестеролу був рівнозначний з інтактними та лікованими ЯП і достовірно відрізнявся від контролю (23 %; р˂0,05) і впливу іншого препарату порівняння АВ (менше на 12%). Застосування препарату порівняння АВ теж викликало позитивний вплив на вміст холестеролу в сироватці крові, хоч і в меншій мірі, ніж у інших експериментальних групах, де проводили фармакологічну корекцію. Так, за введення дослідним тваринам АВ цей показник вірогідно відрізнявся не тільки від інтактних (більше на 12 %; р˂0,05) і контрольних (менше на 11 %; р˂0,05), але й лікованих ЯП щурів (більше на 12 %; р˂0,05) і становив 5,02 ± 0,28 ммоль/л (табл. 3.7).

Таким чином, експериментально доведений виразний позитивний вплив ЯП на гематологічні та біохімічні показники сироватки крові щурів за гострої алкогольної інтоксикації, що виявилось зменшенням активності біомаркерів алкогольної інтоксикації, зниженням вмісту кінцевих продуктів ПОЛ та нормалізацією обміну глюкози і холестеролу. Отримані результати показують на практично рівнозначну ефективність ЯП та протокольного препарату КД та достовірно менший лікувальний вплив АВ за умов гострої алкогольної інтоксикації.

**3.1.2 Визначення вмісту алкоголю в крові алкоголізованих щурів методом газо-рідинної хроматографії**

Даний етап експерименту проводили на 35 нелінійних білих щурах масою 180-200 г, котрим вводили 40 % етанол та ЛЗ протягом 3 днів за схемою, описаною вище. 2 тварини із групи з введенням алкоголю без лікування загинули на 2 день, у всіх інших групах всі тварини дожили до кінця експерименту. Оскільки передбачалось проведення визначення концентрації алкоголю методом ГРХ, то інтактних тварин на даному етапі не використовували.

Після виведення тварин з гострого експерименту провели розрахунок приросту маси тіла та масового коефіцієнту печінки (табл. 3.8).

Найменший приріст маси тіла відзначено у контрольних тварин. У групах, що отримували ЛЗ приріст маси відповідав фізіологічним нормам виду [59]. Визначення масового коефіцієнту печінки показало практично рівнозначні дані у групах лікованих тварин та збільшення даного показника на 10 % у алкоголізованих тварин без лікування (табл.3.8).

Таблиця 3.8

Деякі інтегральні показники щурів за умов гострої алкогольної інтоксикації та лікувального введення ЯП, АВ і КД (M±m; n=9)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | Приріст маси тіла, г | Масовий коефіцієнт печінки | Летальність, % |
| Етанол+ЯП | 1,33±0,37 | 4,73±0,171 | - |
| Етанол, контроль | 0,43±0,72 | 5,21±0,08 | 22 |
| Етанол+АВ | 1,0±0,47 | 4,71±0,15 | - |
| Етанол+КД | 1,88±0,61 | 4,85±0,23 | - |

Примітки: 1 - р≤ 0,05- порівняно з групою нелікованих тварин.

Після завершення експерименту кров, видалену у щурів було використано для ГРХ, тканини печінки – для морфологічних досліджень.

Визначення вмісту алкоголю в крові є прямим методом, що доводить вживання алкоголю протягом 6 годин і застосовується для ідентифікації гострого алкогольної інтоксикації [106].

Метод ГРХ слугує для розділення, ідентифікації та кількісного визначення газоподібних, рідких і твердих речовин з молекулярною масою від кількох одиниць до 106. Перевагою методу є універсальність, швидкість відтворення та висока чутливість. На сьогодні цей метод використовують найчастіше у практичній наркології та судово-медичній практиці з метою визначення вмісту алкоголю, його метаболітів та сурогатів у крові для встановлення ступеню сп’яніння та глибини отруєння [56, 72].

Дослідження методом ГРХ проведено газо-рідинному хроматографі «Купол» у лабораторії навчально-практичного центру «Фармація» ІФНМУ.

Визначення концентрації алкоголю в крові показало суттєву різницю між контрольною групою алкоголізованих тварин без лікування та групами, у яких тварини отримували ЯП, АВ і КД (див. табл. 3.9).

Так, концентрація етанолу у крові контрольної групи становила 1,93 ±0,16 ‰, і була достовірно вищою, ніж у всіх групах лікованих препаратами порівняння щурів (табл. 3.8), що пояснюється зменшенням всмоктування токсиканта через сорбцію у ШКТ. Зважаючи на істотну різницю у визначених показниках серед дослідних груп та відсутність алкоголю у крові 2/3 кількості тварин у групі, що отримувала ЯП, можемо стверджувати про виразний позитивний вплив ЯП за гострої алкогольної інтоксикації (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Визначення вмісту алкоголю в крові тварин з гострою алкогольною інтоксикацією та при введенні ЯП і препаратів порівняння (М±m, n=9).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Дослідні групи | Вміст алкоголю, ‰ | Кількість тварин, у яких відсутній алкоголь у крові (абс.число, %) |
| Етанол, контроль | 1,93±0,16 | - |
| Етанол + ЯП | 0,07±0,03\* | 6 (67 %) |
| Етанол + АВ | 0,43±0,18\* | 3 (33 %) |
| Етанол + КД | 0,34±0,12\* | 4 (44 % ) |

Примітки: \* - р˂0,05 – достовірно порівняно з контрольною групою.

Показано, що у групі з застосуванням ЯП була найменша кількість тварин, у крові яких алкоголь був присутній (33 %).

У групах з використанням препаратів порівняння ці показники суттєво відрізнялись від дослідної – у лікованих АВ і КД алкоголь було визначено у 67 % і 56 % відповідно.

Одержані результати можна пояснити відмінністю механізмів адсорбції, що пов’язане із різними фізико-хімічними властивостями ЯП та препаратів порівняння [1, 16, 29, 34, 35].

**3.1.3 Гематологічні та біохімічні показники крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації та дворазового введення яблучного пектину та препаратів порівняння**

Вплив алкоголю на гематологічні показники проявлялося зниженням кількості еритроцитів і гемоглобіну у щурів. Це пояснюється тим, що етанол і ацетальдегід, що утворюється при його метаболізмі, є мембранотропними речовинами і викликають пошкодження мембран еритроцитів і зменшення їх можливості утримувати і транспортувати гемоглобін [62], а також викликають мієлосупресію і хімічний гемоліз еритроцитів [128].

Цю частину експерименту було проведено на 65 білих нелінійних щурах масою 180-220 г, яким вводили ЯП та препарати порівняння до і після введення 40 % алкоголю. Летальності в жодній групі не відмічали.

Проведені нами дослідження вмісту гемоглобіну та кількості еритроцитів показують характерні зміни за впливу алкоголю та використання досліджуваних ЛЗ. (табл. 3.10)

Як показують результати гематологічного дослідження, кількість еритроцитів та вміст гемоглобіну були достовірно меншими у всіх групах тварин, що отримували алкоголь, ніж у інтактних (р˂0,05), що узгоджується з даними літератури [84, 92]. Названі показники у групі лікованих ЯП були вірогідно більш наближеними до норми за такі у контролі (р˂0,05). Водночас, у всіх групах лікованих сорбентами щурів показники були достовірно більш наближеними до норми, ніж у нелікованих, що свідчить про зменшення біодоступності, а, отже, і токсичного впливу етанолу.

Метаболічний шлях біосинтезу глюкози локалізується в основному у печінці та нирках. У щурів концентрація ферментів глюконеогенезу в печінці у 20-50 разів вища, ніж у посмугованих м’язах [59]. Пригнічення активності ферментів глюконеогенезу та гліколіз призводять до зменшення концентрації глюкози в сироватці крові за алкогольної інтоксикації.

Таблиця 3.10

Гематологічні показники тварин за гострої алкогольної інтоксикації та дворазового застосування ЯП і препаратів порівняння (M ± m, n=7)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показник | Інтактні | Етанол+  ЯП | Етанол, контроль | Етанол+  АВ | Етанол+  КД |
| Вміст гемоглобіну, г/л | 153,7±2,75 | 143,1±  1,991,2 | 125±  2,311 | 131,3±  1,641 | 139,1±  2,191,2 |
| К-сть еритроцитів, х1012 /л | 7,53±  0,09 | 7,1±  0,091,2 | 6,1±  0,161 | 6,77±  0,081,2 | 6,9±  0,1 1,2 |

Примітки: 1 - р˂0,05 порівняно з інтактними; 2 – р ˂0,05 порівняно з контрольними тваринами.

Як свідчать дані літератури, етанол та його метаболіти істотно порушують вуглеводневий обмін шляхом зміни активності ферментів, що призводить до гіпоглікемії [88, 91, 97].

Для з’ясування можливого впливу ЯП та препаратів порівняння на вуглеводневий обмін за гострої алкогольної інтоксикації ми провели визначення вмісту глюкози в крові піддослідних тварин і виявили наступне. На даному етапі експерименту летальності у групах тварин не спостерігали. Всі тварини контрольної групи після введення алкоголю у шлунок приймали бічне положення, щури, які отримували ЯП до введення алкоголю та після нього були менш активними за інтактних, але не приймали бічного положення, мали збережений апетит і набагато швидше, ніж інші відновлювали рухову активність.

Рівень глюкози у тварин, лікованих ЯП, був достовірно вищим і наближеним до показника інтактних, ніж у нелікованих (р˂0,05) і лікованих АВ (р˂0,05) та не суттєво відрізнявся від групи, що отримувала КД (табл. 3.11).

Нам також було цікаво дослідити вплив ЯП та препаратів порівняння на вміст холестеролу в сироватці крові тварин із гострою алкогольною інтоксикацією, оскільки з літературних джерел відомо, що за гострої алкогольної інтоксикації порушується ліпідний обмін і зростає рівень холестеролу та інших дериватів жирних кислот [102, 123].

Наше дослідження показало, що у алкоголізованих щурів без лікування достовірно збільшується рівень холестеролу (р˂0,05) порівняно з інтактними тваринами та лікованими ЯП (див. табл. 3.12). Крім того, у групі, що отримувала ЯП показники були найбільш наближеними до норми і достовірно відрізнялись групи, де застосовували КД (р˂0,05).

Показано, що вміст холестеролу у сироватці крові тварин із гострою алкогольною інтоксикацією збільшився на 20 % (р˂0,05) порівняно з інтактними і був достовірно вищим за показники у всіх групах тварин, що отримували ЛЗ. Однак, серед тварин, що отримували лікування тільки за використання КД відзначено істотне підвищення цього показника (10 %; р˂0,05) порівняно з інтактними, контрольними та лікованими ЯП.

Таблиця 3.12

Показники вмісту глюкози та холестеролу у сироватці крові дослідних тварин за гострої алкогольної інтоксикації та лікувально-профілактичного введення ЯП і препаратів порівняння, (М ± m, n=7)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Дослідні групи | Глюкоза, ммоль/л | Холестерол, ммоль/л |
| Інтактні | 7,26±0,18 | 3,01±0,05 |
| Етанол+ЯП | 6,91±0,162 | 2,94±0,082 |
| Етанол, контроль | 4,13±0,191,3 | 3,61±0,051,3 |
| Етанол+АВ | 4,7±0,211,3 | 3,16±0,092 |
| Етанол+КД | 6,44±0,31,2,3 | 3,3±0,121,2,3 |

Примітки: 1 - р˂0,05 порівняно з інтактними тваринами; 2 - р˂0,05 порівняно з нелікованими; 3 - р˂0,05 порівняно з лікованими ЯП.

Оскільки традиційно прийнятими біомаркерами, що вказують на вживання алкоголю є рівень активності трансаміназ нами було проведення визначення АсАТ і АлАТ у сироватці крові експериментальних тварин.

Введення етанолу протягом 3 діб викликало збільшення активності АсАТ у контрольних тварин на 159 % (р˂0,05) та АлАТ на 50 % (р˂0,05) порівняно з інтактними. Виявили, що у всіх групах тварин, які отримували етанол і сорбенти, активність АсАТ і АлАТ теж була достовірно вищою (р˂0,05) , ніж у інтактній групі, але, у той же час, нижчою, ніж у нелікованих тварин (р˂0,05; див. табл. 3.13). Спостерігали також відмінності між групами тварин, які отримували лікування. Так, активність АлАТ і АсАТ серед лікованих тварин була найвищою в групі з використанням АВ. Результати, отримані за використання ЯП на 19,4 % - нижча активність АсАТ, і на 16,6 % проти активності АлАТ за введення тваринам АВ.

Водночас згадані ефекти прирівнювалися до отриманих нами за використання КД. Отже, експериментально показано позитивний вплив ЯП на активність біомаркерів алкоголю, який прирівнюється до впливу КД і є достовірно більшим за вплив АВ (табл. 3.13).

Таблиця 3.13

Показники активності трансаміназ у сироватці крові дослідних тварин за гострої інтоксикації етанолом та лікувально-профілактичного введення ЛЗ,

(М ± m, n = 7)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Дослідні групи | АсАТ, мккат/л | АлАТ, мккат/л |
| Інтактні | 0,99 ± 0,06 | 2,9 ± 0,14 |
| Етанол, контроль | 2,57 ± 0,21 | 4,34 ± 0,191 |
| Етанол+ЯП | 1,67 ± 0,11.2 | 3,21 ± 0,211.2 |
| Етанол+АВ | 2,07 ± 0,061.2.3 | 3,85 ± 0,141.3 |
| Етанол+КД | 2,02 ± 0,091,2 | 3,32 ± 0,121,2 |

Примітки: 1-p˂0,05 порівняно з інтактними; 2-p˂0,05 порівняно з групою, яка отримувала тільки алкоголь; 3-p˂0,05 порівняно з групою, лікованою ЯП.

Наступним кроком було дослідження активності ПОЛ шляхом визначення вмісту МДА, ДК та ферменту АОЗ – КТ в сироватці крові [67, 68].

Досліджено, що введення етанолу тваринам контрольної групи викликало достовірне зростання активності ПОЛ порівняно з інтактними щурами (р˂0,05; табл. 3.14). Так, вміст МДА ріс у два рази і становив 4,11 мкмоль/л, що вказує на інтенсивний процес ВРО за впливу етанолу та його метаболітів.

За лікування тварин ЯП відзначали зростання рівня МДА порівняно з інтактними тваринами до 2,77 ± 0,12 мкмоль/л, що було на 38 % вище за норму, але на 67 % менше, ніж у контролі (р˂0,05; табл. 3.14).

За введення препарату порівняння КД ми отримали показник активності ДК рівнозначний з таким при застосуванні ЯП (табл. 3.14).

Застосування АВ, після введеного алкоголю, істотно зменшувало вміст кінцевого продукту ПОЛ МДА порівняно з контролем (на 60 %; р˂0,05), але все ж він був вірогідно вищий за такий у інтактних тварин (на 45 %; р˂0,05; табл. 3.14).

Вміст ДК у сироватці крові тварин контрольної групи вірогідно зріс порівняно з нормою і становив 4,58 мкмоль / л (р˂0,05), що було на 33 % більше визначеного у інтактних.

Таблиця 3.14

Показники активності МДА, ДК і КТ у сироватці крові дослідних тварин за гострої алкогольної інтоксикації та дворазового введення ЯП, АВ і КД,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | МДА,мкмоль/л | ДК,мкмоль/л | Каталаза,мкмоль/хв. в 1 мг білку |
| Інтактні | 2,01 ± 0,12 | 3,44 ± 0,06 | 2,41 ± 0,12 |
| Етанол, контроль | 4,11 ± 0,151 | 4,58 ± 0,081 | 3,92 ± 0,111 |
| Етанол+ЯП | 2,77 ± 0,121,2 | 3,50 ± 0,052 | 2,97 ± 0,081,2 |
| Етанол+АВ | 2,91 ± 0,121,2 | 3,67 ± 0,111,2 | 3,18 ± 0,071,2 |
| Етанол+КД | 2,74 ± 0,11,2 | 3,73 ± 0,111,2 | 3,08 ± 0,141,2 |

(М ± m, n = 6)

Примітки: 1 - р˂0,05 порівняно з інтактними тваринами; 2 - р˂0,05 порівняно з контролем.

За введення досліджуваного та препаратів порівняння спостерігали практично рівнозначні зміни рівня ДК, що достовірно не відрізнялись від інтактних, але, водночас, були достовірно меншими за показник контрольної групи: ЯП – на 31 %, АВ – на 26 %, КД – на 25 % (р˂0,05; табл. 3.14).

Каталазний шлях окиснення етанолу має більш суттєве значення за хронічного зловживання алкоголем, але й у нашому дослідженні ми спостерігали зміни активності цього ферменту у алкоголізованих тварин проти інтактних. Так, зростання активності КТ на 63 % відзначене у контролі, на 23 % при застосуванні ЯП і на 32 % та 28 % у групах з АВ і КД, відповідно (р˂0,05; табл. 3.14). Однак, у всіх групах тварин, котрим проводили фармакологічну корекцію, активність КТ все ж була статистично вірогідно меншою за контроль (р˂0,05; табл. 3.14).

Застосування ЯП, КД і АВ призводило до статистично достовірного зниження активності процесів ПОЛ у сироватці крові дослідних тварин, порівняно з контролем, водночас, зміни досліджуваних показників не мали статистично достовірної різниці між групами тварин, що отримували лікування.

З літературних даних [43, 93,] відомо, що окиснення етанолу відбувається головним чином у печінці кількома шляхами, основним із яких є алкогольдегідрогеназний. Крім того, незначні кількості алкоголю метаболізуються каталазою та ферментами МСОЕ [93, 110]. Таким чином, підвищений рівень МДА і ДК відбувався через окислювальний стрес, викликаний генерацією АФК у процесі метаболізму етанолу [85, 102]. Вплив ЯП та інших адсорбентів, використаних в якості препаратів порівняння, проявився зниженням активності ПОЛ та вмісту КТ в сироватці крові у порівнянні з контрольною групою.

У всіх лікованих групах активність процесів ПОЛ була достовірно меншою за контрольних тварин, але суттєво вищою за інтактних (табл. 3.14).

Згідно до результатів цих досліджень можемо стверджувати, що за дворазового введення сорбційна здатність ЯП та препаратів порівняння сприяє зменшенню активації процесів ПОЛ і пригніченню розвитку оксидаційного стресу за впливу етанолу.

Проведений однофакторний дисперсійний аналіз показав, що значення достовірної різниці одно- та дворазового введення ЯП і препаратів порівняння за гострої алкогольної інтоксикації відрізняється, тому режим введення немає визначального значення.

Результати, висвітлені у даному підрозділі були опубліковані у наступних роботах:

1. Sheremeta L.M, Haynuk M.B. The influence of the apple pectin on some biochemical and hematological parameters of alcoholated animals. Medical and clinical chemistry. 2018; 20 (1): 21-25.
2. Гайнюк М.Б. Шеремета Л.М. Детоксикуючий ефект яблучного пектину за умов експериментальної гострої алкогольної інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2018; 20 (2): 72-76.
3. Haynuk M.B., Sheremeta L.M. Тhe apple pectin influence upon the liver histological structure and the activity of lipid peroxidation in experimental acute alcohol intoxication. The Pharma Innovation Journal. 2019; 8(2): 590-593.

**3.2 Дослідження детоксикуючої дії яблучного пектину за підгострої та субхронічної інтоксикації етанолом**

Хронічна інтоксикація алкоголем розвивається поступово і проявляється змінами зі сторони нервової системи, органів ШКТ, серцево-судинної системи [98]. Важливим компонентом хронічної інтоксикації (алкоголізму) є розвиток алкогольної залежності. Хоча сам етанол швидко метаболізується, вплив його токсичних метаболітів, зокрема ацетальдегіду, за постійного вживання спричиняє тяжкі пошкодження, деякі з них – незворотні [99, 113, 126].

Зменшення токсичності етанолу шляхом зниження його всмоктування і біодоступності є одним із можливих способів позбавлення неприємного стану при похміллі та зменшення потреби у повторному вживанні алкоголю за відсутності залежності. ЯП в якості сорбента та пребіотика може бути корисним і ефективним засобом у таких ситуаціях [37, 105, 133, 160]. Дослідженню ефективності ЯП за умов хронічної інтоксикації присвячений даний розділ роботи.

Вивчення впливу ЯП проводили на 65 білих нелінійних щурах масою 180-220 г. Субхронічну алкогольну інтоксикацію моделювали у 2 етапи.

На першому етапі відтворювали підгостру інтоксикацію протягом 11 днів (див. Розділ 2).

Відмічено летальність у групі алкоголізованих тварин – загинула 1 тварина на 2-й день від початку досліду. Спостереження за тваринами дозволило встановити, що всі тварини, котрі отримували алкоголь, приймали бічне положення протягом перших годин після введення алкоголю, мало рухались. Алкоголізовані тварини вживали більше води, починачи з 3 дня дослідження.

Таблиця 3.15

Показники летальності, приросту маси тіла та масового коефіцієнту печінки щурів за підгострої алкогольної інтоксикації та введення ЯП, АВ і КД (M±m)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | Приріст маси тіла,г | Масовий коефіцієнт печінки | Летальність, % |
| Інтактні, n=6 | 10,33±0,67 | 3,99±0,17 | - |
| Етанол +ЯП, n=6 | 7,67±1,963 | 3,89±0,08 | - |
| Етанол, контроль, n=5 | -2,4±1,751,2 | 6,44±0,161,2 | 16,6 |
| Етанол +АВ, n=6 | 7,67±1,333 | 4,51±0,141,2 | - |
| Етанол +КД, n=6 | 8,0±0,583 | 5,03±0,291,2,3 | - |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП; 3 - р˂0,05 порівняно з алкоголізованими.

Результати даного дослідження показують, що підгостра інтоксикація етанолом суттєво впливає на загальний стан тварин і зменшує приріст маси тіла (р˂0,05) у нелікованих щурів порівняно з усіма іншими експериментальними групами. Водночас, у групах лікованих тварин спостерігали практично рівнозначне збільшення названого показника, яке істотно не відрізнялось від норми. Величина масового коефіцієнту печінки свідчить про достовірне її збільшення не тільки у алкоголізованих – на 60 %, але й у лікованих АВ і КД порівняно з інтактними та лікованими ЯП тваринами (р˂0,05).

Табл. 3.16

Показники вітальних функцій у тварин з підгострою інтоксикацією етанолом (M±m; n=5)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | | Температура тіла (ректальна), 0 С | Частота дихання за 1 хв |
| Інтактні | 1 доба | 38,1±0,28 | 119,2±2,2 |
| 3 доба | 38,3±0,4 | 119,4±2,2 |
| 11 доба | 38,1±0,28 | 119,4±2,2 |
| Етанол+ЯП | 1 доба | 37,12±0,211,2 | 105,2±2,631,2 |
| 3 доба | 37,22±0,191,2 | 102,4±3,831,2 |
| 11 доба | 37,44±0,192 | 111,0±1,841,2 |
| Етанол (контроль) | 1 доба | 34,88±0,181,3 | 84,4±3,21,3 |
| 3 доба | 34,54±0,131,3 | 82,2±2,761,3 |
| 11 доба | 34,66±0,141,3 | 77,6±2,041,3 |
| Етанол+АВ | 1 доба | 35,8±0,221,3 | 90,0±2,431,3 |
| 3 доба | 35,66±0,41,3 | 89,6±2,641,3 |
| 11 доба | 35,64±0,311,3 | 83,2±2,731,3 |
| Етанол+КД | 1 доба | 36,22±0,211,2,3 | 100,8±2,941,2 |
| 3 доба | 36,82±0,221,2 | 100,2±2,061,2 |
| 11 доба | 36,9±0,191,2 | 103,2±2,581,2 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з алкоголізованими; 3 - р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Так, показник у групі з використанням КД зріс на 29 %, в той час як при введенні АВ - на 16 %, що підтверджує більшу органопротективну ефективність ЯП. Спостереження за тваринами показало також зміни вітальних функцій таких як частота дихання та температура тіла (табл. 3.16).

Встановлено, що введення етанолу викликало зменшення частоти дихальних рухів на 35 % та зниження температури тіла на 10 % порівняно з інтактними тваринами (табл. 3.15). У групах тварин, котрим проводили фармакологічну корекцію теж спостерігали зменшення температури тіла в середньому на 7 % при застосуванні АВ та не суттєво у групах, де вводили ЯП і КД (>5 %).

Найбільш ефективна дія у підтримці дихання та температури тіла тварин спостерігалась при застосуванні ЯП та КД, порівняно з контрольною групою.

**3.2.1 Гематологічні та біохімічні показники крові тварин за підгострої алкогольної інтоксикації та введення яблучного пектину**

Отримані нами дані про вплив алкоголю на гематологічні показники за гострої алкогольної інтоксикації [65] та відомості з літературних джерел [84, 117, 128] спонукали нас дослідити вплив ЯП на вміст гемоглобіну та кількість еритроцитів за підгострої моделі отруєння.

Отримані дані засвідчили, що у контрольних щурів названі показники відрізнялись від норми (інтактних) та лікованих тварин (табл. 3.17).

Дані, представлені у табл. 3.17, показують, що кількість еритроцитів у тварин, лікованих ЯП, хоч і вірогідно відрізнялась від показника інтактних (р˂0,05), водночас, була суттєво більшою за аналогічні дані не тільки нелікованих, але й лікованих препаратами порівняння щурів (р˂0,05) – на 12,6 % порівняно з АВ та на 7 % порівняно з КД. Щодо вмісту гемоглобіну, то суттєве його зниження було визначене у нелікованих тварин порівняно з інтактними та за введення ЯП і КД (р˂0,05). Отримані результати засвідчують позитивний вплив ЯП і його детоксикуючу дію імовірно через зменшення пошкоджуючого впливу етанолу та його метаболітів шляхом зменшення всмоктування токсиканта через сорбційні і нейтралізуючі властивості.

Таблиця 3.17

Гематологічні показники тварин за умов підгострої алкогольної інтоксикації та введення ЯП, АВ і КД (М ± m, n=5-6)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Показник | Інтактні, n=6 | Етанол+ЯП,  n=6 | Етанол,  контроль, n=5 | Етанол+АВ,  n=6 | Етанол+КД,  n=6 |
| К-сть еритроцитів, х1012 /л | 6,95±0,12 | 6,62±0,061 | 5,7±0,211,2 | 5,88±0,11,2 | 6,17±0,081,2 |
| Вміст гемоглобіну, г/л | 148,8±3,7 | 142,3±2,56 | 133,6±1,471,2 | 139,0±1,591 | 145,8±3,03 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП; 3- р˂0,05 порівняно з контролем.

Так, кількість еритроцитів у тварин контрольної групи становила 5,7 ± 0,21 х1012/л, що було на 18 % менше за інтактних (р˂0,05)

Оскільки маркерами цитолізу гепатоцитів, що вказують на пошкодження печінки є показники активності трансаміназ ми визначали їх рівень на цьому етапі експерименту. Також ми дослідили вміст непрямого біомаркера алкоголю МСМ після 11 діб введення етанолу та у групах із використанням лікувальних засобів.

Досліджено, що активність АлАТ і АсАТ у сироватці крові алкоголізованих тварин, котрі не отримували лікування, була вірогідно високою (р˂0,05) у порівнянні з інтактними тваринами, що свідчить про пошкодження мембран гепатоцитів та прояви цитолізу (табл. 3.18).

Таблиця 3.18

Вплив ЯП та препаратів порівняння на активність АсАТ, АлАТ, МСМ та вміст загального білку у сироватці крові тварин за умов підгострої алкогольної інтоксикації (М ± m, n = 6)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи тварин | АсАТ,мккат/л; n = 6 | АлАТ,мккат/л; n = 6 | Заг.білок,г/л; n = 6 | МСМ, у.о.; n = 5 |
| Інтактні | 2,7±0,16 | 1,07±0,08 | 61,82±1,66 | 0,20±0,03 |
| Етанол+ЯП | 3,16±0,091,2 | 1,65±0,091,2 | 60,32±0,81 | 0,30±0,021,2 |
| Етанол(контроль) | 3,4±0,141,3 | 3,14±0,151,3 | 55,32±0,351,3 | 0,42±0,031,3 |
| Етанол+АВ | 3,19±0,061,2 | 1,98±0,121,2 | 59,08±0,82 | 0,32±0,021,2 |
| Етанол+КД | 3,14±0,061,2 | 2,07±0,131,2,3 | 60,95±0,682 | 0,34±0,051,2 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з контрольними; 3- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Оскільки показники активності АлАТ і АсАТ є також традиційними біомаркерами алкоголю [21, 2441, 72, 74, 106], то одержані нами дані, представлені в табл. 3.18, стали підтвердженням детоксикуючої дії ЯП та препаратів порівняння за субхронічного отруєння алкоголем.

За введення етанолу у групі контрольних тварин рівень АсАТ зріс на 26 % проти інтактних (р˂0,05; табл. 3.18).

У всіх групах лікованих тварин активність АсАТ, хоч і вірогідно відрізнялась від такої інтактних (р˂0,05), водночас, була більш наближеною до норми, ніж у контрольних щурів (р˂0,05).

Рівень АлАТ теж був підвищений у всіх дослідних групах проти інтактних (р˂0,05, табл. 3.18), але суттєвою була також різниця із контрольними тваринами (р˂0,05), а саме: застосування ЯП зменшувало активність названої трансамінази на 47 %, АВ – на 37 %, а КД на 34 %. Щури, котрі отримували ЯП мали достовірно нижчий рівень активності АлАТ, ніж ліковані КД (на 25 %, р˂0,05).

За даними сучасної літератури відомо, що тривале застосування алкоголю призводить до пригнічення білоксинтезуючої функції печінки, що проявляється зниженням вмісту загального білку та амінокислот у сироватці крові, змінами альбуміно/глобулінового співвідношення, змінами активності білків-ферментів та ін. [48, 61, 62, 110, 127, 129]. На даному етапі дослідження ми визначали вміст загального білку у сироватці крові дослідних тварин (див. табл.3.18). Показано, що введення алкоголю тваринам протягом 11 діб достовірно зменшило вміст білку у нелікованих тварин (р˂0,05). Водночас слід відзначити практично рівнозначні дані у групах лікованих тварин, що не відрізнялись від інтактних.

Накопичення МСМ є маркером інтоксикації і спостерігається за різних патологічних станів, наприклад, опіковій хворобі, макроцитарній анемії та ін. Значне зростання рівня МСМ вважають основним показником, що відображає ступінь патологічного білкового метаболізму. За алкогольної інтоксикації МСМ є непрямим біомаркером, який характеризує надмірне вживання алкоголю протягом певного часу (понад 2-4 тижні) [61, 74].У нашому експерименті відзначено збільшення вмісту МСМ у сироватці крові щурів у всіх групах з підгострою інтоксикацією етанолом на 11-ту добу порівняно з інтактними тваринами (р<0,05; табл. 3.18). Що може бути поясненим зменшенням рівня загального білку в сироватці крові (р<0,05; табл.3.18), внаслідок пригнічення білковосинтезуючої функції печінки [121, 148]. Тривале вживання алкоголю, як відомо, призводить до порушень усіх видів обміну, а у першу чергу – ліпідного [123], що ми дослідили шляхом визначення вмісту загальних ліпідів, холестеролу та триацилгліцеролів у сироватці крові експериментальних тварин.

Досліджено, що у сироватці крові контрольних тварин рівень маркерів ліпідного метаболізму, а саме - загальних ліпідів, холестеролу та триацилгліцеролів був вірогідно вищим за показники норми (інтактних тварин) (р<0,05; табл. 3.19), що може вказувати на розвиток такої характерної ознаки зловживання алкоголем, як жирова дистрофія печінки.

Введення тваринам алкоголю протягом 11 днів викликало не рівнозначні зміни у всіх дослідних групах. Так, достовірне зростання вмісту загальних ліпідів спостерігали не тільки у контрольних тварин, але й за введення АВ та КД (р˂0,05), у той же час, за використання ЯП даний показник був наближеним до норми і достовірно нижчим від такого у контролі (р˂0,05; табл. 3.19).

Таблиця 3.19

Вплив ЯП і препаратів порівняння на показники ліпідного обміну сироватці крові тварин за підгострої алкогольної інтоксикації (М ± m, n = 6)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | Загальні ліпіди, г/л | Холестерол, ммоль/л | Триацилгліцероли,ммоль/л |
| Інтактні | 2,43±0,08 | 3,02±0,06 | 1,55±0,06 |
| Етанол+ЯП | 2,48±0,15 | 2,88±0,08 | 2,59±0,101,2 |
| Етанол, контроль | 3,32±0,061,3 | 3,92±0,091,3 | 3,51±0,061,3 |
| Етанол +АВ | 2,73±0,081 | 3,28±0,081,2,3 | 3,08±0,091,2,3 |
| Етанол +КД | 2,75±0,071 | 3,1±0,082,3 | 3,18±0,111,2,3 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з нелікованими; 3- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Поряд із збільшенням вмісту загальних ліпідів спостерігали накопичення триацилгліцеролів та холестеролу у сироватці крові, що є типовим метаболічним порушенням за хронічного вживання алкоголю [6, 36, 102].

Вміст холестеролу у групі з застосуванням ЯП практично не відрізнявся від норми, і, водночас, достовірно зріс у тварин, контрольних і лікованих АВ - на 35 % та 14 % відповідно (р˂0,05). Щодо порівняння впливу на цей показник досліджуваного засобу та еталонних сорбентів, то слід відзначити достовірно більшу ефективність ЯП, ніж АВ та КД (р˂0,05; табл. 3.18).

Кількісний показник триацилгліцеролів збільшився у всіх групах тварин порівняно з інтактними (р˂0,05), але у тварин, лікованих ЯП, АВ та КД він був вірогідно меншим, ніж у контрольній групі – на 59 %, 28 % і 21 % відповідно (р˂0,05). Використання ЯП сприяло найбільш ефективному зниженню кількості триацилгліцеролів у порівнянні з іншими групами тварин, котрим була проведена фармакологічна корекція (р˂0,05). Вміст загальних ліпідів достовірно збільшувався у контрольній групі (на 37 % порівняно з інтактними), на 35 % порівняно з лікованими ЯП та на 12 % і 13 % у порівнянні з тваринами, що отримували препарати порівняння АВ і КД відповідно.

Порівнюючи результати, отримані при дослідженні окремих показників, що характеризують метаболізм ліпідів за підгострої алкогольної інтоксикації, слід відзначити, що вплив ЯП був найбільш виражений, що проявлялось найменшим зростанням вмісту холестеролу, загальних ліпідів та триацилгліцеролів, як порівняно з контрольними тваринами, так і з лікованими препаратами порівняння [103].

**3.2.2 Біохімічні показники крові тварин за субхронічної алкогольної інтоксикації та введення яблучного пектину**

На другому етапі вивчення впливу ЯП на перебіг субхронічної алкогольної інтоксикації було використано 35 білих нелінійних щурів масою 180-220 г.

На 2-й день експерименту відмічена загибель тварин: 2 щурів із контрольної групи та 1 – з групи, лікованих АВ. Тварини контрольної групи мали різко знижений апетит і споживали багато води, мало рухались. Пригнічення апетиту та порушення метаболізму на тлі введення алкоголю протягом 28 днів призвело до зменшення приросту маси тіла (табл. 3.20).

Зменшення приросту маси тіла, порівняно з інтактними, спостерігали у всіх тварин, що отримували алкоголь, але у групах лікованих тварин воно було вірогідно меншим, ніж у контрольних щурів (р˂0,05).

Зростання масового коефіцієнта печінки було значним тільки у алкоголізованих тварин (р˂0,05), при чому як у порівнянні з інтактними, так і всіма групами, що отримували лікування.

Таблиця 3.20

Показники летальності, приросту маси тіла та масового коефіцієнту печінки щурів за умов субхронічної алкогольної інтоксикації та введення ЯП, АВ і КД (n=7)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | Приріст маси тіла,г | Масовий коефіцієнт печінки | Летальність, % |
| Інтактні | 12,71±1,3 | 4,34±0,2 | - |
| Етанол+ЯП | 8,0±0,721,2 | 4,61±0,282 | - |
| Етанол, контроль | -4,0±0,631 | 6,67±0,141 | 28,6 |
| Етанол+АВ | 6,67±0,491,2 | 4,78±0,252 | 14,3 |
| Етанол+КД | 9,29±1,462 | 4,6±0,22 | - |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з нелікованими тваринами.

Вивчення окремих вітальних функцій, а саме частоти дихання та температури тіла показало істотний вплив етанолу у контрольній групі тварин (табл. 3.21). Достовірне зниження температури тіла порівняно з нормою спостерігали у всіх групах тварин, що приймали етанол на 1-шу та 3-тю добу експерименту. У контрольній групі тварин цей показник був статистично вірогідним протягом всього експерименту.

При вивченні впливу ЯП та препаратів порівняння на окремі вітальні функції щурів за субхронічної інтоксикації етанолом встановлено позитивний вплив ЯП, АВ та КД на підтримання температури тіла та частоту дихання (див. табл. 3.21). За введення етанолу у тварин контрольної групи відмічене зниження температури тіла на 10-11 %, порівняно з інтактними тваринами. У експериментальних групах із використанням фармакологічної корекції теж відзначено зниження температури: на 2-4 % при застосуванні ЯП, 8 % у тварин, що отримували АВ та 4-5 % у групі з КД.

Таблиця 3.21

Показники окремих вітальних функцій у тварин за субхронічної інтоксикації етанолом та введенням ЯП, АВ і КД (n=5)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | | Температура тіла (ректальна), 0 С | Частота дихання за 1 хв |
| Інтактні | 1 доба | 38,1±0,28 | 119,4±2,2 |
| 3 доба | 38,3±0,4 | 120,4±2,2 |
| 28 доба | 38,1±0,28 | 121,4±2,2 |
| Етанол+ЯП | 1 доба | 37,24±0,241,2 | 96,0±3,521,2 |
| 3 доба | 37,14±0,241,2 | 100,4±3,711,2 |
| 28 доба | 38,06±0,192 | 107,2±2,421,2 |
| Етанол (контроль) | 1 доба | 35,08±0,291,3 | 78,4±2,141,3 |
| 3 доба | 34,8±0,271,3 | 78,0±2,281,3 |
| 28 доба | 34,66±0,211,3 | 69,2±1,621,3 |
| Етанол+АВ | 1 доба | 34,96±0,231,3 | 83,2±2,871,3 |
| 3 доба | 35,18±0,151,3 | 84,0±3,581,3 |
| 28 доба | 35,78±0,281,3 | 82,0±1,671,3 |
| Етанол+КД | 1 доба | 36,5±0,31,2,3 | 96,0±3,171,2 |
| 3 доба | 36,74±0,221,2 | 100,0±2,281,2 |
| 28 доба | 37,32±0,252 | 98,8±2,331,2,3 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з алкоголізованими; 3 - р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Порівняння частоти дихання тварин контрольної та інтактної групи продемонструвало зменшення показників у алкоголізованих щурів на 35 % на 1-шу та 3-тю добу. Зменшення частоти дихальних рухів спостерігали також і в групах, що отримували лікування ЯП, АВ та КД в середньому на 18 %, 30 % та 18 % на 28 добу відповідно.

Отже, ефективний вплив на підтримання частоти дихання та температуру тіла визначено у ЯП та КД порівняно з контрольною групою тварин.

Тестування рухової та орієнтовно-дослідницької активності проводили через 2 год після введення досліджуваного і засобів порівняння (табл. 3.22).

У групі контролю та за використання АВ спостерігали зменшення «горизонтальної активності» за показником кількості пересічених квадратів на 1-шу, 3-тю та 28-му добу експерименту порівняно з інтактними та тваринами, котрим вводили ЯП. Корекція інтоксикації ЯП справляла позитивний вплив і показник у цій групі був максимально наближений до інтактних у 1-шу та 28-му добу і відрізнявся від норми на 3-тю добу (р˂0,05). Введення КД сприяло пригніченню активності порівняно з інтактними (р˂0,05), але достовірно покращувало цей показник щодо контролю (р˂0,05; табл. 3.22).

Орієнтовно-дослідницька поведінка експериментальних тварин за показником ніркового рефлексу, що свідчить про пізнавальну активність практично не змінювалась у групах із фармакологічною корекцією протягом усього експерименту і була достовірно пригніченою у контрольних тварин на 3-тю та 28-му добу порівняно з ЯП (р˂0,05; табл. 3.22).

Кількість дефекацій, як показник емоційного статусу, змінювалась у групі контролю, при чому на 1-шу добу вона була статистично меншою за інтактних та ЯП, а на 3-тю – істотно зросла (р˂0,05; табл. 3.22). На 28-му добу у групах тварин, що отримували лікування ЯП і КД, цей показник наближався до норми, у контрольній та з АВ – був достовірно вищий за інтактних та ЯП (р˂0,05; табл. 3.22).

Табл. 3.22

Показники рухової активності тварин з субхронічною інтоксикацією етанолом при введенні ЯП, АВ і КД (М±m, n=5)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | | К-сть пересічень | К-сть заглядань у отвори | К-сть дефекацій | Грумінг |
| Інтактні | 1 доба | 10,6 ±0,75 | 3,6±0,4 | 1,25±0,5 | - |
| 3 доба | 10,5 ±0,75 | 5,2±0,58 | 1,2±0,2 | - |
| 28 доба | 10,6 ±0,45 | 5,2±0,58 | 0,8±0,37 | 2,0±0,32 |
| Етанол+ЯП | 1 доба | 9,2 ±0,582 | 4,2±0,2 | 1,6±0,4 | - |
| 3 доба | 8,4 ±0,511,2 | 4,2±0,37 | 1,6±0,24 | 1,6±0,4 |
| 28 доба | 9,4 ±0,752 | 5,6±0,4 | 0,8±0,2 | 1,2±0,2 |
| Етанол (контроль) | 1 доба | 7,4 ±0,681,3 | 4,0±0,45 | 0,6±0,241,3 | - |
| 3 доба | 6,6 ±0,41,3 | 3,0±0,321,3 | 1,0±0,32 | 2,0±0,32 |
| 28 доба | 6,2±0,371,3 | 3,8±0,373 | 3,0±0,321,3 | 2,8±0,23 |
| Етанол+АВ | 1 доба | 7,0±0,711,3 | 4,0±0,32 | 0,8±0,37 | - |
| 3 доба | 7,6 ±0,681,3 | 3,2±0,371 | 1,2±0,2 | - |
| 28 доба | 7,0 ±0,451,3 | 4,4±0,243 | 2,0±0,321,3 | 2,2±0,37 |
| Етанол+КД | 1 доба | 8,8 ±0,491,2 | 4,4±0,24 | 0,4±0,24 | - |
| 3 доба | 8,8 ±0,661,2 | 3,8±0,37 | 1,0±0,32 | 1,2±0,2 |
| 28 доба | 7,±0,371,2 | 4,6±0,51 | 1,4±0,51 | 2,2±0,37 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з контролем; 3 - р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Грумінг не спостерігали на 1-шу добу у жодній групі, на1-шу та 3-тю добу – у інтактних та лікованих АВ тварин, на 28-му добу найбільше «умивань» було відзначено у контролі (р˂0,05). За використання АВ і КД цей показник теж зростав, але результати статистично не достовірні (див. табл. 3.22).

На попередніх етапах вивчення детоксикуючої дії ЯП експериментально доведено його позитивний вплив на вміст еритроцитів і гемоглобіну у алкоголізованих щурів [110].

Зростання рівня АсАТ і АлАТ у сироватці крові дослідних тварин відзначено у всіх дослідних групах (табл.3.23).

Експериментально доведено, що токсичний вплив алкоголю, котрий вводили протягом 28 діб, проявлявся вираженим цитолізом гепатоцитів.

Так, активність АсАТ у групі контрольних тварин зросла на 53 %, АлАТ – на 49 % (р˂0,05), порівняно з інтактними (табл.3.23).

Достовірно зросли показники трансаміназ і у групах тварин, що отримували лікування, але тут спостерігали виразні відмінності.

Показано, що введення ЯП за хронічної алкогольної інтоксикації хоч і не запобігало зростанню активності АсАТ, вона була вищою за таку у інтактних щурів на 11 % і становила 2,92 ± 0,16 мккат/л (р˂0,05), водночас, суттєво її зменшувала порівняно з контролем – на 42 % (р˂0,05), проти групи з використанням АВ – на 18 % (р˂0,05) та на 11 % (р˂0,05) порівняно з групою, тваринам якої вводили КД (р˂0,05; табл. 3.23). Таким чином, активність АсАТ за лікування ЯП була найнижчою серед усіх дослідних груп, що отримували етанол протягом 28 діб (р˂0,05), що свідчить про високу детоксикуючу активність досліджуваного засобу.

Визначення рівня АлАТ у контрольній групі тварин показало зростання на 49 % порівняно з інтактними тваринами (р˂0,05).

Введення ЯП пригнічувало індуковане алкоголем зростання АлАТ на 21 % проти контролю (р˂0,05), хоч, у той же час, цей показник був достовірно вищим за такий інтактних (р˂0,05) і прирівнювався до результату у групі, де використовували препарат порівняння КД (р˂0,05).

Таблиця 3.23

Вплив ЯП та препаратів порівняння на активність АсАТ, АлАТ і МСМ у сироватці крові тварин за умов субхронічної алкогольної інтоксикації

(М ± m, n = 7)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | АсАТ, мккат/л | АлАТ, мккат/л | МСМ, у.о. |
| Інтактні | 2,62±0,16 | 2,90±0,14 | 0,18±0,02 |
| Етанол+ЯП | 2,92±0,161 | 3,71±0,151 | 0,20±0,012 |
| Етанол, контроль | 4,01±0,121,3 | 4,33±0,221,3 | 0,51±0,031,3 |
| Етанол+АВ | 3,39±0,111,2,3 | 4,34±0,141,3 | 0,39±0,031,2,3 |
| Етанол+КД | 3,21±0,111,2,3 | 3,65±0,221,2 | 0,28±0,011,2,3 |

Примітки: 1- р˂0,05 порівняно з інтактними; 2- р˂0,05 порівняно з контролем;

3- р˂0,05 порівняно з тваринами, лікованими ЯП.

Застосування препарату порівняння АВ засвідчило найменш виражений коригуючий вплив на вищевказаний тест, а показник практично не відрізнявся від контрольної групи тварин, становив 4,34 ± 0,14 мккат/л і був достовірно вищим за такий у групі тварин, що отримували ЯП (р˂0,05).

Вміст біомаркера за хронічного вживання алкоголю МСМ, що показує ступінь інтоксикації та порушення білкового обміну, теж зазнав істотних змін за субхронічної інтоксикації етанолом. Найбільше зростання даного показника відзначене у контрольній групі, де він збільшився на 183 % порівняно з інтактними і становив 0,51±0,03у.о. Статистично значимі різниці вмісту МСМ визначені також у групах з фармакологічною корекцією: на 117 % при застосуванні АВ, 56 % з КД і 11 % з ЯП (р˂0,05; див. табл. 3.23). Даний тест підтвердив найбільш позитивний нормалізуючий вплив ЯП, порівняно з іншими препаратами, що використані для порівняння.

Таким чином, ЯП проявляв лікувальний ефект за умов субхронічної алкогольної інтоксикації, а його вплив на досліджувані показники прирівнювався до дії еталонного сорбенту КД, а в деяких випадках (АсАТ, МСМ) переважав її (р˂0,05). Показано, що ЯП завдяки здатності зв’язувати етанол сприяє зменшенню його токсичної дії і пошкодження печінкових клітин, а отже виявляє виразну детоксикуючу і гепатопротективну дію.

Розвиток субхронічної алкогольної інтоксикації пов’язаний із індукцією процесів ВРО [36, 53] і супроводжувався істотними порушеннями зі сторони показників активності ПОЛ – МДА, ДК та КТ у сироватці крові дослідних тварин (табл.3.24).

Вміст ДК у сироватці крові тварин контрольної групи зріс на 66 % порівняно з інтактними тваринами і становив 4,94 ±0,23 мкмоль/л і це був достовірно найвищий показник серед інших експериментальних групах (р˂0,05; табл. 3.24).

Суттєве зменшення вмісту ДК спостерігали у сироватці крові тварин за введення ЯП: 3,44 ± 0,06 мкмоль/л, що було на 16 % більше за інтактних, але, водночас, на 50 % менше за контроль (р˂0,05).

Застосування АВ і КД теж зменшувало рівень ДК порівняно з контролем (р˂0,05; табл. 3.24), але він залишався достовірно вищим за такий у групі, де вводили ЯП (р˂0,05; табл. 3.24). У контрольній групі кількість МДА теж суттєво збільшилась – на 23 % порівняно з нормою (р˂0,05; табл.3.24). Таке збільшення вмісту продуктів ПОЛ у сироватці крові, що утворюються за ВРО фосфоліпідів мембран та жирних кислот імовірно свідчить про посилення активності ліпопероксидації, пошкодження мембран гепатоцитів і вказує на токсичне ураження печінки алкоголем та його метаболітами.

За введення ЯП відзначили, що вміст у сироватці крові цього кінцевого продукту ПОЛ був рівнозначний з групою інтактних тварин (табл. 3.22), але достовірно відрізнявся від такого інших експериментальних груп: на 20 % проти контролю, 14 % порівняно з використанням АВ та 9 % проти групи тварин, котрим вводили КД (р˂0,05).

Таблиця 3.24

Вплив ЯП та препаратів порівняння на вміст МДА, ДК та активність КТ у сироватці крові тварин за умов субхронічної алкогольної інтоксикації (М ± m, n = 7)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Дослідні групи | ДК, мкмоль/л | МДА, мкмоль/л | КТ, мкмоль/хв. в мг білку |
| Інтактні | 2,97±0,09 | 4,43±0,09 | 2,54±0,12 |
| Етанол, контроль | 4,94±0,231 | 5,46±0,141,3 | 1,72±0,091 |
| Етанол+ЯП | 3,44±0,061,2 | 4,56±0,082 | 2,74±0,142 |
| Етанол+АВ | 3,82±0,091,2,3 | 5,17±0,111,2,3 | 2,73±0,122 |
| Етанол+ КД | 3,83±0,161,2,3 | 4,96±0,091,2,3 | 2,86±0,082 |

Примітки: 1 – р˂ 0,05 порівняно з інтактними; 2 – р˂ 0,05 порівняно нелікованими тваринами; 3 – р˂ 0,05 порівняно з лікованими ЯП.

Достовірне зменшення активності ферменту АОЗ - КТ (на 32 %) порівняно з інтактними тваринами засвідчило суттєву індукцію процесів ПОЛ алкоголем.

Введення дослідним тварин ЯП та препаратів порівняння продемонструвало істотній позитивний вплив ЛЗ із сорбуючими властивостями. Активність КТ нормалізувалась і ми отримали практично рівнозначні дані у всіх групах лікованих тварин, що статистично достовірно відрізняло їх від контрольних ((р˂0,05; табл. 3.24).

Отже, грунтуючись на отриманих результатах можна стверджувати, що за субхронічної алкогольної інтоксикації ЯП достовірно інтенсивніше за АВ пригнічує ПОЛ, гальмує розвиток оксидативного стресу, а також нормалізує активність ферменту АОЗ - КТ, тим самим спричиняє позитивний лікувальний, детоксикуючий ефект.

**РОЗДІЛ 4**

**МОРФОЛОГІЧНІ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Як відомо, патогенетичними причинами токсичного впливу алкоголю та його метаболітів на печінку і розвитку алкогольної хвороби печінки є накопичення ацетальдегіду і індукція завдяки цьому ВРО і оксидативного стресу, формування стійких комплексів з білками – аддуктів ацетальдегіду, окиснення фосфоліпідів мембран продуктами ПОЛ, порушення проникності мембран, збільшення синтезу лактату, ацетату і розвиток лактат-ацидозу, порушення ліпідного обміну, гіпоксії, посилення колагеногенезу, фіброгенезу, канцерогенезу. Аддукти ацетальдегіду мають властивості антигенів і викликають утворення антитіл. Тривала хронічна інтоксикація алкоголем призводить до незворотніх змін у паренхімі печінки і може ускладнюватись фіброзом та цирозом печінки та/або трансформуватись у рак [11, 42].

Гістологічні зміни за алкогольного ураження печінки супроводжуються гідропічною дистрофією, утворенням тілець Меллорі, розвитком набряку та центролобулярного некрозу гепатоцитів із наступною інфільтрацією поліморфноядерними лейкоцитами та лімфоцитами. Посилення активності ВРО і збільшення продукції АФК призводять до пригнічення системи АОЗ і накопичення ТБК-активних продуктів, які посилюють імунне запалення в паренхімі печінки та сприяють розвитку стеатогепатозу [95, 121,127].

**4.1 Дослідження впливу яблучного пектину на морфологічну структуру печінки за гострої алкогольної інтоксикації**

За умов гострої алкогольної інтоксикаціїтрабекулярна радіальна структурна організація печінки порушена здебільшого за рахунок дистрофічних змін гепатоцитів у різних ділянках класичних печінкових часточок: як у периферичній, так і проміжній і центральній їх зонах (рис. 4.1, 4.2).

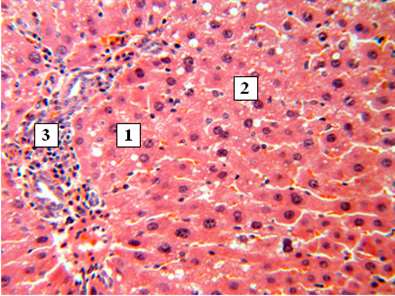


Рис. 4.1. Гостра інтоксикація етанолом. Жирова дистрофія гепатоцитів у периферичній (1) і проміжній (2) зонах класичної печінкової часточки. Лейкоцитарно-макрофагальна інфільтрація у портальному тракті (3).

Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

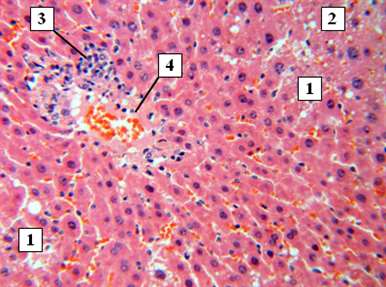


Рис. 4.2. Гостра інтоксикація етанолом. Жирова дистрофія гепатоцитів у проміжній (1) і центральній (2) зонах класичної печінкової часточки. Лейкоцитарно-макрофагальна інфільтрація у портальному тракті (3). Плазматичний набряк стінки печінкової вени (4). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

Виразність жирової дистрофії становила 4,3 при півкількісній оцінці вмісту ліпідів за п’ятибальною шкалою. Метричні розміри гепатоцитів збільшені: середня площа печінкової клітини становить 412,47±36,32 мкм2 (у групі контролю − 325,73±22,18 мкм2), середній периметр − 71,98±4,87 мкм (група контролю − 63,96±3,41 мкм). Частка паренхіми становила 92,58±7,38 % (група контролю − 84,49±5,9 3 %). Збільшення розмірів клітин зумовлено здебільшого накопиченням прозорих вакуолей жиру у їх цитоплазмі − від дрібного розміру з розвитком мікровезикулярної дистрофії до вакуолей середнього калібру (середньовакуольна дистрофія) та крупних вакуолей (крупновакуольна дистрофія). При крупнокраплинній жировій дистрофії ядра зміщувались до плазмолеми, цитоплазма при забарвленні гематоксиліном і еозином візуалізувалась оптично порожньою з вузьким еозинофільним обідком. Контури дистрофічно змінених гепатоцитів неправильної полігональної форми, нечіткі, завуальовані, особливо при середньо- та крупнокраплинній дистрофії.

Більшість печінкових паренхіматозних клітин представлені одноядерними нормальними клітинами (61,25 клітини на 100 гепатоцитів), проте їхня кількість була значно меншою, ніж у групі контролю (82,47 %). Частка дистрофічно змінених клітин при гострій інтоксикації етанолом становила в середньому 21,1 клітини на 100 гепатоцитів (група порівняння − 4,5 %). В окремих дослідних тваринах жирова дистрофія печінкових клітин сягала 74 %, різко порушуючи трабекулярну будову органу та викликаючи компресію оточуючих синусоїдних гемокапілярів (рис. 4.3).

Ядра гепатоцитів здебільшого округлої форми, середньою площею 71,59±5,22 мкм2 (у групі контролю середня площа ядра гепатоцита становила 52,12±3,24 мкм2), із середнім периметром 32,84±2,53 мкм (група контролю − 25,59±1,19 мкм). При розрахунку ядерно-цитоплазматичного індексу встановлено, що даний показник становить 0,17 (група контролю − 0,16). Контури ядер здебільшого чіткі. Хроматин гетерогенний: світлі зони еухроматину з темними гематоксиліновими грудочками гетерохроматину. В більшості ядер печінкових клітин візуалізувались невеликі округлої форми ядерця.

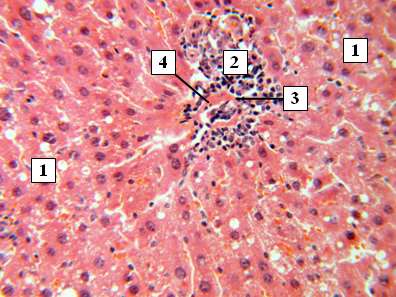


Рис. 4.3. Гостра алкогольна інтоксикація. Дисемінована жирова дистрофія гепатоцитів із вакуолями різного калібру (1). Лейкоцитарно-макрофагальна інфільтрація у портальному тракті (2). Плазматичний набряк (3) і фокальний фібриноїдний некроз (4) стінки судини портального тракту.

Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

У групі нелікованих щурів була різко зменшена кількість двохядерних гепатоцитів − 4,9 двохядерних клітини на 100 печінкових клітин (група інтактного контролю − двохядерні клітини становили 12,31 %). В той же час, при гострій інтоксикації етанолом різко зростала кількість гепатоцитів із незворотніми альтеративними змінами − 12,75 клітин на 100 гепатоцитів (група контролю − 0,72 % клітин із незворотніми дегенеративними змінами) (рис. 4.4).

Здебільшого дані клітини з ознаками некрозу, в яких відзначалась зерниста еозинофільна цитоплазма, часто з вакуолями різного розміру у ній, різко розмиті контури плазмолеми, неправильні межі клітин, ядра здебільшого завуальовані, блідо-фіолетові, в частині клітин зовсім не візуалізувались, частина ядер зменшена у розмірах із дещо ущільненим хроматином.

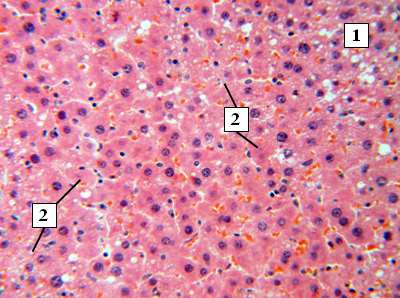


Рис. 4.4. Гостра алкогольна інтоксикація. Зональна жирова дистрофія гепатоцитів із вакуолями різного калібру (1). Фокальні уніцелюлярні некрози печінкових клітин (2). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

У випадках каріолизису відзначали також і рексис цитоплазми клітин із розпадом її на окремі еозинофільні грудочки. У поодиноких гепатоцитах, розміри яких дещо зменшені, цитоплазма насичено еозинофільна, здебільшого гомогенна, ядра також дещо зменшені та з гомогенним хроматином, з чіткими контурами каріолеми. Також відзначався плазморексис у поодиноких таких клітинах із формуванням гомогенних еозинофільних апоптичних тілець.

Просвіти синусоїдних гемокапілярів здебільшого звужені збільшеними у розмірах дистрофічно зміненими печінковими клітинами. При гострій інтоксикації етанолом частка синусоїдних гемокапілярів становила 3,18±0,17 % проти 12,31±0,9% у групі інтактних тварин. Переважали капіляри без крові, їхня частка − 2,26±0,17 % проти 0,92±0,05 % капілярів із кров’ю у просвіті (група контролю − 9,48±0,36 % та 2,83±0,19 %). Проте аналіз відсоткового співвідношення свідчив про наростання за гострої інтоксикації етанолом кількості капілярів, які заповнені еритроцитами – 29 % проти 23 % у групі порівняння та, відповідно, зменшення при гострій інтоксикації етанолом кількості капілярів, які не заповнені еритроцитами – 71 % проти 77 % групи контролю. При гострій інтоксикації етанолом у просвіті синусоїдних гемокапілярів спостерігали також поодинокі лімфоцити та макрофаги.

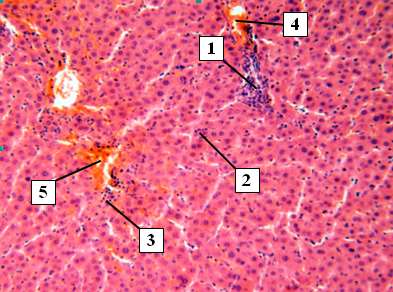


Рис. 4.5. Гостра алкогольна інтоксикація. Лейкоцитарна інфільтрація у портальній (1), проміжній (2) і центральній (3) зонах. Повнокрів’я портальних судин (4) і центральних вен (5). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20.

У кількох випадках відзначали домінування ексудативних змін над альтеративними, що супроводжувалось лейкоцитарно-макрофагальною інфільтрацією як у портальних трактах, так і навколо центральних вен (рис. 4.5), а також візуалізацією груп лейкоцитів у просвіті синусоїдних гемокапілярів із ознаками лейкостазу в окремих із них (рис. 4.6). Дегенеративні зміни гепатоцитів при цьому були менш вираженими.

Сполучна тканина портальних трактів із ознаками набряку, що супроводжується розволокненням сполучнотканинних волокон і зростанням відсоткової її частки до 2,53±0,17 % (група контролю −1,19±0,09 %). Стінка судин з ознаками плазматичного просякання та в окремих − із фібриноїдним некрозом, що проявляється гомогенізацією стінки з її насичено еозинофільним забарвленням (рис. 4.5, 4.6). У портальних трактах, особливо при фібриноїдних змінах судинної стінки, поряд із набряком відзначається лімфоцитарно-макрофагальна інфільтрація з поодинокими нейтрофільними лейкоцитами, з виходом поодиноких клітин за межі пограничної пластинки (рис. 4.5, 4.6).

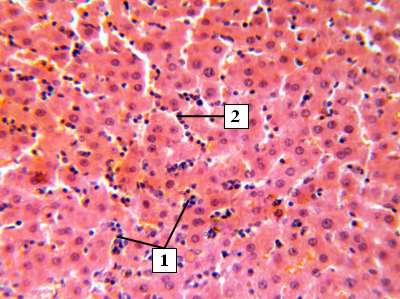


Рис. 4.6. Гостра інтоксикація етанолом. Лейкоцити у просвіті синусоїдних гемокапілярів (1) з явищами лейкостазу в окремих із них (2). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

Застосування ЯП при гострій інтоксикації етанолом супроводжувалось регресією дегенеративних змін печінкових клітин із помітним відновленням трабекулярної будови органу (рис. 4.7).

Регресія дегенеративних змін характеризувалась зменшенням накопичення ліпідних вакуолей у цитоплазмі гепатоцитів, особливо крупних крапель ліпідів, в меншій мірі крапель середнього розміру. У цитоплазмі печінкових клітин відзначали здебільшого дрібні прозорі вакуолі у периферичних відділах класичних печінкових часточок, рідше у проміжній їх зоні (рис. 4.8).

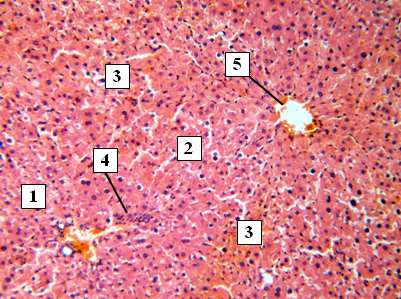


Рис. 4.7. Гостра інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Дрібнокраплинна жирова дистрофія гепатоцитів у периферичній (1) і проміжній (2) зонах печінкових часточок. Вогнищеве повнокрів’я синусоїдних гемокапілярів (3). Групи лейкоцитів і макрофагів у портальному тракті (4). 5 − центральна вена.

Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20.

Ступінь накопичення ліпідів за півкількісною оцінкою становив 2,2, що вдвічі менше, ніж при гострій інтоксикації етанолом без застосування ЯП, проте ще залишався більшим, ніж у групі інтактних тварин. Кількість дистрофічно змінених клітин склала 9,25 на 100 гепатоцитів, що близько у 2,5 рази менше, ніж у контрольній групі без лікування. Незважаючи на значне зменшення накопичення ліпідів у цитоплазмі гепатоцитів контури їхні залишились розмитими, цитоплазма зернистою.

Зростала кількість одноядерних нормальних клітин − 78,2 клітини на 100 гепатоцитів. Це супроводжувалось також відновленням пластинчастої будови печінки, особливо у центральних відділах класичних печінкових часточок, де ступінь жирової дистрофії був мінімальним, або відсутнім.

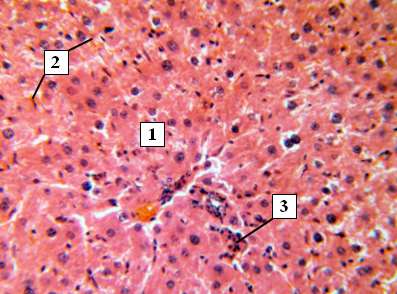


Рис. 4.8. Гостра інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Дрібнокраплинна жирова дистрофія гепатоцитів у периферичній зоні печінкової часточки (1). Незначно виражене повнокрів’я синусоїдних гемокапілярів у проміжній зоні класичної печінкової часточки (2). Поодинокі лейкоцити та макрофаги у портальному тракті (3).

Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

У кількох випадках відзначали виражений регрес дистрофічних змін гепатоцитів до 0,6 за півкількісною оцінкою вмісту ліпідів із повним відновленням трабекулярної будови органу та реактивною гіперемією синусоїдних гемокапілярів у центральній і проміжній зонах печінкових часточок (рис. 4.9).

Одночасно зі зменшенням накопичення ліпідів у цитоплазмі гепатоцитів вдвічі зросла кількість двохядерних печінкових клітин − 8,94 клітини на 100 гепатоцитів, що свідчить про посилення репаративних процесів у печінці під впливом ЯП (рис. 4.10). Паралельно зі зростанням регенераторного потенціалу печінки за застосування ЯП зменшувались незворотні альтеративні процеси, що проявлялось втричі меншою кількістю клітин з ознаками некрозу й апоптозу − 3,61 клітини на 100 гепатоцитів. Зменшувалась не тільки кількість даних клітин, а й інтенсивність даного патологічного процесу − 0,4 бали за напівкількісною оцінкою інтенсивності.



Рис. 4.9. Гостра інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Відновлення трабекулярної будови органу (1). Гіперемія синусоїдних гемокапілярів (2). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20.

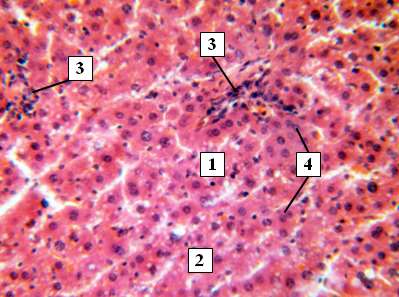


Рис. 4.10. Гостра інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Дрібно- та середньокраплинна жирова дистрофія гепатоцитів у периферичній (1) та проміжній (2) зонах портальних часточок. Поодинокі лейкоцити та макрофаги у портальних трактах (3). Двохядерні гепатоцити (4). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

Зменшення накопичення ліпідів у цитоплазмі гепатоцитів супроводжувалось зменшенням частки паренхіми − 86,38±5,64 % та відповідно зменшенням площі та периметра гепатоцитів (середня площа гепатоцита становить 367,34±24,32 мкм2, середній периметр гепатоцита − 67,84±5,31 мкм).

Ядра печінкових клітин округлої форми, з гетерогенним хроматином, з чіткою нуклеолемою, з наявністю нуклеол. Розташовані ядра гепатоцитів були здебільшого в центральній частині клітин. За даними метричного дослідження, середня площа ядра гепатоцита становила 62,45±4,61 мкм2, середній периметр ядра гепатоцита − 27,85±1,84 мкм. При розрахунку ядерно-цитоплазматичного індексу встановлено, що даний показник становить 0,16, що відповідає такому у групі інтактних тварин.

Зменшення площі гепатоцитів і частки паренхіми загалом на фоні регресивних дегенеративних процесів супроводжувалось зростанням частки синусоїдних гемокапілярів − 7,36±0,45 %, що вдвічі більше, ніж при гострому застосуванні етанолу без пектину. Проте подібна тенденція до збільшення частки синусоїдних гемокапілярів, які заповнені кров’ю, відмічалась і при застосуванні ЯП. Так частка даних капілярів становила 2,35±0,15 %, тобто при перерахунку 32 % щодо загальної площі синусоїдних гемокапілярів. Частка синусоїдних гемокапілярів, які не заповнені кров’ю, склала 5,01±0,37 %, що при перерахунку становить 68 %. Дані зміни щодо незначного зростання частки синусоїдів, які заповнені кров’ю, зумовлені, найбільш ймовірно, реактивною гіперемією капілярного русла печінки при зростаючому зменшенні площі печінкових клітин [114].

Виражені зміни за умови застосування ЯП відзначали у сполучній тканині портальних трактів, де різко зменшився набряк сполучнотканинних волокон й інтенсивність запальної інфільтрації (рис. 4.11).



Рис. 4.11. Гостра інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Дрібнокраплинна жирова дистрофія гепатоцитів у периферичній (1) та проміжній (2) зонах портальних часточок. 3 − повнокрів’я гілки портальної вени. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

Частка сполучної тканини при цьому, за даними метричного дослідження, становила 1,35±0,11 %. У портальних трактах відзначали поодинокі невеликі групи лімфоцитів і макрофагів. У проміжних і центральних відділах часточок лейкоцитарні інфільтрати не виявлялись. Якісні структурні зміни спостерігали й у судинах, в яких відсутні ознаки плазматичного просякання та фібриноїдного некрозу.

**4.2 Дослідження впливу яблучного пектину на морфологічну структуру печінки за хронічної алкогольної інтоксикації**

За хронічної інтоксикації етанолом на перший план виступали дистрофічні зміни печінкових клітин (рис. 4.12). Вони проявлялись наявністю у цитоплазмі більшості гепатоцитів (74,40 клітини на 100 гепатоцитів) прозорих вакуолей різного розміру, здебільшого середнього, зі злиттям останніх у більш крупні, злегка зміщуючи ядра до плазмолеми.

При хронічній інтоксикації етанолом відзначали найбільший ступінь накопичення вмісту ліпідів − 4,8 бали за півкількісною п’ятибальною шкалою. Ліпідні включення візуалізовані в різних відділах класичних печінкових часточок: як у перипортальній зоні, так і проміжній і центральній. Контури гепатоцитів нечіткі, межі клітин зливаються. Трабекулярна будова органу різко порушена через неправильні полігональні контури збільшених паренхіматозних клітин печінки.

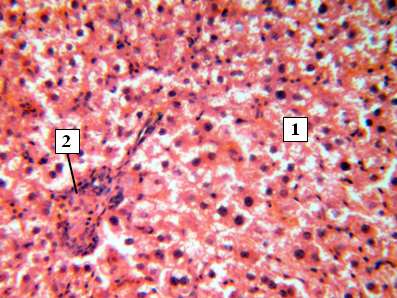


Рис. 4.12. Хронічна інтоксикація етанолом. Дисемінована різновакуольна жирова дистрофія гепатоцитів (1). Портальний тракт з незначно вираженим склерозом і макрофагально-лімфоцитарною інфільтрацією (2). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

Частка паренхіми становила 87,73±6,13 %. За даними морфометричного дослідження, середня площа гепатоцита склала 423,74±28,63 мкм2, середній периметр гепатоцита − 73,18±5,44 мкм. Загалом кількість одноядерних нормальних клітин у даній дослідній групі була найменшою − 19,65 клітин на 100 гепатоцитів.

За хронічної інтоксикації етанолом, незважаючи на стрімке зростання кількості дистрофічно змінених гепатоцитів, кількість некротично-апоптично змінених клітин була порівняно невеликою − 2,13 клітини на 100 гепатоцитів. Некротично змінені клітини були здебільшого з різко завуальованими, або відсутніми ядрами, з вакуолізованою та зернистою цитоплазмою, яка зазнала плазморексису. Інтенсивність некротично-апоптичного процесу становила 0,8 бала за напівкількісною шкалою оцінки інтенсивності даного процесу.

Відзначали значне зниження, порівняно з контролем, кількості двохядерних печінкових клітин − 4,82 клітини на 100 гепатоцитів, що близько до кількості таких клітин при гострій інтоксикації етанолом.

Ядра печінкових клітин здебільшого округлі, помірно гіперхромні, середньою площею 67,80±4,58 мкм2, середнім периметром 30,63±2,48 мкм. Ядерно-цитоплазматичний індекс становив 0,16. Хроматин ядер гетерогенний, візуалізувались ядерця. Ядра локалізувались здебільшого в центральній частині гепатоцитів, деякі злегка зміщені до периферії.

За хронічної інтоксикації етанолом виражені зміни спостерігали у портальних трактах, в яких на перший план виступило розростання сполучної тканини з явищами незначно вираженого набряку, наявністю фібробластів, сполучнотканинних волокон, які виходили за межі пограничної пластинки (рис. 4.13).

Сполучна тканина становила 8,94±0,58 %, що втричі більше, ніж при гострій інтоксикації етанолом. У сполучній тканині портальних трактів виявляли здебільшого макрофагальну інфільтрацію з домішкою лімфоцитів. Стінка портальних судин злегка потовщена за рахунок плазматичного просякання.

Синусоїдні гемокапіляри різко звужені та здебільшого малокрівні (рис. 4.13, 4.14). Так частка капілярного русла печінки становила 2,34±0,18 %, що у п’ятеро менше відповідної площі групи контролю. Переважали малокровні гемокапіляри − 1,71±0,12 %, що склало 73 % площі синусоїдних гемокапілярів. Капіляри печінки, які заповнені еритроцитами, становили 0,63±0,04 %, що відповідно 27 % площі капілярного русла органу.

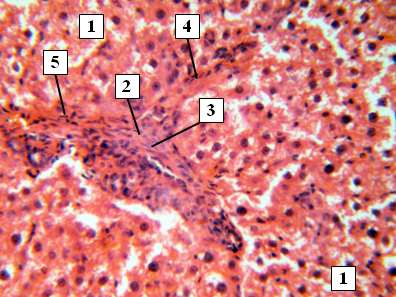


Рис. 4.13. Хронічна інтоксикація етанолом. Дисемінована жирова дистрофія гепатоцитів (1). Виражений склероз у портальному полі (2) з наявністю фібробластів (3) і внутрішньочасточковим розростанням сполучної тканини (4). Макрофагально-лімфоцитарна інфільтрація (5). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 40.

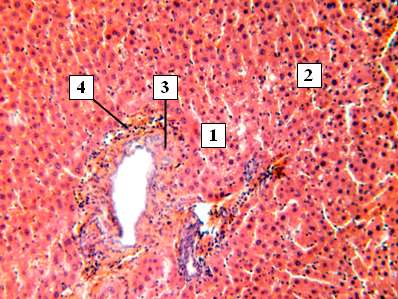


Рис. 4.14. Хронічна інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Зональна жирова дистрофія гепатоцитів у перипортальній зоні (1), і невелика кількість дистрофічно змінених гепатоцитів у проміжній зоні (2). Склероз у портальному полі (3) з поодинокими макрофагами та лімфоцитами (4). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20.

Застосування ЯП за хронічної алкогольної інтоксикаціїсупроводжувалось різко вираженим регресом жирової дистрофії гепатоцитів − з 4,8 до 0,9 при півкількісній оцінці вмісту ліпідів. Відзначали зональність дистрофічно змінених гепатоцитів − здебільшого по периферії часточок в ділянці тріади (рис. 4.15).

Кількість дистрофічно змінених клітин становила 5,84 клітини на 100 гепатоцитів, що понад у 10 разів менше, ніж за хронічної інтоксикації етанолом без застосування ЯП. Дистрофічно змінені гепатоцити містили жирові краплі різного розміру – від дрібних до крупних. У зонах жирової дистрофії межі клітин, як і при хронічній інтоксикації етанолом, нечіткі, зливались між собою (рис. 4.15).

Кількість одноядерних нормальних клітин становила 79,97 клітин на 100 гепатоцитів, що наближалось до контрольної групи інтактних тварин (82,47 % нормальних одноядерних клітин). Частка паренхіми склала 83,54±5,68 %, що також наближено до групи контролю (84,49±5,93 %). Середня площа гепатоцитів склала 358,82±24,93 мкм2, середній периметр − 66,47±4,21 мкм. Печінкові клітини, які не містили у цитоплазмі ліпідів, полігональної форми, контури плазмолеми незначно розмиті, цитоплазма еозинофільна, в окремих зерниста. Ядра клітин здебільшого правильної округлої форми, з чіткою нуклеолемою, нуклеолами, помірно гіперхромні, розташовані у центрі клітин. В клітинах із ознаками крупнокраплинної жирової дистрофії перипортальної зони ядра зміщені в бік плазмолеми. Середня площа ядра печінкової клітини складала 61,0±3,84 мкм2, середній периметр − 27,18±1,94 мкм. Ядерно-цитоплазматичний індекс − 0,17.

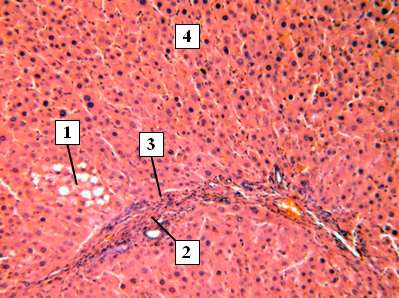


Рис. 4.15. Хронічна інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Зональна жирова дистрофія гепатоцитів у перипортальній зоні (1). Склероз у портальному полі (2) з поодинокими макрофагами та лімфоцитами (3). 4 − гепатоцити без ознак жирової дистрофії у проміжній зоні часточок. Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20.

Застосування ЯП за хронічної інтоксикації алкоголем супроводжувалась зниженням інтенсивності некротично-апоптичного процесу − 0,1 бала проти 0,8 бала за відсутності застосування ЯП. Кількість некротично-апоптично змінених клітин відповідно також була низькою − 0,94 клітини на 100 гепатоцитів.

Регресивні зміни гепатоцитів супроводжувались збільшенням площі синусоїдних гемокапілярів − 8,56±0,52 % зі збільшенням частки капілярів із кров’ю до 35 % (3,0±0,1 8 %). Синусоїдні гемокапіляри без крові складали 5,56±0,3 4 %, що в перерахунку становить 65 % площі капілярного русла печінки (рис. 4.16).

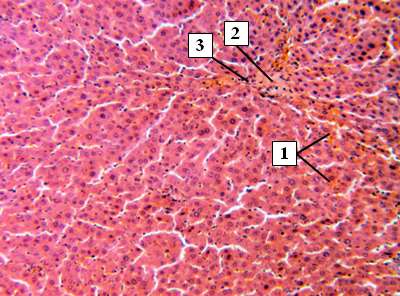


Рис. 4.16. Хронічна інтоксикація етанолом із застосуванням пектину. Синусоїдні гемокапіляри здебільшого заповнені кров’ю (1). Незначно виражений склероз портального тракту (2) з поодинокими макрофагами та лімфоцитами (3). Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20.

У сполучній тканині портальних трактів, частка якої 6,47±0,43 %, зменшилась кількість фібробластів, що свідчить про призупинення прогресування склеротичних змін у портальному полі. Також зменшився набряк у портальному полі та спостерігались лише поодинокі макрофаги та лімфоцити (рис. 4.17).

Портальні судини без ознак плазматичного просякання, просвіти здебільшого заповнені еритроцитами [110].

Поряд зі зниженням зворотніх і незворотніх пошкоджень паренхіматозних елементів печінки різко зростала кількість репаративних двохядерних гепатоцитів − з 4,82 при хронічній інтоксикації до 13,25 на 100 гепатоцитів при застосуванні ЯП, що свідчить про активацію репаративних процесів у печінці.

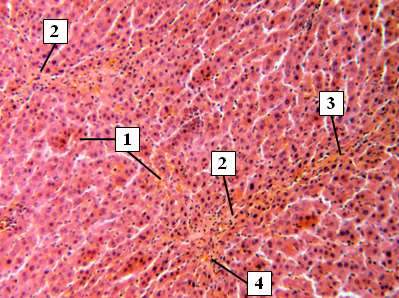


Рис. 4.17. Хронічна інтоксикація етанолом із застосуванням пектину. Синусоїдні гемокапіляри здебільшого заповнені кров’ю (1). Склероз портального тракту (2), перипортальний склероз (3). 4 − поодинокі макрофаги та лімфоцити у портальному полі.

Забарвлення: гематоксилін та еозин. Зб.: ок. 10, об. 20.

Введення дослідним тваринам алкоголю протягом 3х днів викликало зміни морфологічної структури печінки, а саме: порушення трабекулярної радіальної структурної організації печінки за рахунок дистрофічних змін гепатоцитів у периферичній, проміжній і центральній зонах класичних печінкових часточок, розвиток жирової дистрофії, зростання метричних розмірів гепатоцитів, зменшення кількості нормальних одноядерних клітин.

Застосування ЯП за гострої алкогольної інтоксикаціїсупроводжувалось регресією дегенеративних змін печінкових клітин із помітним відновленням трабекулярної будови органу, зменшенням накопичення ліпідних вакуолей у цитоплазмі гепатоцитів, особливо крупних крапель ліпідів, про що свідчить ступінь накопичення ліпідів, який становив за півкількісною оцінкою 2,2, що вдвічі менше, ніж у контрольних алкоголізованих тварин. Спостерігали зростання кількості одноядерних нормальних клітин (78,2 клітини на 100 гепатоцитів) та відновлення пластинчастої будови печінки, особливо у центральних відділах класичних печінкових часточок , де ступінь жирової дистрофії був мінімальним, або відсутнім. Удвічі зросла кількість двоядерних гепатоцитів порівняно з алкоголізованим контролем, що свідчить про посилення репаративних процесів у печінці за застосування ЯП. Також зменшувались незворотні альтеративні процеси, що проявлялось втричі меншою кількістю клітин з ознаками некрозу й апоптозу та зменшення набряку сполучнотканинних волокон й інтенсивність запальної інфільтрації у тканинах портального тракту.

За субхронічної інтоксикації етанолом протягом 28 днів на перший план виступали дистрофічні зміни печінкових клітин, що проявлялись наявністю прозорих вакуолей різного розміру, здебільшого середнього, у цитоплазмі більшості та різким порушенням трабекулярної будови органу через неправильні полігональні контури збільшених паренхіматозних клітин печінки. У портальних трактах відмічене розростання сполучної тканини з явищами незначно вираженого набряку, наявністю фібробластів, сполучнотканинних волокон. Сполучна тканина становила 8,94±0,58 %, що втричі більше, ніж при гострій інтоксикації етанолом.

Застосування ЯП за субхронічної алкогольної інтоксикаціїсупроводжувалось різко вираженим регресом жирової дистрофії гепатоцитів − з 4,8 до 0,9 при півкількісній оцінці вмісту ліпідів. Відзначали зональність дистрофічно змінених гепатоцитів − здебільшого по периферії часточок в ділянці тріади. Збільшилась кількість одноядерних нормальних клітин ( 79,97 % проти 82,4 7 % нормальних одноядерних клітин), що наближалось до показника групи інтактних тварин. Частка паренхіми склала 83,54±5,68 % теж була наближеною до норми (84,49±5,93 %).

Застосування ЯП за субхронічної інтоксикації алкоголем супроводжувалось зниженням інтенсивності некротично-апоптичного, зростанням кількості репаративних двохядерних гепатоцитів майже у три рази ( з 4,82 у алкоголізованих – до 13,25 за умови застосування ЯП). Регресивні зміни гепатоцитів супроводжувались збільшенням площі синусоїдних гемокапілярів та зменшенням кількості фібробластів, що свідчить про призупинення прогресування склеротичних змін у портальному полі за введення ЯП.

Таким чином, на основі проведених морфологічних досліджень тканин печінки за умов гострої та хронічної алкогольної інтоксикації можна стверджувати, що ЯП сприяє зменшенню інтенсивності дистрофічних змін та регресу жирової дистрофії печінки, відновлює репаративні процеси у гепатоцитах та пригнічує розвиток склеротичних змін портальному полі.

**РОЗДІЛ 5**

**ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЯБЛУЧНОГО ПЕКТИНУ IN VITRO**

У пектині міститься близько 70 % галактуронової кислоти [50]. Точна хімічна структура пектину досі остаточно не встановлена, але були виділені і ідентифіковані три основні полісахариди пектину з рослинної стінки. Це - гомогалактуронани, яких міститься близько 65 %, рамногалактуронани – 20-35 % і заміщені галактуронани [37, 58, 124].

В організмі людини пектин, як дієтичне волокно, ферментативно не перетравлюється в тонкому кишечнику, але розщеплюється мікробіотою товстої кишки [108, 109, 120]. Утворюючи гелі з водою, зберігає гелюючі властивості у ШКТ, чим уповільнює травлення. В процесі гідролізу пектину відбувається поступове відщеплення метоксильних груп (деметоксилювання). Повністю деметоксильований пектин має назву «пектова кислота». Між пектином і пектовою кислотою є ряд проміжних продуктів розпаду різного ступеню деметоксилювання, що присутні в природній суміші пектинових речовин. Зрозуміло, що пектин має кислу реакцію – рН = 3,3-3,7 [120], яка зберігається при змішуванні з дистильованою водою, котра теж має слабо-кислу реакцію [3, 8].

Враховуючи кислу реакцію пектину, нам було цікаво визначити імовірність його взаємодії з алкоголем та можливу нейтралізацію останнього, як один із механізмів дії власне за алкогольної інтоксикації.

Відтворені нами in vitro суміші імітували вміст шлунку (натще рН=1), тонкої кишки (рН=7,5) та товстої кишки (рН= 8,5) за додавання пектину та референс-препаратів у присутності алкоголю та без нього. Безперечно, від кількості та виду їжі, вмісту у ній жирів, консистенції та ін. залежить рівень кислотності та швидкість абсорбції, а також моторна активність шлунково-кишкового тракту. Відомо також, що пектин на відміну від препаратів порівняння дещо посилює моторику кишечника та має незначну послаблюючу дію [19].

Оскільки ці дослідження проводили *in vitro*, то, зрозуміло, умови імітації не зовсім відповідають тим, що є за змішування названих інгредієнтів *in vivo*, але основні принципи їх взаємодії і відповідне співвідношення складових дало нам уявлення про вплив пектину на зміну реакції внутрішнього середовища ШКТ.

**5.1 Вплив яблучного пектину на рівень рН у середовищах, що імітують умови шлунку, тонкої та товстої кишки**

Відомо, що рН шлункового соку людини натщесерце становить 1,0-1,5 [71] - тому для дослідження ми використали 0,1 н розчин хлороводневої кислоти. рН етанолу за концентрації 40 % становить 4,5-8,2 - залежно від температури [31]. Реакція дистильованої води залежить від певних чинників, але не виходить за межі 5,6 – 5,9 [8].

Співвідношення води, алкоголю та хлороводневої кислоти у всіх пробах було однаковим, а кількість ЯП і препаратів порівняння відповідне з дозуванням за досліджень *in vivo,* з урахуванням загального об’єму сумішей.

Проведені нами дослідження показали наступне (табл.5.1).

Змішування ЯП з дистильованою водою показує рівень рН самого ЯП і встановлює показник 3,7 при 200 С та знижується до 3,4 при 350 С , що узгоджується з літературними даними [80, 90]. Поєднання ЯП з хлороводневою кислотою викликає зрозуміле збільшення кислотності до рН = 2,0 за обох температурних режимів.

Змішування ЯП з алкоголем показало зростання показника рН до 4,3, а при введенні до цієї суміші дистильованої води спостерігали зниження рН = 3,6 при 200 та 3,2 при 350, що може бути пояснене змінами фізико-хімічних властивостей ЯП і збільшенням активних розчинених залишків галактуронової кислоти.

Додавання до суміші хлороводневої кислоти і алкоголю препарату порівняння АВ змінювало реакцію до 4,2, а за введення до суміші КД – до рН= 4,4 і ці показники не змінювались за збільшення температури досліджуваних зразків.

Таблиця 5.1

Показники рН води, алкоголю 40 %, 0,1 н розчину HCl та їх сумішей з ЯП і препаратами порівняння

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Речовини та їх суміші | pH, 200 С | pH, 350 С |
| Вода дистильована | 5,8 | 5,8 |
| Алкоголь 40 % | 5,5 | 5,5 |
| 0,1 н розчин HCl | 1,0 | 1,0 |
| ЯП + вода | 3,7 | 3,4 |
| ЯП + 0,1 н розчин HCl | 2,0 | 2,0 |
| ЯП + вода + алкоголь 40 % | 3,6 | 3,2 |
| ЯП + алкоголь 40 % | 4,3 | 4,1 |
| ЯП + 0,1 н розчин HCl + алкоголь 40 % | 2,17 | 2,0 |
| АВ + 0,1 н розчин HCl + алкоголь 40 % | 4,2 | 4,2 |
| КД + 0,1 н розчин HCl + алкоголь 40 % | 4,4 | 4,5 |

Суміш ЯП з хлороводневою кислотою та алкоголем викликала значний зсув рН у кислу сторону: змінилась лужна реакцію алкоголю з 5,5 до 2,17 (200) і 2,0 (350), тобто – більше ніж удвічі, порівняно з препаратами порівняння. Можливо, завдяки реакції нейтралізації зменшується концентрація, абсорбція і наступний токсичний вплив алкоголю.

Оскільки основна маса прийнятого всередину алкоголю всмоктується в тонкій кишці, то нам було цікаво дізнатись про вплив ЯП на рН у тонкій і товстій кишки. З метою імітації середовища тонкої кишки використали гідрокарбонатний буфер з рН 7,5.

Відзначено, що при попаданні суміші ЯП з водою та хлороводневою кислотою до «тонкої кишки» з рН= 7,5 за 200 С відбувався суттєвий зсув реакції у лужну сторону, хоча реакція все ж була слабокислою і залишалась такою за введення алкоголю (табл. 5.2). Поєднання водного розчину ЯП з буфером із рН=7,5 теж дало кислу реакцію – 6,8 за кімнатної температури і додавання алкоголю цю позицію не змінило. Водночас, зростання температури суміші до 350 С викликало істотній зсув рН в кислу сторону, як із додаванням НС1, так і без неї: 4,26 і 4,69 відповідно.

Слід зазначити, що у сумішах гідрокарбонатного буферу з водою та АВ і КД рН не змінювалась при 200 С, а за додавання до них алкоголю незначно зростала – до 7,6. У той же час, підвищення температури досліджуваних сумішей до 350 С викликало різкий зсув рН у сумішах з АВ у лужну сторону – до 9,85 та 9,94 за введення алкоголю. У сумішах із КД відзначали деяке зниження показника рН, що можна пояснити слабокислою реакцією цього препарату порівняння.

Цікавим для нас виявився результат вимірювання активності іонів водню за змішування буферного розчину, водного розчину ЯП, 0,1 н розчину HCl і 40 % розчину етанолу. Саме у такій суміші ми отримали найбільш кислу реакцію за обох температурних режимів (табл. 5.2).

Імовірно, різкий зсув рН у кислу сторону у досліджуваних зразках із ЯП за температури 350 С пояснюється збільшенням розчинності та текучості, зменшенням в’язкості та зростанням кількості вільних аніонних груп галактуронової кислоти.

Цікавими на наш погляд виявились і результати вивчення змін рН за відтворення умов середовища просвіту товстої кишки (табл. 5.3).

Водний розчин ЯП за змішування з водою та гідрокарбонатним буфером, що імітував середовище товстої кишки з рН=8,5, викликав різкий зсув реакції в кислу сторону за обох температурних режимів (табл. 5.3).

Таблиця 5.2

Вплив ЯП і препаратів порівняння на рН за умов імітації середовища тонкої кишки і введення 40 % розчину етанолу

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Речовини та їх суміші | pH, 200 С | pH, 350 С |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + ЯП + 0,1 н розчин HCl | 6,64 | 4,26 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + ЯП | 6,8 | 4,69 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + АВ | 7,5 | 9,85 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + КД | 7,5 | 6,59 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + пектин + 0,1 н розчин HCl + алкоголь | 6,0 | 4,35 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + ЯП + алкоголь | 6,8 | 4,73 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + АВ + алкоголь | 7,6 | 9,94 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + КД + алкоголь | 7,6 | 7,03 |

У той же час, за поєднання того ж буферного розчину з водою та препаратами порівняння реакція залишалась лужною і майже не змінилась за введення в суміш КД та стала більш лужною у комбінаціях гідрокарбонатного буфера з водою та АВ і при введенні до цієї суміші алкоголю.

За введення до вказаних вище водних розчинів алкоголю спостерігали зростання рН у пробі з ЯП – до 4,3 (проти 3,85 за відсутності алкоголю) при 200 С і при 350 – до 4,0 .

Таблиця 5.3

Вплив ЯП і препаратів порівняння на рН за умов імітації середовища товстої кишки і введення 40 % розчину етанолу

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Речовини та їх суміші | pH, 200 С | рН, 350 С |
| Буферний розчин рН 8,5 + Вода + ЯП | 3,85 | 3,6 |
| Буферний розчин рН 8,5 + Вода + АВ | 8,4 | 8,9 |
| Буферний розчин рН 8,5 + Вода + КД | 8,4 | 8,2 |
| Буферний розчин рН 8,5 + Вода + ЯП + розчин етанолу | 4,3 | 4,0 |
| Буферний розчин рН 8,5 + Вода + АВ + розчин етанолу | 8,5 | 9,3 |
| Буферний розчин рН 8,5 + Вода + КД + розчин етанолу | 8,5 | 8,2 |

Отже, у досліджуваних зразках із препаратами порівняння відзначали рівень рН, що дорівнював або незначно перевищував показник гідрокарбонатного буфера.

**5.2 Дослідження сорбційних властивостей яблучного пектину**

Для пояснення одержаних результатів та з’ясування можливих механізмів дії ЯП було проведене визначення точки нульового заряду пектину. Вимірювання проводилось в лабораторії кафедри хімії ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника».

Точка нульового заряду, або ізоелектрична точка – значення рН, характерне для певної речовини, за якого максимальна кількість іонів даної речовини у розчині набуває нульового електричного заряду, а речовина є найменш рухлива в електричному полі [34, 35, 37].

Значення рН точки нульового заряду (рНТНЗ) є дуже важливою характеристикою поверхні матеріалів. Значення рНТНЗ істотно впливає на процеси поглинання і десорбції іонів, присутніх у розчинах у катіонній і аніонній формах [34, 35, 38].

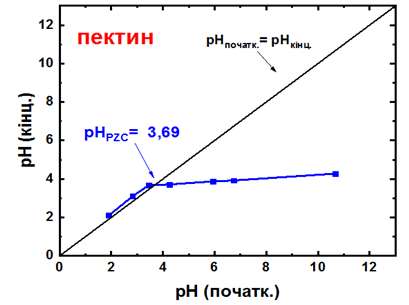


Рис. 5.1. Точка нульового заряду поверхні пектину.

Якщо значення рН розчину нижче рНТНЗ, то матеріал поглинає переважно аніони (див. рівняння 1); якщо значення рН розчину буде перевищувати рНТНЗ, то речовина адсорбує, в основному, катіони металів або катіони органічних сполук (рівняння 2).

=M–OH + H+  =M–OH2+ (pH < pHТНЗ) (1)

=M–OH + OH– =M–O– + H2O (pH > pHТНЗ) (2)

Точка нульового заряду ЯП на шкалі рН дорівнює 3,75. За результатом дослідження за рН вище 3,69 пектин адсорбує катіони металів або органічих речовин.

Одержаний результат підтверджує спроможність ЯП зв’язувати (адсорбувати) алкоголь ([C2H5O-]H)+.

За результатами досліджень in vitro встановлено, що змішування ЯП з алкоголем за умов імітації середовища просвіту шлунку та за різних температурних режимів (200 і 350 С) відбувалось зростання показника рН до 4,3, а при введенні до цієї суміші дистильованої води спостерігали зниження рН=3,6, що може бути пояснене змінами фізико-хімічних властивостей ЯП і збільшенням активних розчинених залишків галактуронової кислоти.

Суміш ЯП з хлороводневою кислотою та алкоголем викликала зсув рН у кислу сторону майже вдвічі, порівняно з АВ і КД за обох температурних режимів. Імовірно, реакція нейтралізації відбувається саме за рахунок абсорбції, що і призводить до зменшення концентрації, всмоктування і наступного токсичного впливу алкоголю.

За відтворення середовища тонкої кишки поєднання водного розчину ЯП з буфером із рН=7,5 дає слабо кислу реакцію – 6,8 і додавання алкоголю цю позицію не змінює при температурі 200. Підвищення температури сумішей до 350 С призводить до суттєвого зміщення pН середовища у кислу сторону за присутності ЯП (на 1,5-2,2 одиниці) та зростання рН за наявності АВ (понад 2,3 одиниці).

Водний розчин ЯП за змішування з гідрокарбонатним буфером із рН=8,5, що імітував середовище товстої кишки, викликав різкий зсув реакції в кислу сторону. У той же час, за поєднання того ж буферного розчину з водою та препаратами порівняння реакція залишалась лужною і майже не змінилась за обох температурних режимів.

Точка нульового заряду ЯП, що визначає сорбційні можливості, на шкалі рН дорівнює 3,75. За результатом дослідження можна стверджувати, що за рН вище 3,69 ЯП адсорбує катіони металів або органічих речовин, що пояснює спроможність ЯП зв’язувати (адсорбувати) алкоголь ([C2H5O-]H)+.

**АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Лікування алкогольних отруєнь гострого характеру проводиться, як правило, у реанімаційних відділеннях спеціалізованих наркологічних закладів [27, 28]. Сучасні теорії алкогольної токсичності грунтуються на двох можливих механізмах: метаболічному та медіаторному. Відповідно, засоби для корекції інтоксикації етанолом мають різну спрямованість дії. До препаратів із метаболічною дією належить метадоксил, що прискорює окиснення алкоголю [28]. Медіаторний тип дії притаманний антагоністу опіатних рецепторів налоксону, що відновлює функції центрів довгастого мозку за їх пригнічення не тільки опіоїдами, але й алкоголем. Водночас, досить часто дослідники відзначають так званий «синдром рикошету» за використання налоксону, що проявляється повторною комою та високою летальністю (до 20 % після певного періоду благополуччя) [25, 40].

Залежно від важкості отруєння та його стадії використовують комплекс препаратів, що активують пригнічені функції ЦНС, зменшують адсорбцію, впливають на активність ферментів, що окиснюють алкоголь, відновлюють водно-електролітний баланс та ін [25, 57]. У токсикогенній стадії неодноразово вводять адсорбенти [27,40, 57]. Згідно до класифікації АТС, група сорбентів має код А07ВС і включена до групи «Засоби, що впливають на травну систему та метаболізм» [76]. Із групи кишкових сорбентів за гострого отруєння алкоголем частіше використовують активоване вугілля, хоча відомо, що воно не адсорбує алкоголь через свої фізико-хімічні властивості [54, 147], ентеросгель (гідрогель метилкремнієвої кислоти), «біле вугілля» (диоксид кремнію), лактулозу, поліфепан (лігнін гідролізний) та ін. Останній із перелічених засобів подібний за походженням до пектину, виробляється в Росії і останні 5 років в Україні не реєструвався. Застосування сорбентів у перші години після отруєння безперечно доцільне і зменшує токсикогенну дію алкоголю шляхом зниження його біодоступності.

Вибір моделей для відтворення будь-яких патологічних станів на лабораторних тваринах та екстраполяція результатів досліджень грунтується на найбільш наближених до людини умов. Ми обрали моделі алкогольної інтоксикації із введенням токсиканта після приймання їжі, оскільки такий режим введення найбільше відповідає способу застосування етанолу у людини, зменшує летальність тварин і добовий прийом етанолу у щурів може досягати 12-18 г / кг, що було у декілька разів більше, ніж введення натщесерце [116].

Спостереження за змінами окремих вітальних функцій тварин за гострої інтоксикації етанолом показало істотне пригнічення дихання порівняно з нормою у контролі за введення АВ та КД (зменшення частоти дихальних рухів на 33 %, 29 % і 18 %, відповідно), водночас, цей показник був рівнозначний з інтактними за використання ЯП. Найбільш ефективна дія у підтримці дихання та температури тіла тварин спостерігалась при застосуванні ЯП та КД, порівняно з контрольною групою.

Алкогольна інтоксикація у першу чергу проявляється пригніченням функцій ЦНС та гепатотоксичністю. Вивчення показників рухової активності дослідних тварин підтвердило розвиток інтоксикації після введення етанолу у алкоголізованих тварин. Виявлене зменшення «горизонтальної» рухової активності у тесті «відкрите поле» у контрольних та лікованих АВ і КД тварин, порівняно з інтактними та за введення ЯП (р<0,05).

У нашому дослідженні експериментально доведено, що за гострої алкогольної інтоксикації одноразове введення ЯП через зменшення всмоктування токсиканта суттєво обмежує його вплив на гематологічні показники [146]. Вміст гемоглобіну та кількість еритроцитів за одно- та дворазового введення ЯП практично не відрізнялись від норми і були достовірно вищими за контроль (р˂0,05) та у групі тварин, що отримували АВ (р˂0,05). Це, імовірно, пояснюється зменшенням впливу алкоголю та ацетальдегіду через зниження їх абсорбції.

Aлкоголь зменшує швидкість і пригнічує глюконеогенез, що відбувається через збільшення концентрації NADH, який утворюється в реакціях окиснення етанолу [88, 91]. Як наслідок – можливе зниження рівня глюкози навіть після одноразового вживання високих доз етанолу [97]. Наші дослідження продемонстрували достовірно високий рівень глюкози у алкоголізованих тварин, лікованих ЯП, як порівняно з контролем (за лікувального введення: на 40 % нижчий у контролі, р˂0,05; та 32 % за лікувально-профілактичного режиму введення), так і стосовно групи з використанням АВ (за одноразового введення – 18 % і 32 % - за дворазового; р˂0,05) і КД (р˂0,05).

Відмічали також зміни ліпідного обміну, а саме: менший вміст холестеролу у лікованих ЯП на 18 %, порівняно з контролем і на 12 %, порівняно з групою тварин, котрі отримували АВ за одноразового застосування (р˂0,05). Лікувально-профілактичний дворазовий режим введення ЯП та препаратів порівняння спричиняв нормалізуючий вплив на вміст холестеролу у всіх групах лікованих тварин, порівняно з контролем (р˂0,05).

Слід також відзначити вірогідне зменшення активності традиційних біомаркерів алкоголю АсАТ, АлАТ за введення тваринам ЯП. Хоча названі біомаркери є більш чутливими та показовими за тривалого вживання алкоголю, за гострої інтоксикації алкоголем та одноразового введення ЯП показано, що рівень АсАТ статистично достовірно зменшувався порівняно з контрольною групою – 25 % (р˂0,05), на 16 % проти лікованих АВ (р˂0,05) та на 10 % порівняно з групою тварин, котрим вводили КД (р˂0,05), у той же час будучи на 11 % вищим за норму.

Введення ЯП і препаратів порівняння до та після застосування алкоголю продемонструвало ефективність такого режиму використання, оскільки активність АсАТ практично не відрізнялась від норми у групах тварин, лікованих ЯП та КД і, водночас, була вірогідно вищою у тварин за введення АВ (р˂0,05).

Визначення рівня активності АлАТ за обох режимів дозування виявило достовірне його зниження за застосування у алкоголізованих тварин ЯП і КД порівняно з контролем і АВ (р˂0,05). За допомогою однофакторного дисперсійного аналізу було встановлено, що за обох режимів введення є позитивні зміни і достовірно більш вираженим є вплив тільки на рівень АсАТ при профілактично-лікувальному введенні (р\*=0,092604442). За всіма іншими показниками, що визначались, показано, що режим введення не відіграє суттєвої ролі.

Отримані у цій серії досліджень результати можна пояснити вираженою адсорбцією алкоголю за використання ЯП і КД, що призвело до пригнічення всмоктування токсиканта і збереження цілісності мембран гепатоцитів через зменшення утворення АФК і активації ВРО.

У вивчених нами літературних джерелах багато даних про вплив алкоголю на індукцію ВРО і ПОЛ [36, 53, 85, 126], що є підтвердженням теорії про оксидаційний стрес, як основний важіль розвитку токсичних реакцій на алкоголь і його метаболіти, та викликаних ними патологічних змін. Метаболізм алкоголю відбувається декількома способами, основним із яких є окиснення під впливом алкогольдегідрогенази [43], і, якщо дози алкоголю незначні, то цього шляху перетворень є достатньо для детоксикації. Високі дози або тривале зловживання алкоголем залучають інші шляхи біохімічних перетворень, зокрема МСОЕ, а саме ферменти системи CYP 450 такі, як 2E1, 1A2 і 3A4, котрі збільшують продукцію Н2О2 та інших АФК [43], що, у свою чергу, сприяє активації ПОЛ і розвитку оксидаційного стресу [85], пошкодженню гепатоцитів.

У нашій роботі ми дослідили вплив ЯП на ПОЛ шляхом визначення вмісту таких його продуктів, як МДА та ДК, а також активність ферменту АОЗ – КТ за гострої алкогольної інтоксикації. Експериментально показано, що за обох режимів введення ЯП знижується вміст продуктів ПОЛ у сироватці крові. Так, одноразове застосування ЯП знижує вміст МДА на 51 % порівняно з контролем, 15 % порівняно з АВ та 13 % у порівнянні з КД (р˂0,05). Відзначено також і зменшення рівня ДК: на 13 % проти контрольної групи, 10 % порівняно з АВ (р˂0,05) і майже рівнозначні дані ми отримали при застосуванні КД [13, 69].

За дворазового використання ЯП та препаратів порівняння у всіх групах лікованих тварин спостерігали достовірно менший рівень ДК і МДА порівняно з контролем (р˂0,05) та, у той же час, він був вірогідно вищим за норму (р˂0,05). Активність ферменту АОЗ – КТ теж змінилась і була вищою у всіх групах тварин, котрим вводили алкоголь порівняно з інтактними (р˂0,05), але у лікованих щурів суттєво меншою за контроль (р˂0,05).

Ще один метод досліджень дозволив нам підтвердити детоксикуючу дію ЯП, а саме – метод ГРХ. Визначення вмісту алкоголю в крові алкоголізованих тварин показало, що застосування ЯП не тільки знижує рівень алкоголю, але і зменшує кількість щурів, у крові яких він циркулює [13]. Так, серед тварин, що отримували ЯП алкоголь визначили тільки у 33 %, при застосуванні АВ і КД – 67 % та 50 % відповідно. Отримані на цьому етапі роботи результати свідчать про високий потенціал дії ЯП за гострої алкогольної інтоксикації.

Гематологічні та біохімічні дослідження детоксикуючої дії ЯП за гострої алкогольної інтоксикації знайшли своє підтвердження за морфологічної оцінки змін тканин печінки, яке було проведене після завершення фармакологічних експериментів.

Так, за введення дослідним тваринам алкоголю протягом 3-х днів спостерігали зміни морфологічної структури печінки, які характеризувались порушеннями трабекулярної організації печінки за рахунок дистрофічних змін гепатоцитів у всіх зонах класичних печінкових часточок. Гепатоцити мали збільшені розміри за рахунок накопичення прозорих вакуолей жиру у їх цитоплазмі: виразність жирової дистрофії становила 4,3 при півкількісній оцінці вмісту ліпідів за п’ятибальною шкалою. На 21 % зменшилась кількість нормальних одноядерних гепатоцитів, порівняно з інтактними.

Застосування ЯП за гострої алкогольної інтоксикаціїсупроводжувалось регресією дегенеративних змін гепатоцитів та помітним відновленням трабекулярної будови органу: зменшенням накопичення ліпідних вакуолей у цитоплазмі клітин, про що свідчить ступінь накопичення ліпідів, який становив за півкількісною оцінкою 2,2, що вдвічі менше, ніж у контрольних алкоголізованих тварин. Спостерігали також збільшення кількості одноядерних нормальних клітин (78,2 клітини на 100 гепатоцитів) та відновлення пластинчастої будови печінки, особливо у центральних відділах класичних печінкових часточок, де ступінь жирової дистрофії був мінімальним, або відсутнім. Удвічі зросла кількість двоядерних гепатоцитів порівняно з алкоголізованим контролем, що свідчить про посилення репаративних процесів у печінці за застосування ЯП. За впливу досліджуваного засобу зменшувались незворотні альтеративні процеси, що проявлялось втричі меншою кількістю клітин з ознаками некрозу й апоптозу − 3,61 клітини на 100 гепатоцитів. Виражені зміни спостерігали і у сполучній тканині портальних трактів, де різко зменшився набряк сполучнотканинних волокон й інтенсивність запальної інфільтрації. Отримані результати свідчать про відновлення репаративних процесів та детоксикуючої функції печінки під впливом ЯП, що узгоджується з даними літератури [42, 11].

Вивчення впливу ЯП за гострої алкогольної інтоксикації продемонструвало ефективність його використання у кількості 0,2 г на 100 г маси тіла тварин, як за лікувального так і лікувально-профілактичного введення. Отримані нами дані можна пояснити здатністю досліджуваного засобу адсорбувати алкоголь у просвіті кишки, збільшувати об’єм кишкового вмісту за рахунок набухання ЯП, що, сприяє посиленню моторики ШКТ [19, 133] і прискоренню виведення токсичних продуктів з організму.

Хронічна інтоксикація алкоголем викликає не тільки ураження органів і систем організму, але проявляється ще і розвитком фізичної та психологічної залежності, що ускладнює процес лікування [45, 111, 152]. Практикою діагностики та лікування хронічного алкоголізму займається така галузь медицини, як наркологія. Сучасними протоколами надання наркологічної допомоги визначені групи препаратів, які використовують залежно від стадії захворювання, глибини ураження ЦНС та стану пацієнта [40].

Лабораторна діагностика хронічного отруєння грунтується на визначенні активності біомаркерів алкоголю, КТ, процесів ПОЛ, стану ліпідного та вуглеводневого метаболізму [21].

Підрозділ 3.2 нашої роботи був присвячений дослідженню можливостей ЯП в якості детоксиканта за умов підгострої та субхронічної інтоксикації.

Токсичний вплив алкоголю проявляється самими різноманітними ефектами, у тому числі зміною маси тіла та масового коефіцієнту печінки дослідних тварин. Введення алкоголю викликало пригнічення апетиту, що спричинило суттєве зменшення приросту маси тіла щурів контрольної групи за субхронічної інтоксикації, порівняно з усіма іншими дослідними групами тварин (р˂0,05). У групах тварин, що отримували ЯП і препарати порівняння спостерігали практично рівнозначне збільшення названого показника, яке мало відрізнялось від норми. Величина масового коефіцієнту печінки достовірно зросла не тільки у контрольній групі – на 60 %, але й у групі з використанням АВ – на 16 % і КД – на 29 % порівняно з лікованими ЯП тваринами (р˂0,05). Такі результати, очевидно, пояснюються накопиченням ліпідів у гепатоцитах і набряком у портальних трактах [42].

Підгостру інтоксикацію відтворювали протягом 11 днів і спостерігали характерні зміни гематологічних та біохімічних тестів. Зокрема, кількість еритроцитів у тварин, що отримували ЯП, хоч і вірогідно відрізнялась від показника інтактних (р˂0,05), водночас, була суттєво більшою за аналогічні дані не тільки контрольних, але й лікованих препаратами порівняння щурів (р˂0,05) – на 12,6 % порівняно з АВ та на 7 % порівняно з КД. Вміст гемоглобіну був суттєво знижений у контрольних нелікованих тварин порівняно з інтактними та за введення ЯП і КД (р˂0,05). Отримані результати засвідчують позитивний вплив ЯП і його детоксикуючу дію імовірно через зменшення пошкоджуючого впливу алкоголю та його метаболітів шляхом зменшення всмоктування токсиканта завдяки сорбційним властивостям [65, 67].

Визначення біомаркерів алкоголю показало збільшення активності АсАТ у всіх дослідних групах тварин. Даний показник хоч і вірогідно відрізнявся від такого інтактних (р˂0,05), водночас, був більш наближеним до норми у групах, де проводили фармакологічну корекцію, ніж у контрольних щурів (р˂0,05). Суттєвої різниці між групами з використанням ЯП і препаратів порівняння не спостерігали.

Рівень АлАТ теж був підвищений у всіх дослідних групах проти інтактних (р˂0,05), але істотно відрізнявся проти такого контрольних щурів (р˂0,05), а саме: застосування ЯП зменшувало активність названої трансамінази на 47 %, АВ – на 37 %, а КД на 34 %. Щури, котрі отримували ЯП мали достовірно нижчий рівень активності АлАТ, ніж ліковані КД (на 25 %, р˂0,05). Активність трансаміназ підвищується не тільки за ураженням алкоголем і іншими хімічними токсикантами, але й за впливу гепатотоксичних ліків (тетрациклінів, парацетамолу, похідних фенотіазину, протитуберкульозних ЛЗ та ін.) і вказує на пошкодження гепатоцитів і пригнічення детоксикуючої, білковосинтезуючої, обмінної та інших функцій печінки [16, 28]. Накопичення МСМ є ще одним із маркерів інтоксикації і спостерігається за різних патологічних станів, наприклад, опікової хвороби, макроцитарної анемії та ін. Значне зростання рівня МСМ вважають основним показником, що відображає ступінь патологічного білкового метаболізму. За алкогольної інтоксикації МСМ є непрямим біомаркером, який характеризує надмірне вживання алкоголю протягом певного часу (понад 2-4 тижні).У нашому експерименті відзначено збільшення вмісту МСМ у сироватці крові щурів у всіх групах з підгострою інтоксикацією етанолом на 11-ту добу порівняно з інтактними тваринами (р<0,05). Імовірно, це пов’язано зі зменшенням рівня загального білку в сироватці крові (р<0,05), внаслідок пригнічення білковосинтезуючої функції печінки [148]. У нашому експерименті показано, що ЯП і препарати порівняння мали практично рівнозначний вплив на синтез білку у алкоголізованих тварин: у всіх групах, котрим після алкоголю вводили ЛЗ вміст загального білку був достовірно вищим за такий у групі контролю, і наближеним до норми.

Зміни ліпідного обміну за тривалого вживання алкоголю проявляються збільшенням вмісту холестеролу та накопиченням триацилгліцеролів [17, 21, 23]. Кумуляція триацилгліцеролів призводить до утворення у гепатоцитах вакуолей різних розмірів, наповнених ліпідами, що і викликає жирову дистрофію печінки [6, 41, 42].

Визначення вмісту холестеролу за підгострої інтоксикації алкоголем показало достовірне його збільшення не тільки у контрольній групі, але й у групі тварин за введення АВ, порівняно з інтактними та лікованими ЯП (р˂0,05). Показник у дослідній групі, тварини якої отримували КД був достовірно меншим за контроль і, водночас, за такий при застосуванні ЯП (р˂0,05). Аналізуючи одержані результати, можемо стверджувати, що ЯП істотно знижує рівень холестеролу за інтоксикації алкоголем, що сприяє гепатопротекції і узгоджується з даними літератури [112, 123].

Оскільки субхронічна алкогольна інтоксикація для відтворення потребує більше часу і тривалої експозиції, то, відповідно, зміни, що розвиваються, мають дещо інший характер і викликають різну глибину пошкоджень [11, 65].

За умов субхронічної алкогольної інтоксикації відзначали суттєве зменшення приросту маси тіла експериментальних тварин у групах, що отримували лікування та від’ємний баланс у контрольній групі (р˂0,05). Зростання масового коефіцієнту печінки було достовірно більшим у контролі, ніж у інтактних і групах тварин за введення ЯП, АВ і КД (р˂0,05), де цей показник залишився в межах видової норми [59].

При вивченні впливу ЯП та препаратів порівняння на окремі вітальні функції щурів за субхронічної інтоксикації етанолом встановлено позитивний вплив ЯП, АВ та КД на підтримання температури тіла та частоту дихання тварин дослідних груп, порівняно з контролем. За введення етанолу у тварин контрольної групи відмічене зниження температури тіла на 10-11 % стосовно норми. У експериментальних групах із використанням фармакологічної корекції зменшення температури тіла не мало статистично достовірної значимості. Пригнічення дихання спостерігали у всіх групах алкоголізованих тварин, але найбільш вираженим воно було у контрольних та лікованих АВ тварин на 1, 3 та 28 добу. Зміни рухової активності спостерігали за у контролі та за використання АВ: зменшення «горизонтальної активності» за показником кількості пересічених квадратів на 1-шу, 3-тю та 28-му добу експерименту порівняно з інтактними та тваринами, котрим вводили ЯП. Введення КД достовірно покращувало цей показник щодо контролю (р˂0,05), але він був вірогідно нижчим порівняно з інтактними (р˂0,05).

Вміст біомаркера МСМ теж зазнав істотних змін за субхронічної інтоксикації етанолом. Найбільше зростання даного показника відзначене у контрольній групі, де він збільшився на 183 % порівняно з інтактними і становив 0,51±0,03у.о. Статистично значимі різниці вмісту МСМ визначені також у групах з фармакологічною корекцією: на 117 % при застосуванні АВ, 56 % з КД і 11 % з ЯП (р˂0,05). Даний тест підтвердив найбільш позитивний нормалізуючий вплив ЯП, порівняно з іншими препаратами, що використані в якості референтних.

З літературних джерел відомо, що активність трансаміназ підвищується за вживання алкоголю від 40 г на день, підвищується протягом 3-7 днів вживання і залишається підвищеною після приймання алкоголю протягом 4-6 тижнів [26, 74]. За хронічної інтоксикації алкоголем показники активності АсАТ і АлАТ є достовірними, традиційно визнаними маркерами доволі простими і доступними для визначення.

Наші дослідження активності вище названих ферментів за субхронічної інтоксикації показали наступне: ЯП достовірно зменшував активність АсАТ і АлАТ за хронічної інтоксикації алкоголем, а саме: АсАТ – на 42 % порівняно з контролем, на 18 % порівняно з введенням АВ та на 11 % проти застосування КД (р˂0,05); АлАТ - на 21 % проти контролю та лікованих АВ (р˂0,05); у той же час, цей показник прирівнювався до результату у групі за використання КД. Такі дані засвідчують ефективність застосування ЯП і вказують на його суттєву перевагу над АВ.

Таким чином, ЯП проявляв лікувальний ефект за умов субхронічної алкогольної інтоксикації, а його вплив на досліджувані показники прирівнювався до дії еталонного сорбенту КД, а в деяких випадках (АсАТ, МСМ) переважав її (р˂0,05). Показано, що ЯП завдяки здатності зв’язувати етанол сприяє зменшенню його токсичної дії і пошкодження печінкових клітин, а отже виявляє виразну детоксикуючу і гепатопротективну дію.

Посилення ВРО та активація ПОЛ за алкогольної інтоксикації починається зі зменшення сталої концентрації ендогенних антиоксидантів (токоферолу), а також селену і цинку, що є компонентами глутатіонпероксидази і супероксиддисмутази - ферментів системи АОЗ. Метаболіти алкоголю, а саме ацетальдегід та ацетат пригнічують активність бета-окиснення жирних кислот. Паралельно із цими реакціями у пероксисомах активується ацил-КоАоксидаза як компенсація за пригнічення окиснення ліпідів у мітохондріях. Вважають, що результатом таких змін метаболізму є посилення пероксисомного окиснення жирних кислот, котре продукує суттєво збільшену кількість супероксидних іонів, що, в свою чергу, індукують ланцюгову реакцію ПОЛ мембран [110, 144, 145]. У літературі ми також зустріли інформацію про можливий вплив автоокиснення катехоламінів, вироблення котрих суттєво зростає за абстинентного синдрому, на збільшення утворення АФК і вільних радикалів [6, 23, 126]. Таким чином, алкоголь, ацетат, ацетальдегід спричиняють розвиток вторинних порушень на всіх рівнях і визначають їх наступний вплив на органи і системи людського організму.

Вплив посиленого алкоголем ПОЛ ми дослідили на визначенні вмісту ДК, МДА та активності КТ за хронічної алкогольної інтоксикації [67]. Так, вміст ДК у сироватці крові тварин контрольної групи зріс на 66 % порівняно з інтактними тваринами - це був достовірно найвищий показник серед інших експериментальних груп (р˂0,05).

Суттєві зміни вмісту ДК спостерігали у сироватці крові тварин за введення ЯП: на 16 % вище за інтактних, але, водночас, на 50 % менше за контроль (р˂0,05). Застосування АВ і КД теж зменшувало рівень ДК порівняно з контролем (р˂0,05), але він залишався достовірно вищим за такий у групі із використанням ЯП (13 %, р˂0,05).

Визначення рівня МДА за призначення ЯП був рівнозначний з групою інтактних тварин, але достовірно відрізнявся від такого інших експериментальних груп: на 20 % проти контролю, 14 % порівняно з використанням АВ та 9 % проти групи тварин, котрим вводили КД (р˂0,05). Такі результати свідчать про виразну антиоксидантну активність ЯП, що має підтвердження у літературних джерелах [6, 115, 121].

Застосування ЯП і препаратів порівняння призводило до нормалізації активності КТ і ми отримали практично рівнозначні дані у всіх групах лікованих тварин, порівняно з контролем (р˂0,05).

Морфологічні дослідження тканин печінки тварин, котрим моделювали хронічну інтоксикацію алкоголем, підтвердили результати біохімічних досліджень.

За хронічної інтоксикації етанолом на перший план виступали дистрофічні зміни печінкових клітин, що проявлялись наявністю прозорих вакуолей різного розміру, здебільшого середнього, у цитоплазмі більшості гепатоцитів (74,40 клітини на 100 гепатоцитів). У цій серії досліджень відзначали найбільший ступінь накопичення вмісту ліпідів − 4,8 бали за півкількісною п’ятибальною шкалою та різко порушену трабекулярну будову органу через неправильні полігональні контури збільшених паренхіматозних клітин печінки. Виражені зміни спостерігали і у портальних трактах, де відмічене розростання сполучної тканини з явищами незначно вираженого набряку, наявністю фібробластів, сполучнотканинних волокон. Сполучна тканина становила 8,94±0,58 %, що втричі більше, ніж при гострій інтоксикації алкоголем. У сполучній тканині портальних трактів виявляли здебільшого макрофагальну інфільтрацію з домішкою лімфоцитів. Застосування ЯП супроводжувалось різко вираженим регресом жирової дистрофії гепатоцитів − з 4,8 до 0,9 при півкількісній оцінці вмісту ліпідів. Відзначали зональність дистрофічно змінених гепатоцитів − здебільшого по периферії часточок в ділянці тріади. Збільшилась кількість одноядерних нормальних клітин ( 79,97 % проти 82,47 % нормальних одноядерних клітин), що наближалось до показника інтактних тварин. Частка паренхіми склала 83,54±5,68 % і теж була наближеною до норми (84,49 ±5,93 %). Спостерігали зниження інтенсивності некротично-апоптичного процесу − 0,1 бала проти 0,8 бала у контролі, зростання кількості репаративних двохядерних гепатоцитів майже у три рази ( з 4,82 у алкоголізованих – до 13,25 за застосування ЯП).

Регресивні зміни гепатоцитів супроводжувались збільшенням площі синусоїдних гемокапілярів та зменшенням кількості фібробластів, що свідчить про призупинення прогресування склеротичних змін у портальному полі за введення ЯП.

На основі проведених морфологічних досліджень тканин печінки за хронічної алкогольної інтоксикації можна стверджувати, що ЯП сприяє зменшенню інтенсивності дистрофічних змін та регресу жирової дистрофії печінки, відновлює репаративні процеси у гепатоцитах та пригнічує розвиток склеротичних змін портальному полі.

Для з’ясування імовірного механізму дії ЯП за алкогольної інтоксикації було проведено ряд дослідів *in vitro.* Так як пектин на 70 % складається із галактуронової кислоти, то, природньо, має кислу реакцію рН= 3,6-3,7 [37, 124, 133]. Відомо, що пектин будь-якого походження не піддається розщепленню у шлунку та тонкий кишці, але частково метаболізується кишковою мікрофлорою товстої кишки [108, 109, 119, 120]. Крім цього, у товстій кишці відбувається деметоксилювання пектину. Здатність до набухання та драглеутворення пектину зберігається і у просвіті кишки за лужної реакції середовища [3, 46], а розщеплення ЯП у товстій кишці сприяє зниженню рН. За рахунок набухання пектину збільшується його об’єм, а разом з тим, і об’єм хімусу, зростає осмотичний тиск і посилюється моторика кишки. Завдяки цьому ЯП має незначну послаблюючу дію [133], що теж сприяє прискоренню виведення токсикантів з організму. Деякі кишкові бактерії здатні використовувати пектин для росту та розмноження, тому ЯП має властивості пребіотика [108, 109, 120]. Оскільки алкоголь всмоктується у шлунку та тонкій кишці, нам було цікаво визначити вплив ЯП на рН середовища, що імітувало просвіт шлунку, тонкої та товстої кишки.

Отримані дані показали, що змішування ЯП з алкоголем за умов імітації середовища просвіту шлунку та за різних температурних режимів (200 і 350 С) показало зростання показника рН до 4,3, а при введенні до цієї суміші дистильованої води спостерігали зниження рН=3,6, що може бути пояснене змінами фізико-хімічних властивостей ЯП і збільшенням активних розчинених залишків галактуронової кислоти. Суміш ЯП з хлороводневою кислотою та алкоголем викликала зсув рН у кислу сторону майже вдвічі, порівняно з референтними препаратами за обох температурних режимів. Імовірно, реакція нейтралізації відбувається саме за рахунок абсорбції, що і призводить до зменшення концентрації, всмоктування і наступного токсичного впливу алкоголю. За відтворення середовища тонкої кишки поєднання водного розчину ЯП з буфером із рН=7,5 дає слабо кислу реакцію – 6,8 і додавання алкоголю цю позицію не змінює при температурі 200. Підвищення температури сумішей до 350 С призводить до суттєвого зміщення рН середовища у кислу сторону за присутності ЯП (на 1,5-2,2 одиниці) та зростання рН за наявності АВ (понад 2,3 одиниці). Водний розчин ЯП за змішування з гідрокарбонатним буфером із рН=8,5, що імітував середовище товстої кишки, викликав різкий зсув реакції в кислу сторону. У той же час, за поєднання того ж буферного розчину з водою та препаратами порівняння реакція залишалась лужною і майже не змінилась за обох температурних режимів.

Щоб підтвердити наші висновки, ми також провели визначення точки нульового заряду (ТНЗ) ЯП. Значення рНТНЗ істотно впливає на процеси поглинання і десорбції іонів, присутніх у розчинах у катіонній і аніонній формах. ТНЗ ЯП на шкалі рН дорівнює 3,75. За результатом даного дослідження можемо твердити, що за рН вище 3,69 пектин адсорбує катіони металів або органічих речовин, а отже спроможний зв’язувати алкоголь. Оскільки ЯП викликає зсув реакції в кислу сторону і у тонкій кишці, де всмоктується до 70 % алкоголю, рН ˃3,69, то, імовірно, його детоксикуюча дія є більш вираженою за АВ і, за деякими параметрами, КД.

Враховуючи, що дозування ЯП у наших дослідженнях було 0,2 г/100 г маси тіла щура, розраховано ефективну дозу для людини за формулою [49] і вона становить 22г.

Імовірно, детоксикуюча дія яблучного пектину реалізується завдяки декільком складовим:

* хімічні властивості сприяють зниженню рН і нейтралізації лужної реакції етанолу у просвіті ШКТ;
* фізичні властивості призводять до абсорбції пектином етанолу і його зв’язування;
* фізико-хімічні властивості сприяють утворенню драглистого прошарку між вмістом кишки і етанолом, що суттєво зменшує всмоктувавння останнього, а заповнюючи просвіт кишки, прискорює перистальтику і евакуацію вмісту кишечника;
* біологічні властивості, як пребіотика, сприяють відновленню мікробіома кишки - зменшують кількість патогенних і збільшують кількість протекторних колоній мікроорганізмів, що в свою чергу, призводить до пригнічення виділення цитокінів та бактерійних токсинів у лімфатичну систему та кровообіг і до зменшення токсичних впливів на ЦНС.

Такий механізм дії пояснює нормалізацію біохімічних, гематологічних та поведінкових реакцій алкоголізованих тварин, особливо при тривалому введенні токсиканта.

**ВИСНОВКИ**

У дисертації наведене теоретичне та експериментальне узагальнення даних і нове вирішення наукової проблеми, що полягає у обґрунтуванні доцільності застосування яблучного пектину з лікувальною метою як детоксиканта за умов гострої і субхронічної алкогольної інтоксикації.

1. Порівняльні дослідження впливу яблучного пектину та активованого вугілля і кремній диоксиду, уведених у шлунок щурів у лікувальному режимі за умов гострої алкогольної інтоксикації, сприяє зменшенню вмісту алкоголю в крові та збільшенню порівняно з контролем кількості тварин, у яких алкоголь відсутній, відповідно на 67 %, 34 % та 17 %.
2. За здатністю нормалізувати специфічні показники гострого отруєння етиловим спиртом: виживання, стан центральної нервової системи (координація рухів, пізнавальна активність), температура тіла і частота дихальних рухів, вміст гемоглобіну та кількість еритроцитів, активність біомаркерів алкоголю, АсАТ і АлАТ, про-антиоксидантний статус яблучного пектину за лікувального та лікувально-профілактичного режиму застосування значно перевищує ефективність препаратів порівняння.
3. За умов інтоксикації етиловим спиртом внаслідок повторного внутрішньошлункового введення щурам протягом 11 та 28 днів яблучного пектину у дозі 0,2 г/100 г маси тіла виявив високі детоксикуючі властивості: зниження активності маркерів цитолізу (АсАТ, АлАТ), зменшення кількості молекул середньої маси, вмісту холестеролу (35 %), триацилгліцеролів (69 %) та інтенсивності процесів ПОЛ сироватки крові у порівнянні з контролем, переважаючи дію активованого вугілля та кремній диоксиду.
4. Морфологічні дослідження тканин печінки за гострої та субхронічної алкогольної інтоксикації підтверджують детоксикуючий та органопротекторний вплив яблучного пектину, оскільки його застосування за лікувального режиму сприяє зменшенню інтенсивності дистрофічних змін та регресу жирової дистрофії печінки, відновлює репаративні процеси у гепатоцитах і пригнічує розвиток склеротичних змін у портальному полі.
5. На моделях *in vitro*, що імітують середовище різних відділів шлунково-кишкового тракту, показано, що яблучний пектин на відміну від активованого вугілля і кремнію диоксиду проявляє буферні властивості, і за введення алкоголю викликає зсув рН у кислий бік. За результатом визначення точки нульового заряду яблучного пектину можна стверджувати, що за рН вище 3,69 він адсорбує катіони металів або органічних речовин, що пояснює здатність зв’язувати етанол.
6. Комплексний методичний аналіз дозволив встановити, що вірогідним механізмом захисної дії яблучного пектину за інтоксикації етанолом є абсорбція алкоголю, а також утворення густого шару драглів. Це зменшує контакт і всмоктування етанолу в кров, усуваючи розвиток оксидативного стресу, реалізуючи нейро- та гепатопротекторну дію, що підтверджено біохімічними і морфологічними показниками.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Аджиахметова С.Л., Мыкоц Л.П., Червонная Н.М., Харченко И.И., Туховская Н.А., Оганесян Э.Т. Изучение процесса адсорбции пектиновых веществ листьев крыжовника отклоненного на границе двух фаз. Фармация, 2018; 67 (8): 37-43 <https://doi.org/10.29296/25419218-2018-08-06>
2. Александрова К.В., Шкода ОС, Васильєв Д.А., Юрченко Д.М., Левіч С.В. Визначення активності ферментів в біологічних середовищах. Одиниці активності ферментів. Ензимопатії. Медична ензимологія. Запоріжжя: Запорізький державний медичний університет.2015. 45с.
3. Баранова И.И., Запорожская С.Н. Сравнительная характеристика реопараметров гелеобразователей различного происхождения. Запорож.мед.журн. 2008;4(49): 81-84.
4. Барышникова H.В. Алкогольная болезнь печени: особенности диагностики и лечения. Гастроэнтерология. Приложение к журналу Consilium Medicum.2014; 2:16-18.
5. [Башарова Р.В](http://journal.forens-lit.ru/taxonomy/term/1020)., [Мусина Л.Д](http://journal.forens-lit.ru/taxonomy/term/1021)., [Хакимова А.Л.](http://journal.forens-lit.ru/taxonomy/term/1022) Идентификация ацетальдегида в биологических объектах газохроматографическим методом. Актуальные вопросы судебной медицины и права. Казань. 2010;1. [Інтернет] Publication in electronic media: 22.10.2011 Доступно з: <http://journal.forens-lit.ru/node/392>.
6. Білай І.М., Демченко В.О., Білай А.І., Красько М.П., Остапенко А.О. Вплив лікарських засобів рослинного походження на показники ліпідного обміну та перекисного окислення ліпідів при експериментальній гіперліпідемії. Журнал науковий огляд. 2017; 7(39):1-8.

# [Біле вугілля: інструкція UA/16126/01/01 (23205) - Ліки Контроль](http://likicontrol.com.ua/%D1%96%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D1%96%D1%8F/?%5b23205%5d). Доступно з: likicontrol.com.ua/інструкція/?[23205]

1. Бугров О.Д., Мартинюк І.М. Динаміка показників рН у дистильованій, бідистильованій і апірогенній воді в процесі зберігання [Інтернет]. Доступно з: [http://stattionline.org.ua/agro/109/20603-dinamika-pokaznikiv-ph-u-distilovanij -bidistilovanij-i-apirogennij-vodi-v-procesi-zberigannya.html](http://stattionline.org.ua/agro/109/20603-dinamika-pokaznikiv-ph-u-distilovanij%20-bidistilovanij-i-apirogennij-vodi-v-procesi-zberigannya.html).
2. Буторова Л.И. Гепатопротективная терапия жировой болезни печени неалкогольного и алкогольного генеза. Эффективная фармакотерапия.2016; 34: 12-21.
3. Витязев Ф.В., Падерин Н.М., Головченко В.В. Связывание липопротеинов низкой плотности сыворотки крови человека in vitro сульфатированными производными пектинов. Биоорганическая химия. 2012;38(3):365.
4. Войтенко В.В., Степанець І., Конопельнюк В.Г., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Оцінка розвитку експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації. Біологія. 2013; 3:17-19.
5. [Волчегорский И.А](https://elibrary.ru/author_items.asp?authorid=124020)., [Налимов А.Г](https://elibrary.ru/author_items.asp?authorid=143520)., [Яровинский Б.Г](https://elibrary.ru/author_items.asp?authorid=489928)., [Лифшиц Р.И.](https://elibrary.ru/author_items.asp?authorid=772284) Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови. [Вопросы медицинской химии](https://elibrary.ru/contents.asp?id=33956212). 1989;1:127-131.
6. Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Детоксикуючий ефект яблучного пектину за умов експериментальної гострої алкогольної інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2018; 20 (2): 72-76.
7. Гайнюк М.Б. Яблучний пектин в якості детоксиканта за умов гострої і хронічної алкогольної інтоксикації. Інновації в медицині: Тези доповідей 88-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю, 28-30.03.2019. Івано-Франківськ;2019:с.83.
8. Григ Н.І. Обґрунтування застосування еферентної терапії у терапевтичній стоматології. Новини стоматології. 2015;4(85):61-67.
9. Гуріна Н.М., Бардахівська К.І. Ентеросорбенти як засіб для детоксикації організму. [Інтернет]. kiulong.com.ua. http: // www. //kiulong.com.ua/ content/view/67/1.
10. Давидова Н.В. Вплив мелатоніну на стан глутатіонової системи печінки щурів за умов підгострої алкогольної інтоксикації. Буковинський медичний вісник. 2014; 18(3):62-64.
11. Дацко Т.Я., Зеленцов В.И. Зависимость поверхностного заряда и адсорбции фтора γ- окисью алюминия от температуры раствора. Электронная обработка материалов, 2009;5:65−73.
12. Двоеносова П.А., Доронин А.Ф., Изотова Т.И. Функциональные пектинсодержащие продукты при синдроме кишечной недостаточности. Пищевая промышленность.2009;6:54-55.
13. Демидова Т.И., Емельянов С.И., Демидов Д.А., Богданов Д.Ю. Энтеросорбция и энтеросорбенты в лечении хирургического эндотоксикоза. Вестник Академии медико-технических наук. 2010;1:29-35.
14. Дереча Л.М., М’ясоєдов В.В., Бондаренко В.В. Об’єктивізація лабораторної діагностики гострої та хронічної алкогольної інтоксикації з використанням сучасних біохімічних маркерів. Tеорія та практика судової експертизи і криміналістики. 2016;16:406-412.
15. Диденко В.И. Современные достижения в оценке стеатоза печени. Гастроентерологія.2015;3(57):94-100.
16. Діденко В.І. Актуальність визначення спектра жирних кислот у біологічних субстратах у діагностиці гастроентерологічних захворювань. Гастроентерологія. 2017; 51(2):137-141.
17. Ермолов A.C., Лазарева Е.Б. Эффективность пектинов в комплексном лечении и профилактике гнойно-воспалительных инфекций у больных с неотложной хирургической патологией. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2006;3:47-51.
18. Єдиний клінічний протокол екстреної медичної допомоги "гостре отруєння"[Інтернет]. Доступно з: medstandart.net.
19. Запотоцька О.В. Коекструзійні продукти підвищеної харчової цінності. Автореф. дис. на здобуття наук. ступеню канд. техн. наук. Нац. ун-т харч. технологій. Київ. 2013: 21.
20. [Зозуля І.С](https://www.umj.com.ua/article/writer/zozulya-i-s)., [Курдиль Н.В](https://www.umj.com.ua/article/writer/kurdil-n-v)., [Падалка В.М](https://www.umj.com.ua/article/writer/padalka-v-m)., [Іващенко О.В](https://www.umj.com.ua/article/writer/ivashhenko-o-v). Гострі отруєння алкоголем у дорослих, алкогольна кома: практичні рекомендації на догоспітальному етапі. Укр мед журнал, 2017;3(119). Інтернет: [https://www.umj.com.ua/article/110491/ gostri-otruyennya-alkogolem-u-doroslih-alkogolna-koma-praktichni-rekomendatsiyi-na-dogospitalnomu-etapi](https://www.umj.com.ua/article/110491/%20gostri-otruyennya-alkogolem-u-doroslih-alkogolna-koma-praktichni-rekomendatsiyi-na-dogospitalnomu-etapi).
21. Кияк Ю.А., Онищук Ю.І., Башта А.А., Перетятко Н.А., Фартушок Н.А. Серцево-судинні ускладнення при вживанні надмірних доз алкоголю. Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. 2015;3:72-76.
22. Комаров В.С., Ратько А.И. Адсорбенты: получение, структура, свойства. Минск:Беларус. Наука;2009:256.
23. Конопельнюк В.В., Войтенко В.В., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Вміст амінокислот у сироватці крові щурів при хронічній алкогольній інтоксикації. Лабораторна діагностика. 2013;1 (63):44-47.
24. Концентрація – етиловий спирт. [Технічна енциклопедія TechTrend](http://techtrend.com.ua/). [Інтернет]. Доступно з: <http://techtrend.com.ua/index.php?newsid> =26002757.
25. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы . Лаб. дело.1988;1:16–19.
26. Лазарева Е.Б. Эффективность местного применения пектинов в лечении ожоговых ран. Антибиотики и химиотерапия. 2002;9:9-13.
27. Макаревич Н.А., Богданович Н.И. Теоретические основы адсорбции: учебное пособие. Сев. (Арктич.) федер. ун-т им. М.В. Ломоносова. Архангельск: САФУ; 2015: 362 с.
28. Парфит Д., Рочестер К. Редакторы. Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел. М.:Мир;1986:488.
29. Пахомова А.О., Коваленко О.А., Говоруха Т.М., Бабан В.М., Макарчук М.Ю. Зміна поведінкових реакцій та ліпопероксидних процесів в тканині печінки гостро алкоголізованих щурів при введенні кверцетину протягом 14 діб. Фізика живого. 2008; 16(1):105-110.
30. Пектины: свойства, получение, применение. [Інтернет]. Доступно з: <http://newchemistry.ru/letter.php?n_id=6344>.
31. Погорелый В.К. Закономерности адсорбции природных биоактивных соединений на поверхности нанодисперсного кремнезема. Поверхность. 2009;1 (16):322 – 349.
32. Приложение A к Европейской конвенции об охране позвоночных животных, используемых для экспериментов и в других научных целях (ets № 123). Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными (статья № 5 Конвенции). СПБ;2014:98. Доступно з:<http://ruslasa.ru/wp-content/uploads/2017/06/ETS.pdf>
33. Протоколи надання медичної наркологічної допомоги (2009).Колектив авторів. Київ. Код доступу: <https://phc.org.ua/uploads/files/pdf>.
34. Ракша Н.Г., Конопельнюк В.В., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Трансферин як потенційний маркер для діагностування хронічної алкогольної інтоксикації. Біологічні Студії / Studia Biologica. 2014; 8(3–4):79–86.
35. Рикало НА, Романенко ІВ. Патоморфологічні зміни печінки та біохімічні зміни сироватки крові при гострому алкогольному гепатиті в умовах експерименту. Експериментальна і клінічна медицина. 2016; 2(71):156-160.
36. Северин Е.С., редактор. Биохимия. Учебник для ВУЗов. 2-е изд. М: Геотар-Мед;2019:768.
37. Сергущенко И.С., Ковалев В.В., Бедняк А.Е., Хотимченко С.В. Сравнительная оценка металлсвязывающей активности низкоэтерифицированного пектина из морской травы zostera marina и других сорбентов. Биология моря. 2004;1:83-85.
38. Сосін І.К., Сквира І.М., Гончарова О.Ю., Чуєв Ю.Ф. Інтегрована діагностична ідентифікація алкогольної залежності у загальносоматичній практиці. Схiдноєвропейський журнал внутрiшньої та сiмейної медицини. 2014;1: 95-99.

# Стабилизатор Е440 (Пектин) [Інтернет]. Доступно з: <http://am-am.su/53-stabilizator-e440-pektin.html>

1. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. Ред. В.Н. Орехович.М. Медицина;1977;57-59.
2. Степанець І., Моргаєнко О., Остапченко Л. Білковий склад сироватки крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. Вісн. Львів. Універ. Серія біолог. 2013;61:30–36.
3. Стефанов О.В., редактор. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. рекоменд.. Київ: ВД «Авіцена»;2001. 527.
4. Таран Н.Г. Адсорбенты и иониты в пищевой промышленности. М.: Легкая и пищевая пром-сть;1983:248 с.
5. Тарасенко Ю.А., Геращенко И.И., Картель Н.Т. Энтеросорбция как метод выведения из организма тяжелых металлов и радионуклидов. Поверхность. 2014; 6(21): 110–121.
6. Тесарівська У.І., Мартиник С.Я. Вивчення орієнтовно-дослідницької активності щурів при введенні настоянки трави кануферу (pyrethrum majus). [Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин](http://www.irbis-nbuv.gov.ua/cgi-bin/irbis_nbuv/cgiirbis_64.exe?Z21ID=&I21DBN=UJRN&P21DBN=UJRN&S21STN=1&S21REF=10&S21FMT=JUU_all&C21COM=S&S21CNR=20&S21P01=0&S21P02=0&S21P03=IJ=&S21COLORTERMS=1&S21STR=%D0%9672108). 2015; 16(1):114-119. Доступно з: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/ Ntbibt\_2015\_16\_1\_22](http://nbuv.gov.ua/UJRN/%20Ntbibt_2015_16_1_22).
7. Товчига О.В., Горбач Т.В., Штриголь С.Ю., Степанова С.І. Вплив препаратів яглиці звичайної (Aegopodium podagraria L.) на показники ліпідного обміну в щурів на тлі одноразового введення етанолу. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2015; 4–5 (45):87-89.
8. Трахтенберг І.М., редактор. Лікарська токсикологія. Доклінічні дослідження. Київ: ВД «Авіцена»; 2019: 544.
9. Трахтенберг І.М., Дмитруха Н.М., Козлов К.П., Апихтіна О.Л., Короленко Т.К., Краснокутська Л.М. Сучасні підходи щодо профілактики інтоксикацій важкими металами. Таврический медико-биологический вестник. 2012; Т 15, 1(57): 253-257.
10. Трофімчук Г.Є., Тіщенко Г.М., Синіцька Т.В. [Особливості лабораторних методів діагностики інтоксикації психоактивними речовинами](http://www.stattionline.org.ua/psihiatriya/41/3893-osoblivosti-laboratornix-metodiv-diagnostiki-intoksikaci%D1%97-psixoaktivnimi-rechovinami.html). Архів психіатрії. 2009;3 (58): 66-71.
11. Уніфікований клінічний протокол екстреної медичної допомоги «гострі отруєння». Наказ Міністерства охорони здоров’я 15 січня 2014 року № 34. Інтернет: [mtd.dec.gov.ua › index.php.](http://mtd.dec.gov.ua/index.php/uk/haluzevi-standarty-ta-klinichni-nastanovy/item/download/59_0354a6b292dad76190d8e5c34c88039d)
12. Федоренко Ю.В. Протекторна роль пектину та кальцію при роздільній і комбінованій дії свинцю і фтору. Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. 2003;4:13-18.
13. Физиологические, биохимические и биометрические показатели нормы экспериментальных животных. Справочник. СПБ. «ЛЕМА»; 2013:116.
14. Халилов М.Х., Закихорджаев Ш.Я. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации. Вопросы клиники алкоголизма: науч. тр. Ташкент;1983:38–41.
15. Харченко О. Вміст трипсиноподібних ферментів і молекул середньої маси плазми крові як потенційні маркери хронічної алкогольної інтоксикації. Вісн. КНУ ім. Т. Шевченка. БІОЛОГІЯ. 2014;3(68):61-64.
16. Харченко О., Савчук О., Остапченко Л. Аналіз змін білкового профілю при хронічній алкогольній інтоксикації для діагностування розвитку даного патологічного стану організму. Вісн. КНУ ім. Т.Шевченка. Біологія. 2015; 2(70):11-19.
17. Чуйко А.А. Редактор. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния. Киев. Наук. Думка; 2003:416 с.
18. Шаяхметова Г.М., Карпова О.В., Вороніна А.К., Головенко М.Я. Гепатозахисна дія метадоксину при експериментальному алкогольному гепатиті в щурів. Медична та клінічна хімія. 2015; 17(4): 54-58. DOI 10.11603/mcch.2410-681X.2015.v17.i4.5685
19. Шеремета Л.М., Гайнюк М.Б. Вплив яблучного пектину на біохімічні та гематологічні показники у тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2018; 2(22): 280-284.
20. Шеремета Л.М., Гайнюк М.Б. Вплив та можливі механізми дії яблучного пектину за умов гострої алкогольної інтоксикації в експерименті. Довкілля і здоров’я: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю, 27-28.04.2018. Тернопіль; 2018:с.57.
21. Шеремета Л.М., Гайнюк М.Б., Багрій М.М. Вплив пектину яблучного на гістоструктуру печінки щурів і активність ПОЛ за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2018; 2 (58): 86-91.
22. Шеремета Л.М., Гайнюк М.Б., Гудивок Я.С. Вплив яблучного пектину на активність процесів ПОЛ та поведінкові реакції при експериментальній гострій алкогольній інтоксикації. Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи: матеріали УІІІ Національного з’їзду фармацевтів України, 13-16 вересня 2016 р. Харків; Харків; 2016: с. 129.
23. Шеремета Л.М., Гайнюк М.Б. Застосування яблучного пектину при гострій алкогольній інтоксикації в експерименті. Хімія природніх сполук: матеріали ІУ Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 21-22 квітня 2016 Тернопіль; Тернопіль: 2016. с. 110.
24. Шеремета Л.М., Гайнюк М.Б. Фармакологічні ефекти яблучного пектину за умов гострої алкогольної інтоксикації в експерименті. Тези доповідей У Національного з’їзду фармакологів України, 18-20.10. 2017 р. Запоріжжя; Запоріжжя; 2017: с. 140-141.
25. Шлунковий сік. Вікіпедія. [Інтернет]. Доступно з: [https://uk.wikipedia.org/ wiki/шлунковий](https://uk.wikipedia.org/%20wiki/шлунковий) сік.
26. Щербина О.М., Бедзай А.О., Михалічко Б.М. Ідентифікація небезпек, пов’язаних з отруєнням людського організму алкоголем та його сурогатами методами хроматографії. Вісник ЛДУ БЖД. 2012;6: 168-175.
27. Alende-Castro V, Alonso-Sampedro M, Vazquez-Temprano N, Tuñez C, Rey D, García-Iglesias C.et al. Factors influencing erythrocyte sedimentation rate in adults**.** New evidence for an old test. Medicine: [August 2019,98(34):p e16816](https://journals.lww.com/md-journal/toc/2019/08230). doi: 10.1097/MD.0000000000016816.
28. [Andresen-Streichert H](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Andresen-Streichert*%20H%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=29807559), [Müller](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=M%26%23x000fc%3Bller*%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=29807559) A, [Glahn](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Glahn%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=29807559) A, [Skopp G](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Skopp*%20G%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=29807559), [Sterneck](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Sterneck*%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=29807559) M. Alcohol Biomarkers in Clinical and Forensic Contexts. [Dtsch Arztebl Int](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5987059/). 2018; 115(18): 309–315. doi: [10.3238/arztebl.2018.0309](https://dx.doi.org/10.3238%2Farztebl.2018.0309).
29. Antabuse. Інтернет: <https://www.rxlist.com/antabuse-drug.htm#medguide>.
30. [ATC - класифікатор - Державний формуляр лікарських засобів](http://preparaty.org/atc) [інтернет]. 2018; Доступно з: preparaty.org/atc.
31. Avegno, E. M. and Gilpin, N. W. Inducing Alcohol Dependence in Rats Using Chronic Intermittent Exposure to Alcohol Vapor. Bio-protocol 2019; 9(9): e3222. DOI: [10.21769/BioProtoc.3222](https://doi.org/10.21769/BioProtoc.3222).
32. Bagnardi V, Rot, M, Botteri E,  [Tramacere](https://www.nature.com/articles/bjc2014579#auth-4) I,  [Islami](https://www.nature.com/articles/bjc2014579#auth-5) F,  [Fedirko](https://www.nature.com/articles/bjc2014579#auth-6) V et al. Alcohol consumption and site-specific cancer risk: a comprehensive dose–response meta-analysis. Br J Cancer 2015;112:580–593. doi:10.1038/bjc.2014.579.
33. [Bishehsari](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bishehsari%20F%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988571) F,  [Magno](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Magno%20E%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988571) E,  [Swanson](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Swanson%20G%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988571) G, [Desai](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Desai%20V%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988571) V, [Voigt](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Voigt%20RM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988571) RM, [Forsyth](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Forsyth%20CB%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988571) CB, [Keshavarzian](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Keshavarzian%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988571) A. Alcohol and Gut-Derived Inflammation. [Alcohol Res](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5513683/). 2017; 38(2): 163–171.
34. Caffall KH, Mohnen D. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. Carbohydrate Research.[інтернет]. 2009; Доступно з:<http://plantometrics.com/files/biblio_attachments>/Caffall,K (2009) Pectin-review.pdf.
35. Camilleri M, Linden DR. Measurement of Gastrointestinal and Colonic Motor Functions in Humans and Animals. [Cell Mol Gastroenterol Hepatol](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5026190/). 2016; 2(4): 412–428.doi: [10.1016/j.jcmgh.2016.04.003](https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jcmgh.2016.04.003).
36. Cao Y,  Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ, Giovannucci EL. Light to moderate intake of alcohol, drinking patterns, and risk of cancer: results from two prospective US cohort studies. BMJ 2015;351:h4238.
37. Caputo F, Agabio R, Vignoli T, Patussi V, Fanucchi T, Cimarosti P. et al.  Diagnosis and treatment of acute alcohol intoxication and alcohol withdrawal syndrome: position paper of the Italian Society on Alcohol. Internal and Emergency Medicine. [Інтернет] <https://doi.org/10.1007/s11739-018-1933-8>; Доступно з: https://www.epicentro.iss.it /alcol/pdf/ 2018 [Caputo].pdf
38. Chandini, Mathai PJ. Haematological Parameters in Patients with Alcohol Dependence Syndrome. Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS) . 2017;16(5):11-16. DOI: 10.9790/0853-1605011116.
39. Das SK, Vasudevan D.M. Monitoring oxidative stress in patients with non-alcoholic and alcoholic liver diseases. Indian J Clin Biochem. 2005; 20(2), 24-28. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3453846/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3453846/%0d)
40. de Lima M.B., Gama A., Hauschildt A.T., Dall’Agnol DJR, Corá LA, Americo MF. Gastrointestinal Motility, Mucosal Mast Cell, and Intestinal Histology in Rats: Effect of Prednisone. BioMed Research International. 2017; Article ID 4637621: 8. <https://doi.org/10.1155/2017/4637621>
41. [Di Lorenzo C](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Di%20Lorenzo%20C%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=3169489), [Williams C.M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Williams%20CM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=3169489)., [Hajnal F](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hajnal%20F%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=3169489)., [Valenzuela J.E](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Valenzuela%20JE%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=3169489). Pectin delays gastric emptying and increases satiety in obese subjects. [Gastroenterology.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3169489) 1988 Nov;95(5):1211-5.

# Diabetes Medications and Alcohol Interactions. Medically reviewed by [L. Anderson,](https://www.drugs.com/support/editor/14/l-anderson-pharmd.html)  Last updated on Mar 11, 2019. Інтернет: <https://www.drugs.com/article/diabetes-medications-alcohol.html>.

# [Dongowski](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dongowski%20G%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=10742206) G.,  [Lorenz](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lorenz%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=10742206) A.,  [Anger](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Anger%20H%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=10742206) H. Degradation of Pectins with Different Degrees of Esterification by Bacteroides thetaiotaomicron Isolated from Human Gut Flora. [Appl Environ Microbiol](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91987/). 2000; 66(4): 1321–1327.

1. [Dongowski](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dongowski%20G%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=10742206) G.,  [Lorenz](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lorenz%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=10742206) A.,  Proll J. The Degree of Methylation Influences the Degradation of Pectin in the Intestinal Tract of Rats and In Vitro. J. Nutr. 2002;132:1935–1944.
2. Effects of alcohol abstinence on glucose metabolism in Japanese men with elevated fasting glucose: A pilot study. [Scientific Reports](https://www.nature.com/srep), 2017;**7**, Article number: 40277.  [Published: 09 January 2017](https://www.nature.com/articles/srep40277#article-info).

# Elanchezhian, Yoganandh T, Mayilsamy S, Radhakrishnan S. Comparison of haematological parameters between alcoholics and non-alcoholics. Int J Res Med Sci. 2017;5(11):5041-5047.

1. Ethanol Metabolism. [Інтернет]. Доступно з: https://themedical biochemistrypage.org/ethanol-metabolism.php. Last modified: Dec.13, 2018.
2. Figler M, Mozsik G. Effect of pectin application on gastric mucosal lesions induced by ethanol or aspirin in rats. Dig Dis Sci. 1998;43[abstract A13]:2342.
3. Frakes Vozzo C, Welch N.,  [Romero-Marrero C.,](https://my.clevelandclinic.org/staff/15087-carlos-romero-marrero)  Fairbanks K.D. Alcoholic Liver Disease. Інтернет: [http://www.clevelandclinicmeded.com/ medicalpubs/disease management/hepatology/alcoholic-liver-disease/](http://www.clevelandclinicmeded.com/%20medicalpubs/disease%20management/hepatology/alcoholic-liver-disease/). Published: June 2018.
4. Frazier T.H., Stocker A.M., Kershner N.A., Marsano L.S., McClain C.J. Treatment of alcoholic liver disease. Therap Adv Gastroenterol. 2011; 4(1): 63–81. doi: 10.1177/1756283X10378925.
5. [Funayama](https://www.nature.com/articles/srep40277#auth-1) T., [Tamura](https://www.nature.com/articles/srep40277#auth-2) Y., [Takeno](https://www.nature.com/articles/srep40277#auth-3) K.,  [Kawaguchi](https://www.nature.com/articles/srep40277#auth-4) M., [Kakehi](https://www.nature.com/articles/srep40277#auth-5) S., [Watanabe](https://www.nature.com/articles/srep40277#auth-6) T, et al. Effects of alcohol abstinence on glucose metabolism in Japanese men with elevated fasting glucose: A pilot study. [Scientific Reports](https://www.nature.com/srep), 2017; 7, Article number: 40277.  [Published: 09 January 2017](https://www.nature.com/articles/srep40277#article-info).
6. Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. Cataloguing-in-Publication (CIP) data. CIP data are available at <http://apps.who.int/iris>.
7. [Gorky J](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Gorky%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=26188287)., [Schwaber J](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Schwaber%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=26188287). The role of the gut-brain axis in alcohol use disorders. [Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26188287/) 2016;65:234-41. doi: 10.1016/j.pnpbp .2015. 06.013.
8. Goyal R.K., Guo Y., Mashimo H. Advances in the physiology of gastric emptying. [Neurogastroenterol Motil. 2010; 22(2): 181–185.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&retmode=ref&cmd=prlinks&id=19735361) doi: [10.1111/j.1365-2982.2009. 01393.x](https://dx.doi.org/10.1111%2Fj.1365-2982.2009.01393.x)
9. [Guo X.,](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15300230#!) [Meng H., Tang Q](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15300230#!).,  [Pan R](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15300230#!).,  [Zhu S](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15300230#!)., [Yu](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X15300230#!) S. Effects of the precipitation pH on the ethanolic precipitation of sugar beet pectins. [Food Hydrocolloids](https://www.sciencedirect.com/science/journal/0268005X). January 2016;[52](https://www.sciencedirect.com/science/journal/0268005X/52/supp/C):431-437. [https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.013](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.013/).
10. Gupta S., Figueredo V.M. Alcohol and lipids. OA Alcohol. 2014; 2(1):3-15. [www.oapublishinglondon.com/article/1223](http://www.oapublishinglondon.com/article/1223%0d).
11. Haynuk M., Sheremeta L. Тhe apple pectin influence upon the liver histological structure and the activity of lipid peroxidation in experimental acute alcohol intoxication. The Pharma Innovation Journal. 2019; 8(2): 590-593.
12. [Hvidtfeldt U.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hvidtfeldt%20UA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20351238)., [Tolstrup J.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tolstrup%20JS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20351238)., [Jakobsen M.U](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Jakobsen%20MU%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20351238)., [Heitmann B.L](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Heitmann%20BL%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20351238)., [Grønbaek M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Gr%C3%B8nbaek%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20351238), [O'Reilly E](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=O%27Reilly%20E%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=20351238),  et al. Alcohol intake and risk of coronary heart disease in younger, middle-aged, and older adults. Circulation. 2010;121(14):1589-1597.
13. [Jakóbik-Kolon](https://www.tandfonline.com/author/Jak%C3%B3bik-Kolon%2C+Agata) A., [Milewski](https://www.tandfonline.com/author/Milewski%2C+Andrzej+K) A.K., [Krzysztof Karoń](https://www.tandfonline.com/author/Karo%C5%84%2C+Krzysztof) K., [Bok-Badura](https://www.tandfonline.com/author/Bok-Badura%2C+Joanna) J. New, hybrid pectin-based biosorbents. [Separation Science and Technology. 2016; 51(15-16)](https://www.tandfonline.com/toc/lsst20/current):2604-2611. <https://doi.org/10.1080/01496395.2016.1162809>.
14. [Jastrzębska](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Jastrz%26%23x00119%3Bbska%20I%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27350834) I.,  [Zwolak](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Zwolak%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27350834) A.,  [Szczyrek](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Szczyrek%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27350834) M., [Wawryniuk](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Wawryniuk%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27350834) A., [Skrzydło-Radomańska](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Skrzyd%26%23x00142%3Bo-Radoma%26%23x00144%3Bska%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27350834) B.,  [Daniluk](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Daniluk%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27350834) J. Biomarkers of alcohol misuse: recent advances and future prospects. [Prz Gastroenterol](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4916243/). 2016; 11(2): 78–89. doi: [10.5114/pg.2016.60252](https://dx.doi.org/10.5114%2Fpg.2016.60252).
15. Jelski W., Szmitkowski M. Alcohol dehydrogenase (ADH) and aldehyde dehydrogenase (ALDH) in the cancer diseases. Clin Chim Acta. 2008;3(95):1–5.
16. Jensen N.S., Canale-Parola E. Nutritionally limited pectinolytic bacteria from the human intestine. Appl Environ Microbiol. 1985;50:172–173.
17. Jensen N.S., Canale-Parola E. Bacteroides pectinophilus sp. nov. and Bacteroides galacturonicus sp. nov.: two pectinolytic bacteria from the human intestinal tract. Appl Environ Microbiol. 1986;52:880–887.
18. [Jin](https://www.nature.com/articles/cddis201378#auth-1) M.,  [Ande](https://www.nature.com/articles/cddis201378#auth-2) A.,  [Kumar](https://www.nature.com/articles/cddis201378#auth-3) A., Kumar S. Regulation of cytochrome P450 2e1 expression by ethanol: role of oxidative stress-mediated pkc/jnk/sp1 pathway. Cell Death & Disease. 2013;4:554.
19. Jonas D.E., Amick H.R., Feltner C., et al. Pharmacotherapy for adults with alcohol use disorders in outpatient settings: a systematic review and meta-analysis. JAMA.doi:10.1001/jama.2014.3628.
20. [Judd P.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Judd%20PA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=4063281)., [Truswell A.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Truswell%20AS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=4063281). The hypocholesterolaemic effects of pectins in rats. [Br J Nutr.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4063281) 1985;53(3):409-425.
21. Kim S.K.,  [Hong](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hong%20SH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28465500) S-H, [Chung](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Chung%20JH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28465500) J-H,  [Cho](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Cho%20KB%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28465500) K.B. Association Between Alcohol Consumption and Metabolic Syndrome in a Community-Based Cohort of Korean Adults. [Med Sci Monit](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5424649/). 2017; 23: 2104–2110.Published online 2017 May 3. doi: [10.12659/ MSM.901309](https://dx.doi.org/10.12659%2FMSM.901309)
22. [Klatsky A.L](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Klatsky%20AL%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=26158548). Alcohol and cardiovascular diseases: where do we stand today? [J Intern Med.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26158548) 2015; 278(3):238-250. doi: 10.1111/joim.12390. Epub 2015 Jul 8.

# [Koriem K.M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Koriem%20KM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23193971)., [Fathi G.E](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Fathi%20GE%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23193971)., [Salem H.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Salem%20HA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23193971)., [Akram N.H](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Akram%20NH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23193971)., [Gamil S.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Gamil%20SA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23193971). Protective role of pectin against cadmium-induced testicular toxicity and oxidative stress in rats. [Toxicol Mech Methods.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23193971) 2013;23(4):263-72. doi: 10.3109/15376516.2012. 748857.  Epub 2013 Jan 22.

1. Lamas-Paz A., Hao F., Nelson L.J., Vázquez M.T., Canals S., Gómez del Moral M., Martínez-Naves E., Nevzorova Y.A., Cubero F.J. Alcoholic liver disease: Utility of animal models. World J Gastroenterol. 2018; 24(45): 5063-5075. DOI:<https://dx.doi.org/10.3748/wjg.v24.i45.5063>.
2. Lee S.Y., Park H.J., Best-Popescu C., Jang S., Park Y.K. The Effects of Ethanol on the Morphological and Biochemical Properties of Individual Human Red Blood Cells. PLoS ONE. 2015; 10(12): e0145327. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145327.
3. Leung P.C., Siu W.S., Erik CHKO, Ko ECH, Lee HK et al. A Food Supplement with Lead A Preliminary Study. J Heavy Met Toxicity Dis. 2017, 2:1.
4. [Liu Y](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Liu%20Y%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27164497)., [Dong M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Dong%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27164497)., [Yang Z](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Yang%20Z%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27164497)., [Pan S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Pan%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27164497). Anti-diabetic effect of citrus pectin in diabetic rats and potential mechanism via PI3K/Akt signaling pathway. [Int J Biol Macromol.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27164497) 2016 Aug;89:484-8. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.05.015.
5. Lopez-Siles M., Khan T.M., Duncan S.H., Harmsen HJM, Garcia-Gil L.J., Flint H.J. [Cultured Representatives of Two Major Phylogroups of Human Colonic Faecalibacterium prausnitzii Can Utilize Pectin, Uronic Acids, and Host-Derived Substrates for Growth](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3255724/). Appl Environ Microbiol. 2012; 78(2): 420–428. doi: 10.1128/AEM.06858-11.

# [Louvet](https://www.nature.com/articles/nrgastro.2015.35#auth-1) A., [Mathurin](https://www.nature.com/articles/nrgastro.2015.35#auth-2) P. Alcoholic liver disease: mechanisms of injury and targeted treatment. [Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology](https://www.nature.com/nrgastro), 2015;12:231–242.

1. Mercadante S., Prestia G., Adile C., Casuccioy A. Intranasal Fentanyl Versus Fentanyl Pectin Nasal Spray for the Management of Breakthrough Cancer Pain in Doses Proportional to Basal Opioid Regimen. The Journal of Pain. 2014;15(6): 602-607.
2. [Miettinen T.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Miettinen%20TA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=890983)., [Tarpila S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tarpila%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=890983). Effect of pectin on serum cholesterol, fecal bile acids and biliary lipids in normolipidemic and hyperlipidemic individuals. [Clin Chim Acta.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/890983) 1977;79(2):471-7.
3. Mohnen D. Pectin structure and biosynthesis. Current Opinion in Plant Biology. 2008; 11:266–277. [Інтернет]. Доступно з: [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com).
4. Morgan T.R. Treatment of Alcoholic Liver Disease. Gastroenterology & Hepatology, 2017;13(7). Інтернет: https://www.gastroenterologyandhepatology. net/archives /july-2017/treatment-of-alcoholic-liver-disease/.
5. Mukherjee S. Alcohol metabolism and generation of free radicals: A deep insight. OA Alcohol. 2014;2(1):10.
6. Mukherjee S. Alcoholism - a deep insight to its role in various diseases: A critical review. OA Alcohol. 2013;1(2):11-17.
7. [Mutlag](https://www.researchgate.net/profile/Shihab_Mutlag) S., [A Abdulhussein](https://www.researchgate.net/profile/Ali_Abdulhussein4) A.J., [Mustafa](https://www.researchgate.net/profile/Safa_Mustafa2) S., [Taher](https://www.researchgate.net/scientific-contributions/2147903086_Mohammed_A_Taher) M.A., [Hawi](https://www.researchgate.net/scientific-contributions/2147841789_Amani_Jabbar_Hawi) A.J. The assessment of alcohol effects on red blood cell indices in rats. Drug Invention Today. 2018; 10(special issue 3):3153-3158.
8. Nnamdi G Nelson, Faten A Suhaidi, Ross S DeAngelis, Nu-Chu Liang. **Appetite and weight gain suppression effects of alcohol depend on the route and pattern of administration in Long Evans rats.** Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2016; 150-151: 124 DOI: [10.1016/j.pbb.2016.10.006](http://dx.doi.org/10.1016/j.pbb.2016.10.006)
9. Nesterenko V.B., Nesterenko A.V., Babenko V.I., Yerkovich T.V., Babenko I.V. Reducing the 137Cs-load in the organism of “Chernobyl” children with apple pectin. Swiss Med. Wkly. 2004; 134: 24–27. DOI: [2004/01/smw-10223](https://doi.org/2004/01/smw-10223)
10. Ogunmoroti O., Osibogun O., McClelland R.L., Burke G.L., Nasir K., Michos E.D. Alcohol and ideal cardiovascular health: The multi\_Ethnic study of atherosclerosis. Clin Cardiol. 2019; 42(1):151-158.
11. Olano-Martin E. Pectin and pectic-oligosaccharides induce apoptosis in in vitro human colonic adenocarcinoma cells. Anticancer Res. 2003; 23:341–346.
12. Pectin. Drugs.com. [Інтернет]. Доступно з: <https://www.drugs.com/npp/> pectin.html.
13. [Perelman M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Perelman%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=24120713)., [Knight A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Knight%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=24120713). A. pharmacokinetic assessment of an alternate titration strategy for fentanyl pectin nasal spray. [Int J Clin Pharmacol Ther.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24120713) 2013;51(12):942-7. doi: 10.5414/CP201913.
14. Piano [M.R. Alcohol’s Effects on the Cardiovascular System](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Piano%20MR%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=28988575) . [Alcohol Res](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5513687/). 2017; 38(2): 219–241.
15. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R

Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. -2018. URL https://www.R-project.org/.

1. Qualls-Creekmore E., Tong M., Holmes G.M. Gastric emptying of enterally administered liquid meal in conscious rats and during sustained anesthesia. [Cell Mol Gastroenterol Hepatol](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5026190/). 2016; 2(4): 412–428. doi: [10.1016/j.jcmgh.2016.04. 003](https://dx.doi.org/10.1016%2Fj.jcmgh.2016.04.003)
2. [Rao K.P](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Rao%20KP%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15482652)., [Prabhashankar B](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Prabhashankar%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15482652)., [Kumar A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kumar%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15482652), [Khan A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Khan%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15482652)., [Biradar S.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Biradar%20SS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15482652)., [Srishail P](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Srishail%20SP%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15482652)., [Satyanath B](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Satyanath%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=15482652). [Formulation and roentgenographic studies of naproxen-pectin-based matrix tablets for colon drug delivery.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15482652) Yale J Biol Med. 2003;76(4-6):149-54.
3. Rashid M., Anjum S., Rasool G., Naseem N., Nagi A.H. Protective effects of ginger on alcohol induced steatotic liver of rats in Lahore Pakistan. Pak J Pathol. 2017; 28(2): 77-84.
4. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. Laboratory Animals. 1996; 30(4): P. 298-316. Part 2. Ibid. 1997;l(31):P. 1-32.

# Re‐evaluation of pectin (E 440i) and amidated pectin (E 440ii) as food additives. Інтернет:<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2017.4866>. First published: 06 July 2017.

1. [Rehm](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Rehm%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=30611304) J., [Hasan](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hasan%20OS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=30611304) OSM, [Black](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Black%20SE%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=30611304) S.E., [Shield](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Shield%20KD%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=30611304) K.D.,  [Schwarzinger](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Schwarzinger%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=30611304) M. Alcohol use and dementia: a systematic scoping review. [Alzheimers Res Ther](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6320619/). 2019; 11: 1.Published online 2019 Jan 5. doi: [10.1186/s13195-018-0453-0](https://dx.doi.org/10.1186%2Fs13195-018-0453-0)
2. Schrieks I.C., Heil A.L., Hendriks H.F., Mukamal K.J., Beulens J.W. The effect of alcohol consumption on insulin sensitivity and glycemic status: A systematic review and meta-analysis of intervention studies. Diabetes Care. 2015;38:723–732.
3. Seitz H.K., Stickel F. Molecular mechanisms of alcohol-mediated carcinogenesis. Nat Rev Cancer. 2007;7:599–612.
4. Setshedi M., Wands J.R., Monte S.M. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. Oxid Med Cell Longev. 2010;3:178–185.
5. Sheremeta L.M., Haynuk M.B. The influence of the apple pectin on some biochemical and hematological parameters of alcoholated animals. Medical and clinical chemistry. 2018; 20 (1): 21-25.
6. Silberman J.,  Taylor A. Activated Charcoal. [Інтернет]. Доступно з: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482294/#_article-17128_s2_>Last Update: November 22, 2018.

# Singal A.K., Bataller R., Ahn J., Kamath P.S., Shah V.H. **ACG Clinical Guideline: Alcoholic Liver Disease.** American Journal of Gastroenterology: [2018; 113(2):175–194](https://journals.lww.com/ajg/toc/2018/02000). doi: 10.1038/ajg.2017.469.

# [Soares G.A](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Soares%20GA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23044114)., [de Castro A.D](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=de%20Castro%20AD%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23044114)., [Cury B.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Cury%20BS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23044114)., [Evangelista R.C](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Evangelista%20RC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23044114). Blends of cross-linked high amylose starch/pectin loaded with diclofenac. [Carbohydr Polym.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23044114) 2013; 91(1):135-142. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.08.014. Epub 2012 Aug 10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23193971>

1. [Steiner](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Steiner%20JL%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=26426068) J.L., [Crowell](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Crowell%20KT%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=26426068) K.T., [Lang](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lang%20CH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=26426068) C.H. Impact of Alcohol on Glycemic Control and Insulin Action. [Biomolecules](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4693236/). 2015; 5(4): 2223–2246.  doi: [10.3390/biom5042223](https://dx.doi.org/10.3390%2Fbiom5042223).
2. Sundar Raj A.A., Rubila S., Jayabalan R., Ranganathan T.V. A Review on Pectin: Chemistry due to General Properties of Pectin and its Pharmaceutical Uses. Open Access Scientific Reports [Internet]. 2012;1:550 doi:10.4172/scientificreports.550.
3. Thompson W., Randon S.W. Alcoholism. Overview. [Internet]. Доступно з: www. http://emedicine.medscape.com/article/285913- Updated: Nov 14, 2016. Accessed September 26, 2017.
4. [Tian L](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tian%20L%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27174558)., [Scholte J](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Scholte%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27174558)., [Borewicz K](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Borewicz%20K%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27174558)., [van den Bogert B](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=van%20den%20Bogert%20B%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27174558)., [Smidt H](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Smidt%20H%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27174558)., [Scheurink A.J](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Scheurink%20AJ%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27174558). [Effects of pectin supplementation on the fermentation patterns of different structural carbohydrates in rats.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27174558) Mol Nutr Food Res. 2016;60(10):2256-2266. doi: 10.1002/mnfr.201600149. Epub 2016 Jun 8.
5. [Tsai S.W](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tsai%20SW%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23861585)., [Yu D.S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Yu%20DS%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23861585)., [Tsao S.W](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tsao%20SW%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23861585)., [Hsu F.Y](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hsu%20FY%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23861585). Hyaluronan-cisplatin conjugate nanoparticles embedded in Eudragit S100-coated pectin/alginate microbeads for colon drug delivery. [Int J Nanomedicine.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23861585) 2013;8:2399-407. doi: 10.2147/ IJN.S46613. Epub 2013 Jul 3. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23861585
6. Vonghia L., Leggio L., Ferrulli A., Bertini M., Gasbarrini G., Addolorato G. Acute alcohol intoxication: Review Article. [Internet] <https://www.ejinme.com/> article/S0953-6205(08)00074-5/pdf.
7. Vulevic J., Juric A., Walton G.E., Claus S.P., Tzortzis G., Toward R.E., et al. Influence of galacto-oligosaccharide mixture (B-GOS) on gut microbiota, immune parameters and metabonomics in elderly persons. Br J Nutr [Internet]. 2015;114(04):586–95. Available from: <http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0007114515001889>.

1. [Wang R.,](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418303492" \l "!) [Liang R.,Dai](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418303492" \l "!) T., [Chen J](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418303492#!).,  [Shuai X](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418303492#!).,  [Liu](https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418303492#!) C. Pectin-based adsorbents for heavy metal ions: A review. [Trends in Food Science & Technology](https://www.sciencedirect.com/science/journal/09242244), 2019;91:319-329. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.033>.

# Wikiera A., Irla M., Mika M. Health-promoting properties of pectin. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2014;68:590-596. 24864109.

1. [Wilson](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0005273674900108#!) F.A, [Dietschy](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0005273674900108#!) J.M. The intestinal unstirred layer: Its surface area and effect on active transport kinetics. [Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes](https://www.sciencedirect.com/science/journal/00052736).1974;[363(1](https://www.sciencedirect.com/science/journal/00052736/363/1)): 112-126. Інтернет. [https://doi.org/10.1016/ 0005-2736(74)90010-8](https://doi.org/10.1016/%200005-2736(74)90010-8).
2. [Zhang T](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X16307901#!).,  [Meng H.,](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X16307901#!) [Yu](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X16307901" \l "!) S. Ethanol precipitation of sugar beet pectins as affected by electrostatic interactions between counter ions and pectin chains. [Food Hydrocolloids](https://www.sciencedirect.com/science/journal/0268005X). 2017;[65](https://www.sciencedirect.com/science/journal/0268005X/65/supp/C):187-197. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.11.010>

**Додаток А**

**Список праць опублікованих за темою дисертації**

## Haynuk M., Sheremeta L. Тhe apple pectin influence upon the liver histological structure and the activity of lipid peroxidation in experimental acute alcohol intoxication. The Pharma Innovation Journal. 2019. Vol. 8(2). P. 590-593. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті).*

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Вплив яблучного пектину на біохімічні та гематологічні показники у тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією. Вісник Вінницького національного медичного університету. 2018. № 2(22). С. 280-284. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Haynuk M.B., Sheremeta L.M. The influence of the apple pectin on some biochemical and hematological parameters of alcoholated animals. Medical and clinical chemistry. 2018. Vol. 20 (1). P. 21-25. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Детоксикуючий ефект яблучного пектину за умов експериментальної гострої алкогольної інтоксикації. Медична та клінічна хімія. 2018. № 20 (2). С. 72-76. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М., Багрій М.М. Вплив пектину яблучного на гістоструктуру печінки щурів і активність ПОЛ за умов хронічної алкогольної інтоксикації. Фармакологія та лікарська токсикологія. 2018. № 2 (58). С. 86-91. *(Дисертантом виканані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка результатів, оформлення статті)*.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Застосування яблучного пектину при гострій алкогольній інтоксикації в експерименті. Хімія природніх сполук: матеріали ІV Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, 21-22 квітня 2016. Тернопіль. 2016. С. 110.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М., Гудивок Я.С. Вплив яблучного пектину на активність процесів ПОЛ та поведінкові реакції при експериментальній гострій алкогольній інтоксикації. Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи: матеріали УІІІ Національного з’їзду фармацевтів України, 13-16 вересня 2016 р. Харків. 2016. С. 129.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Фармакологічні ефекти яблучного пектину за умов гострої алкогольної інтоксикації в експерименті. Тези доповідей V Національного з’їзду фармакологівУкраїни, 18-20 жовтня 2017 р. Запоріжжя. 2017. С. 140-141.

## Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Вплив та можливі механізми дії яблучного пектину за умов гострої алкогольної інтоксикації в експерименті. Довкілля і здоров’я: матеріали Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю, 27-28 квітня 2018. Тернопіль. 2018. С. 57.

## Гайнюк М.Б. Яблучний пектин в якості детоксиканта за умов гострої і хронічної алкогольної інтоксикації. Інновації в медицині: Тези доповідей 88-ї науково-практичної конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю, 28-30 березня 2019. Івано-Франківськ. 2019. С. 83.

**Додаток Б**

**Апробація результатів дослідження**

Основні положення та результати дисертаційної роботи представлено та обговорено на науково-практичних форумах:

- VІІІ Національному з’їзді фармацевтів України «Фармація ХХІ століття: тенденції та перспективи» (Харків, 2016).

- V Національному з’їзді фармакологів України (Запоріжжя, 2017).

- ІV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природніх сполук» (Тернопіль, 2016);

- Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Довкілля і здоров’я» (Тернопіль, 2018).

- 88-й науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (Івано-Франківськ, 2019).

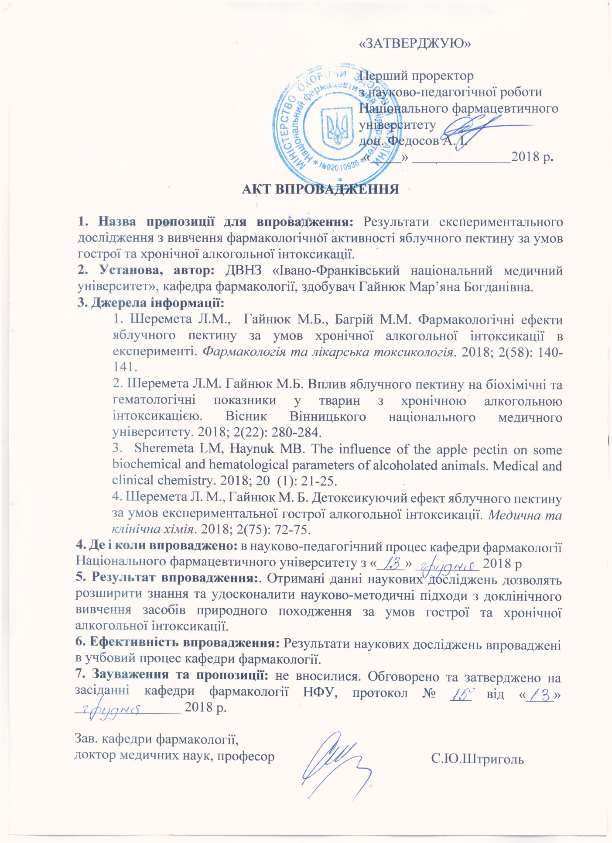
Публікації. Дисертантом опубліковано 10 наукових праць за темою дисертації, з них:

5 статей: 4 – у вітчизняних фахових виданнях, 1 – у закордонному виданні (рец. Index Copernicus) (Індія);

5 тез на з’їздах і науково-практичних конференціях.

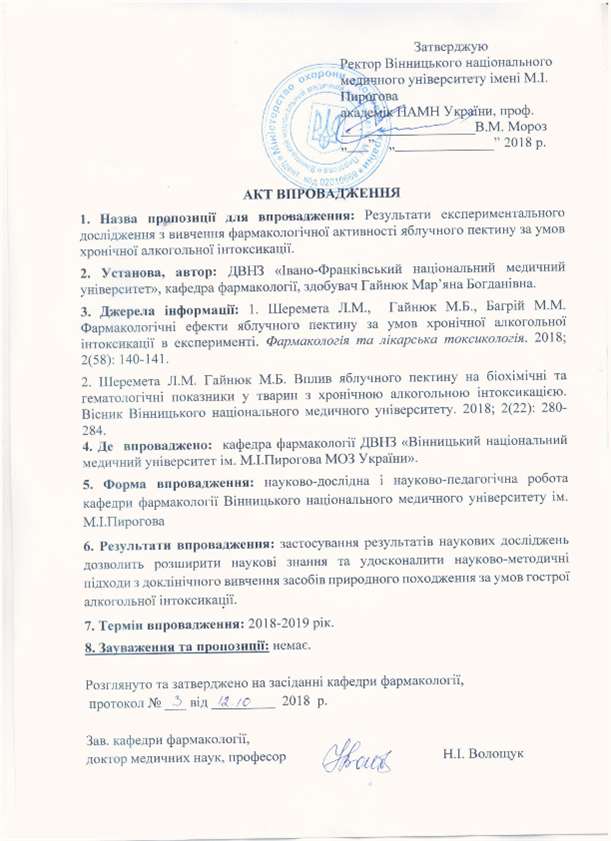
**Додаток В**

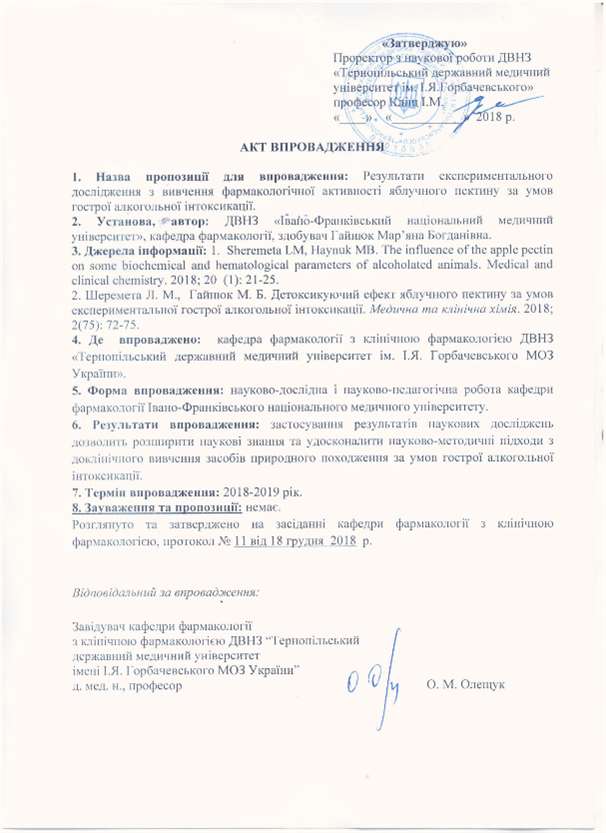
**Акти впровадження**



****

****

****

****

