НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНА УСТАНОВА

«ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»

**ГАЙНЮК МАР’ЯНА БОГДАНІВНА**

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

**ДЕТОКСИКУЮЧА ДІЯ ПОРОШКУ ЯБЛУЧНОГО ПЕКТИНУ ЗА УМОВ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**

**(експериментальне дослідження)**

14.03.05 – фармакологія

Автореферат

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

Київ – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Івано-Франківському національному медичному університеті, м. Івано-Франківськ.

**Науковий керівник:**

доктор медичних наук, професор **ШЕРЕМЕТА ЛІДІЯ МИКОЛАЇВНА,** завідувач кафедри фармакології Івано-Франківського національного медичного університету, м. Івано-Франківськ

**Офіційні опоненти:**

доктор біологічних наук, професор

**КОВАЛЕНКО ВАЛЕНТИНА МИКОЛАЇВНА,**

завідувач відділу токсикології

ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

доктор медичних наук, професор **ДЕРИМЕДВІДЬ ЛЮДМИЛА ВІТАЛІЇВНА,**

професор кафедри фармакології

Національний фармацевтичний університет МОЗ України, м. Харків.

Захист відбудеться « » 2020 р. об годині, на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», за адресою: 03057, м. Київ, вул. Антона Цедіка,14.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», за адресою: 03057, м. Київ, вул. Антона Цедіка,14.

Автореферат розісланий «­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­­ » 2020 року.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01,

кандидат біологічних наук І.В. Данова

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**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](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Tian%20L%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=27174558). 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](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Koriem%20KM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23193971). 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 – 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 яблучного пектину та препаратів порівняння, активованого вугілля та кремнію диоксиду, на рН за різних температурних режимів.

5. Сформулювати та науково обґрунтувати можливі механізми детоксикуючої дії ЯП 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 яблучного пектину.

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 яблучний пектин 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 ЯП 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.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ**

**Матеріали та методи дослідження.** Експериментальні дослідження виконані на 200 білих нелінійних щурах обох статей масою 180-220 г, яких утримували у віварії кафедри фармакології ІФНМУ на стандартному водно-харчовому раціоні при вільному доступі до води та їжі. Досліди проводили з урахуванням вимог належної лабораторної практики (GLP) згідно до Методичних рекомендацій ДП « МОЗ України (Стефанов О.В., 2001), відповідно до правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Counsil of Europe, Strasbourg, 1986. – 53p.] та вимог комісії з біоетики ІФНМУ (протокол   
№ 108/19 від 17.04.2019 р.).

Дози досліджуваного та препаратів порівняння запозичені з літературних джерел (протоколів надання медичної допомоги за гострої алкогольної інтоксикації) у перерахунку на масу тіла тварин за стандартною формулою [Стефанов О.В., 2001]. Використовували: яблучний пектин (ПП «Компанія Дана, Я», м. Київ, Україна); дозування 200 мг/100 г маси тіла; вугілля активоване (таблетки по 250 мг, ЗАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна); дозування   
250 мг/100 г маси тіла; кремнію диоксид («біле вугілля» таблетки по 210 мг, ТОВ «Омніфарма», Київ, Україна); дозування 50 мг/100 г маси тіла.

Усі використані у процесі проведення досліджень лікарські засоби та алкоголь вводили у шлунок.

Гостру алкогольну інтоксикацію відтворювали шляхом введення 30 % етанолу у шлунок за допомогою зонда з оливою із розрахунку 2 мл / 100г маси тіла через   
30 хв після годування протягом 3 діб. Дослідження проводили у два етапи – за лікувального та лікувально-профілактичного режиму введення.

На першому етапі порошок яблучного пектину та препарати порівняння застосовували у лікувальному режимі – через 30 хв. після введення етанолу. Визначали вітальні функції – частоту дихання та температуру тіла (ректально). Поведінкові реакції вивчали у тесті «відкрите поле». Евтаназію тварин здійснювали на 3 добу, через 6 годин після останнього введення токсиканта, внутрішньоочеревинною ін’єкцією розчину тіопенталу натрію з розрахунку 40 мг/кг маси тіла [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], після чого проводили забір крові та тканин печінки для досліджень.

Частині тварин даної групи (30) проводили дослідження вмісту алкоголю в крові методом ГРХ, яке проводили на газо-рідинному хроматографі «Купол» у лабораторії навчально-практичного центру «Фармація» ІФНМУ.

На другому етапі ЯП та препарати порівняння вводили в лікувально-профілактичному режимі - за 30 хв. перед і через 1 годину після введення алкоголю.

Порівняльне вивчення ефективності ЯП за повторного введення алкоголю теж проводили у 2 етапи.

Модель підгострої алкогольної інтоксикації відтворювали введенням 30 % етанолу у шлунок протягом 11 діб. Порошок ЯП і препарати порівняння ті ж, що і у попередніх експериментах, у аналогічних дозах вводили у шлунок через 30 хв. після введення розчину етанолу. Евтаназію тварин здійснювали на 12 добу експерименту.

За моделювання субхронічної алкогольної інтоксикації дослідним тваринам вводили етанол (30 %) у шлунок протягом 28 діб (через 30 хв. після годування) зондом з оливою, з розрахунку 2 мл/100 г маси тіла 1 раз на добу. Порошок ЯП і препарати порівняння застосовували у вказаних вище дозах через 30 хв. після введення етанолу. Як і у попередніх експериментах, визначали частоту дихання та температуру тіла і поведінкові реакції у тесті «відкрите поле». Виведення тварин з експерименту проводили під тіопенталовим наркозом на 28 добу експерименту.

Визначали вміст глюкози (за допомогою глюкометра One Touch), вміст гемоглобіну – за допомогою гемометра, кількість еритроцитів розраховували у камері Горяєва; активність біомаркерів алкоголю АсАт (за допомогою стандартних наборів реактивів фірми «Філісіт-Діагностика», Україна) і АлАТ методом Райтмана-Френкеля. Стан активності ПОЛ досліджували шляхом визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА) [И.Д. Стальная, 1977] та ДК [И.А. Волчегорский и соавт., 1989] у сироватці крові. Активність каталази (КТ) визначали за методом [М.А. Королюк и соавт., 1988]. Для встановлення вмісту холестеролу, ліпопротеїдів та триацилгліцеролів сироватки крові застосовували біотести фірми «Філісіт-Діагностика». Загальний білок визначали біуретовим методом (біуретовий реактив виробництва «Сімко», Львів). Визначення рівня середньомолекулярних пептидів (МСМ) - за скринінг-методикою Н.І. Габриеляна (1985). На всіх етапах експериментального дослідження проводили визначення приросту маси тіла та розраховували масовий коефіцієнт печінки за формулою [Стефанов О.В, 2001].

З метою з’ясування можливого механізму дії ЯП проведене in vitro 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, тонкої кишки - буфер гідрокарбонатний з рН 7,5, товстої кишки - буфер гідрокарбонатний з рН 8,5. Вимірювання проводили за температури 200 і 350 С. Співвідношення розчинів та дозування ЯП, АВ і КД у всіх пробах було однакове.

Також було проведене визначення значення заряду поверхні пектину відповідно до методики [T. Tatarchuk et al., 2019].

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

Статистичну обробку, отриманих в результаті експериментів даних, проводили за допомогою програмного середовища статистичних розрахунків R [R Core Team, 2018], 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 пакету stats із R). Ймовірність р≤0,05 вважали достатньою для висновку про статистичну достовірність різниці отриманих даних.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Першим етапом роботи було вивчення детоксикуючої активності порошку яблучного пектину за гострої алкогольної інтоксикації та лікувального одноразового режиму введення. Спостереження за окремими вітальними функціями тварин за гострої інтоксикації етанолом показало пригнічення дихання у щурів контрольної групи на 32 % порівняно з інтактними. За лікувального режиму введення ЯП частота дихальних рухів склала 84 % від норми, в той час як за умов застосування АВ та КД цей показник був на рівні 75 % та 79 %.

За здатністю нормалізувати температуру тіла щурів за отруєння етанолом ефективність виявив лише ЯП.

Алкогольне отруєння, у першу чергу, проявляється пригніченням функцій ЦНС та гепатотоксичністю. Вивчення поведінки алкоголізованих тварин у тесті «відкрите поле» виявило зменшення «горизонтальної» та «вертикальної» рухової активності у нелікованих щурів відповідно на 50 % та 46 % порівняно з інтактними тваринами. Якщо ЯП практично нормалізував зазначені показники, то введення АВ не справило коригуючої дії, а лікувальна ефективність КД склала відповідно 70 % та 63 % (р<0,05). Аналогічні дані отримані і стосовно дослідницької активності досліджуваних сорбентів.

Гостра інтоксикація алкоголем викликає зменшення кількості еритроцитів та зниження рівня гемоглобіну. Введення порошку ЯП сприяло нормалізації гематологічних показників. Так, кількість еритроцитів у тварин без лікування була на 18 % меншою порівняно з інтактними (р˂0,05). В той же час, у щурів, що отримували порошок 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.

Вміст гемоглобіну у лікованих ЯП щурів був наближений до норми. Одночасно було встановлено наявність достовірної відмінності від норми рівня гемоглобіну у нелікованих тварин та лікованих АВ та КД (р˂0,05), що свідчить про переваги сорбуючої дії ЯП у порівнянні із зазначеними сорбентами.

Оскільки відомо, що алкоголь індукує процеси ПОЛ і надмірну продукцію активних форм кисню, ми визначали вплив ЯП на стан ПОЛ, а саме, вміст МДА і ДК у сироватці крові тварин за введення етанолу та при використанні лікарських засобів сорбуючої дії (табл. 1). Встановлено достовірне зростання на 72 % вмісту МДА у крові контрольних тварин порівняно інтактними (р˂0,05). За умов застосування ЯП вміст МДА був на рівні 2,7 ± 0,13 ммоль/л (р˂0,05), що на 21 % вище, ніж у інтактних щурів, але достовірно нижче порівняно з контролем. Використання препаратів порівняння також сприяло вірогідному зниженню активності процесів вільнорадикального окислення (ВРО) порівняно з нелікованими тваринами (р˂0,05), хоча й не сягало рівня інтактних щурів (р˂0,05).

Вміст ДК у крові щурів істотно зростав за гострого отруєння етанолом і у тварин контрольної групи становив 4,21 ± 0,13 ммоль/л, що на 20 % вище за такий у інтактних щурів (р˂0,05). За введення дослідним тваринам ЯП вміст ДК практично залишався в нормі. Застосування КД також сприяло певній нормалізації вмісту ДК, хоча він і не сягав рівня інтактних тварин (р˂0,05). АВ виявився неефективним щодо корекції вмісту ДК в крові щурів за умов гострого отруєння етиловим спиртом.

Дослідження впливу гострого отруєння етиловим спиртом на специфічні маркери алкогольної інтоксикації – АсАТ та АлАТ – в експерименті на щурах показало збільшення активності даних ферментів у сироватці крові відповідно на 36% та 50 % (табл. 1). Аналізуючи вплив застосування досліджуваного препарату та препаратів порівняння на зазначені показники, встановлено, що найвища детоксикуюча та гепатопротекторна ефективність за експериментального гострого отруєння етанолом притаманна ЯП, в той час як за введення АВ та КД за гострої алкогольної інтоксикації щурів активність амінотрансфераз у сироватці крові практично залишалась на рівні нелікованих тварин (табл.1)

*Таблиця 1*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Експериментальні групи | МДА, ммоль/л | ДК, ммоль/л | АсАТ, мккат/л | АлАТ, мккат/л |
| Інтактні | 2,22 ±0,06 | 3,51±0,18 | 2,6±0,1 | 2,9±0,08 |
| Етанол+ЯП | 2,7 ±0,131,3 | 3,74±0,14 | 2,9±0,092 | 3,21±0,051,2 |
| Етанол, контроль | 3,82 ±0,131 | 4,21±0,131 | 3,53±0,081,3 | 4,34±0,051,3 |
| Етанол+АВ | 3,02 ±0,081,3 | 4,1±0,071,3 | 3,19±0,061,2,3 | 3,85±0,061,2,3 |
| Етанол+КД | 2,98 ±0,081,3 | 3,95±0,081 | 3,14±0,061,2 | 3,32±0,081,2 |

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

Вплив яблучного пектину та препаратів порівняння на ПОЛ та активність амінотрансфераз у сироватці крові тварин за гострої алкогольної інтоксикації за лікувального режиму введення (М ± m, n = 6)

Виявлене нами зниження вмісту глюкози в сироватці крові щурів за гострого алкогольного отруєння на 40 % цілком узгоджується з даними літератури про пригнічення алкоголем вуглеводневого обміну, порушення гліколізу і глюконеогенезу в печінці [Барышникова H.В., 2014]. Застосування ЯП за гострої алкогольної інтоксикації спричиняло позитивний вплив на вуглеводневий обмін: вміст глюкози у сироватці крові був на рівні інтактних тварин. Застосування препаратів порівняння – АВ та КД - за умов даного експерименту сприяло збільшенню рівня глюкози на відповідно на 37 % та 45 % порівняно з контролем, проте її вміст у сироватці крові був достовірно нижчим відносно даного показника у тварин інтактної групи.

Гостра інтоксикація етанолом супроводжувалась підвищенням рівня холестеролу у сироватці крові щурів на 23 % порівняно з інтактними тваринами (р˂0,05) і дорівнював 3,71 ± 0,09 ммоль/л. Застосування ЯП за гострої алкогольної інтоксикації спричиняло позитивний вплив на ліпідний обмін в організмі і сприяло нормалізації вказаного показника до рівня інтактних тварин. Якщо КД коригуючи вміст холестеролу в крові практично не поступався ЯП, то ефективність АВ була достовірно нижчою (˜ 11 %) за даний показник у інтактних щурів та тварин, у яких застосовували ЯП.

На даному етапі експерименту також було проведене визначення вмісту алкоголю у крові тварин методом газо-рідинної хроматографії (табл. 2). Алкоголь визначався у всіх тварин контрольної групи і його концентрація становила   
1,93 ± 0,16 ‰. Введення порошку ЯП суттєво зменшувало всмоктування алкоголю – алкоголь був виявлений у 33 % тварин даної групи, а його концентрація дорівнювала 0,07±0,03 ‰ (p˂0,05; табл. 2). Найменший вплив на абсорбцію етанолу виявлено для АВ, що підтверджено наявністю алкоголю у 67 % тварин цієї групи та доволі високою концентрацією етанолу – 0,43±0,18 ‰.

*Таблиця 2*

Визначення вмісту алкоголю в крові тварин з гострою алкогольною інтоксикацією та при введенні яблучного пектину і препаратів порівняння, (М±m).

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Дослідні групи | Вміст алкоголю,  ‰ | К-сть тварин, у яких відсутній алкоголь у крові (абс.число, %) |
| Етанол,  Контроль (n=8) | 1,93±0,16\*\* | - |
| Етанол + ЯП (n=9) | 0,07±0,03\* | 6 (67 %) |
| Етанол + АВ (n=9) | 0,43±0,18\* \*\* | 3 (33 %) |
| Етанол + КД(n=9) | 0,34±0,12\* \*\* | 4 (50 %) |

Примітки: \*- p˂0,05 порівняно з контрольною групою; \*\* - порівняно з лікованими ЯП.

На другому етапі експерименту порошок ЯП та препарати порівняння вводили у лікувально-профілактичному режимі. Отримані результати засвідчили ефективність дворазового введення порошку ЯП до та після введення алкоголю. Як показують результати гематологічного дослідження, кількість еритроцитів та вміст гемоглобіну були достовірно меншими у тварин усіх дослідних груп, що отримували алкоголь, порівняно з інтактними: у контрольних тварин та щурів, що отримували ЯП, КД і АВ кількість еритроцитів зменшилась відповідно на 19 %, 6%, 8 % та 10 % (р˂0,05). Аналогічні зміни спостерігались і стосовно вмісту гемоглобіну у сироватці крові щурів відповідних груп.

Вплив порошку ЯП на вуглеводневий та ліпідний обмін за дворазового введення був аналогічним до такого за одноразового введення: рівень глюкози у тварин, лікованих ЯП, дорівнював 6,91 ± 0,16 ммоль/л і серед досліджених сорбентів був найбільш наближеним до цього показника у інтактних щурів.

Вміст холестеролу у сироватці крові тварин із гострою алкогольною інтоксикацією збільшився на 20 % (р˂0,05) порівняно з інтактними і був достовірно вищим порівняно з його вмістом у тварин, що отримували лікарські засоби у лікувально-профілактичному режимі. Слід відзначити той факт, що серед тварин, що отримували сорбенти, лише за використання КД мало місце збільшення рівня холестеролу (р˂0,05) порівняно з інтактними, контрольними та лікованими ЯП щурами.

Визначення активності біомаркерів алкоголю та цитолізу виявило практично рівнозначну нормалізуючу дію ЯП та КД (табл. 3), переважаючи ефективність АВ (р˂0,05; табл. 3).

*Таблиця 3*

Активність амінотрансфераз і показники ПОЛ у сироватці крові щурів за гострої інтоксикації етанолом та введення лікарських засобів у лікувально-профілактичному режимі, (М ± m, n = 7)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Дослідні групи | АсАТ, мккат/л | АлАТ, мккат/л | МДА,  мкмоль/л | ДК,  мкмоль/л | Каталаза, мкмоль/хв. в 1 мг білку |
| Інтактні | 0,99 ± 0,06 | 2,9 ± 0,14 | 2,01±0,12 | 3,44±0,06 | 2,41 ±0,12 |
| Етанол, контроль | 2,57 ± 0,21 | 4,34 ± 0,191 | 4,11±0,151 | 4,58±0,081 | 3,92 ±0,111 |
| Етанол+ЯП | 1,67 ± 0,1 1,2 | 3,21 ± 0,21 1,2 | 2,77±0,121,2 | 3,50±0,052 | 2,97 ±0,081,2 |
| Етанол+АВ | 2,07 ± 0,06 1,2,3 | 3,85 ± 0,14 1,3 | 2,91±0,121,2 | 3,67±0,111,2 | 3,18 ±0,071,2 |
| Етанол+КД | 2,02 ± 0,09 1,2 | 3,32 ± 0,12 1,2 | 2,74±0,11,2 | 3,73±0,111,2 | 3,08 ±0,141,2 |

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 яблучним пектином.

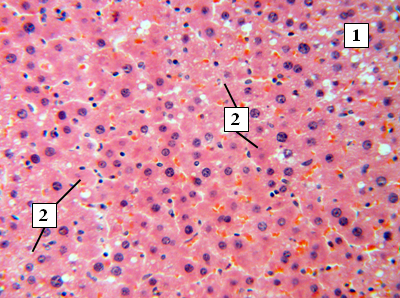
Таким чином, експериментально доведено позитивний вплив на активність біомаркерів алкоголю ЯП, що не поступається КД і є достовірно більшим за дію АВ.

Введення алкоголю тваринам контрольної групи викликало активацію процесів ПОЛ порівняно з інтактними щурами (р˂0,05). Так, вміст МДА зріс у два рази і становив 4,11 мкмоль/л, що підтверджує збільшення ВРО за впливу алкоголю та його метаболітів. Лікувально-профілактичне застосування ЯП за даних умов експерименту сприяло зниженню МДА на 33 % (2,77 ± 0,12 мкмоль/л).

Згідно до результатів цих досліджень можемо стверджувати, що за лікувально-профілактичного дворазового введення сорбційна здатність ЯП та препаратів порівняння сприяє зменшенню активації процесів ПОЛ і пригніченню розвитку оксидаційного стресу, викликаного алкоголем та його метаболітами.

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.

Морфологічні дослідження показали, що застосування ЯП за гострої алкогольної інтоксикації супроводжувалось регресією дегенеративних змін гепатоцитів та помітним відновленням трабекулярної будови печінки. Отримані результати свідчать про відновлення репаративних процесів та детоксикуючої функції печінки під впливом ЯП (рис. 4).



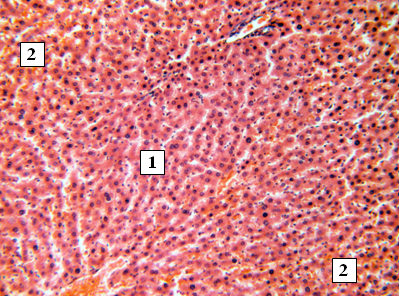


Рис. 1. Гостра алкогольна інтоксикація. Зональна жирова дистрофія гепатоцитів із вакуолями різного калібру (1). Фокальні уніцелюлярні некрози печінкових клітин (2).

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

Рис. 2. Гостра інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Відновлення

трабекулярної будови органу (1). Гіперемія синусоїдних гемокапілярів (2).

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

Вивчення ефективності порошку ЯП за повторного введення проводили на моделі підгострої (протягом 11 діб) та субхронічної (протягом 28 діб) алкогольної інтоксикації.

За отруєння етиловим спиртом внаслідок повторного уведення протягом 11 днів 1 із 6 щурів загинув. Випадків загибелі у групах, тваринам яких уводили досліджуваний сорбент та препарати порівняння не зафіксовано. Крім того в результаті спостережень встановлено, що підгостра інтоксикація етанолом суттєво впливала на загальний стан тварин, зменшувався приріст маси тіла   
(-2,4±1,75 г; р˂0,05), збільшувався масовий коефіцієнт печінки порівняно з інтактними щурами. Застосування ЯП та препаратів порівняння сприяло збереженню маси тіла тварин на рівні інтактних щурів, а також в залежності від застосованого сорбенту різного ступеня зменшення масового коефіцієнту печінки. Найбільшу ефективність показав ЯП (р˂0,05).

Спостереження за дослідними щурами показало також зміни вітальних функцій таких, як частота дихання та температура тіла. Встановлено, що введення етанолу викликало зменшення частоти дихальних рухів на 35 % та зниження температури тіла на 10 % порівняно з інтактними тваринами. У групах тварин, яким уводили досліджуваний сорбент та препарати порівняння, незначне зниження температури тіла в середньому на 7 % реєстрували лише при застосуванні АВ.

Кількість еритроцитів та вміст гемоглобіну у тварин, лікованих ЯП, хоч і вірогідно відрізнялась від показника інтактних щурів (р˂0,05), водночас, була суттєво більшою за аналогічні дані не лише контрольних, але й лікованих препаратами порівняння тварин (р˂0,05). Отримані результати засвідчують позитивний детоксикуючий вплив ЯП, ймовірно, завдяки зменшенню всмоктування токсиканта.

Дослідження активності АсАТ і АлАТ також продемонструвало виразний нормалізуючий вплив ЯП (табл. 4).

*Таблиця 4*

Вплив яблучного пектину та препаратів порівняння на активність біомаркерів алкоголю та вміст загального білку у сироватці крові тварин за умов підгострої алкогольної інтоксикації (М ± m, n = 6)

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Групи тварин | АсАТ,  мккат/л | АлАТ,  мккат/л | Заг.білок,  г/л | МСМ,  у.о. |
| 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.

У всіх групах лікованих тварин активність АсАТ і АлАТ, хоч і була дещо вищою порівняно з інтактними (р˂0,05), водночас, більшою мірою наближалась до норми, ніж для нелікованих щурів (р˂0,05). За даних умов експерименту ЯП проявив найвищу (р˂0,05) серед досліджених сорбентів здатність нормалізувати активність амінотрансфераз – показників отруєння алкоголем та його гепапатотоксичної дії (табл. 4).

Встановлено, що введення алкоголю тваринам протягом 11 діб суттєво впливало на білковий обмін у печінці. Так, за отруєння етиловим спиртом показано зменшення вмісту білку у сироватці крові щурів нелікованих тварин (р˂0,05). Водночас слід відзначити практично рівнозначні дані у групах лікованих тварин, що не відрізнялись від інтактних.

Накопичення МСМ є ще одним із маркерів інтоксикації і спостерігається за різних патологічних станів та алкоголізму. Значне зростання рівня МСМ вважають основним показником, що відображає ступінь порушення 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; табл. 5) внаслідок пригнічення білковосинтезуючої функції печінки. Нами показано, що ЯП і препарати порівняння мали практично рівнозначний вплив на синтез білку у алкоголізованих щурів: у всіх тварин, яким після введення токсичних доз алкоголю вводили зазначені сорбенти, вміст загального білку був достовірно вищим за такий у групі контролю, і наближеним до норми.

Встановлено, що у сироватці крові контрольних тварин рівень маркерів ліпідного метаболізму, а саме - загальних ліпідів, холестеролу та триацилгліцеролів був вірогідно вищим за показники норми (табл. 5).

*Таблиця 5*

Вміст загальних ліпідів, холестеролу та триацилгліцеролів у сироватці крові тварин за введення розчину етанолу та застосування яблучного пектину і препаратів порівняння (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 яблучним пектином.

Введення тваринам алкоголю протягом 11 днів викликало збільшення вмісту загальних ліпідів у сироватці крові контрольних щурів на 37 %, за введення АВ на 12 % та КД на 13 %. (р˂0,05). За умов застосування ЯП даний показник був наближеним до норми і достовірно нижчим від такого у контролі (р˂0,05).

Також показано, що за підгострого отруєння етанолом уведення щурам ЯП вміст триацилгліцеролів у сироватці крові був найменшим (р˂0,05; табл.5), ніж у тварин інших дослідних груп відповідно на 59 %, 31 % 38 % порівняно з контролем, прийомом АВ та КД.

Вміст холестеролу у групі щурів із застосуванням ЯП практично не відрізнявся від норми, і, водночас, був вищим у контрольних тварин та лікованих АВ (р˂0,05). Щодо впливу на цей показник досліджуваного засобу та еталонних сорбентів, то слід відзначити достовірно більшу ефективність ЯП, ніж АВ та КД (р˂0,05; табл.5). Введення ЯП сприяло нормалізації ліпідного обміну, що проявлялось збереженням найменшого зростанням вмісту холестеролу, загальних ліпідів та триацилгліцеролів порівняно як з контрольними тваринами, так і з лікованими референс-препаратами.

Доведено, що за умов повторного уведення щурам етилового спирту у токсичних дозах протягом 11 днів застосування порошку ЯП сприяє нормалізації метаболічних процесів в організмі, зменшенню рівня ПОЛ, біохімічних і морфологічних порушень печінки та, в цілому, проявів токсичності алкоголю і його реактивних метаболітів.

Моделювання субхронічної алкогольної інтоксикації шляхом уведення алкоголю протягом 28 днів супроводжувалось змінами, що, порівняно з вище описаною моделлю отруєння етиловим спиртом, мають дещо інший характер і глибину пошкоджень. За умов субхронічної алкогольної інтоксикації відзначали суттєве зменшення приросту маси тіла тварин контрольної групи та щурів, що отримували лікування (р˂0,05). Зростання масового коефіцієнту печінки було достовірно більшим у контролі, ніж у інтактних тварин і за введення ЯП, АВ і КД (р˂0,05), де цей показник залишився в межах видової норми. 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 частоти дихання тварин порівняно з контролем. Так, за введення етанолу у тварин контрольної групи реєстрували зниження температури тіла на 10-11 % відносно норми. У тварин дослідних груп за використання фармакологічної корекції зменшення температури тіла не мало статистично достовірної значимості. У щурів усіх груп за алкогольного отруєння спостерігали пригнічення дихання, яке найбільш вираженим було у контролі та лікованих АВ на 1, 3 та 28 добу. Зміни рухової активності спостерігали як у контролі, так і за використання АВ (зменшення «горизонтальної активності» за показником кількості пересічених квадратів) на 1, 3 та 28 добу експерименту порівняно з інтактними та тваринами, котрим вводили ЯП. Введення КД достовірно покращувало цей показник порівняно з контролем (р˂0,05), але він був нижчим порівняно з інтактними щурами (р˂0,05).

За субхронічної інтоксикації алкоголем застосування ЯП сприяло зменшенню активності АсАТ і АлАТ: порівняно з контролем та показником у тварин, яким на тлі алкогольного отруєння вводили препарати порівняння, АВ та КД, активність АсАТ була відповідно на 42 %, 18 % та 11 % була нижчою (р˂0,05); за введення ЯП активність АлАТ була на 21 % меншою, ніж у контрольних щурів та тварин, яким уводили АВ (р˂0,05), а КД не поступався ЯП. Отримані дані засвідчують ефективність застосування ЯП і вказують на значну його перевагу над препаратами порівняння.

Вміст біомаркера алкогольного отруєння за хронічного вживання алкоголю – МСМ - що показує ступінь інтоксикації та порушення білкового обміну, теж зазнав істотних змін за субхронічної інтоксикації етанолом протягом 28 днів. Найбільше зростання даного показника відзначене у щурів контрольної групи, де він виявився більшим у 2,8 рази, ніж у інтактних тварин і становив 0,51±0,03 у.о. Статистично значиме збільшення вмісту МСМ визначене також у групах тварин за фармакологічної корекції АВ (117 %), КД (56 %), ЯП (11 %) (р˂0,05). Даний тест підтвердив найбільший нормалізуючий вплив ЯП порівняно з іншими препаратами, що використані в якості препаратів порівняння.

Таким чином, ЯП проявляв лікувальний ефект за умов субхронічної алкогольної інтоксикації, який значно переважав АВ та за рядом показників і КД.

Аналізуючи стан ПОЛ за даної моделі алкогольного отруєння, встановлено порівняно з інтактними щурами збільшення вмісту ДК в сироватці крові контрольних тварин та за умов застосування ЯП, АВ та КД на 66 %, 16 %, 28 % та 29 % відповідно. Вміст МДА за призначення ЯП був на рівні інтактних тварин, переважаючи даний показник за умов застосування ЯП і КД на 14 % та 9 % (р˂0,05). Отримані дані свідчать про антиоксидантні властивості ЯП, що має підтвердження у літературних джерелах. Застосування ЯП і препаратів порівняння призводило до нормалізації активності КТ, практично, до рівня даного показника у інтактних тварин.

На основі проведених морфологічних досліджень тканин печінки за субхронічної 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 (рис. 3, 4).

Оскільки алкоголь всмоктується у шлунку та тонкій кишці, було досліджено вплив ЯП на рН середовища, що імітувало просвіт шлунку (натще рН=1), тонкої (рН=7,5) та товстої кишки (рН= 8,5). 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 ЯП на відміну від препаратів порівняння дещо посилює моторику кишечника та має незначну послаблюючу дію. Отримані дані (табл. 6) показали, що при температурі 20о С змішування ЯП з алкоголем викликає збільшення рН до 4,3, а при введенні до цієї суміші дистильованої води спостерігали зниження рН до 3,6, що може бути пояснене змінами фізико-хімічних властивостей ЯП і збільшенням кількості активних розчинених залишків галактуронової кислоти. Додавання до суміші хлороводневої кислоти з етиловим спиртом АВ змінювало реакцію до рН 4,2, а за введення до суміші КД – до рН 4,4.

Суміш ЯП з хлороводневою кислотою та алкоголем викликала значний зсув рН у кислу сторону: реакція змінилась з 5,5 до 2,17, тобто - майже вдвічі порівняно з препаратами порівняння. Імовірно, саме завдяки адсорбції відбувається зсув реакції в кислий бік, зменшується концентрація і наступний токсичний вплив алкоголю на організм.

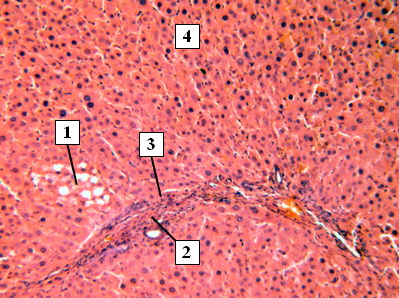


Рис. 3. Субхронічна інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Зональна жирова дистрофія гепатоцитів у перипортальній зоні (1). Склероз у портальному полі (2) з поодинокими макрофагами та лімфоцитами (3). 4 − гепатоцити без ознак жировоїдистрофії у проміжній зоні часточок.

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

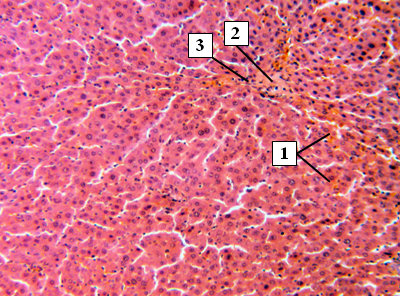


Рис. 4. Субхронічна інтоксикація етанолом із застосуванням ЯП. Синусоїдні гемокапіляри здебільшого заповнені кров’ю (1). Незначно виражений склероз портального тракту (2) з поодинокими макрофагами та лімфоцитами (3).

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

Змішування ЯП з дистильованою водою вказує на рівень кислотності ЯП, яка при температурі 200 С дорівнює рН 3,7 та дещо знижується до рН 3,4 при температурі 350 С, що узгоджується з даними літератури [Баранова И.И., Запорожская С.Н., 2008; Запотоцька О.В., 2013]. Поєднання ЯП з хлороводневою кислотою викликає цілком зрозуміле збільшення кислотності до рН 2,0 за обох температурних режимів.

Суміш ЯП з алкоголем мала зростання показника рН до 4,3, а при введенні до цієї суміші дистильованої води спостерігали зниження рН 3,6 при температурі 200 Ста рН 3,2 при 350С, що може бути пояснене змінами фізико-хімічних властивостей ЯП і збільшенням активних розчинених залишків галактуронової кислоти. Додавання до суміші хлороводневої кислоти з алкоголем препарату порівняння АВ змінювало реакцію до рН 4,2, а за введення до суміші КД – до рН 4,4. Ці показники не змінювались за збільшення температури досліджуваних зразків. Суміш ЯП з хлороводневою кислотою та алкоголем викликала значний зсув рН у кислий бік: змінилась лужна реакцію алкоголю з рН 5,5 до рН 2,17 при 200С і рН 2,0 при 350С, 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, важливо визначити вплив ЯП на рН у тонкій і товстій кишках. З метою імітації середовища тонкої кишки використали гідрокарбонатний буфер з рН 7,5. Встановлено, що при попаданні суміші ЯП з водою та хлороводневою кислотою до середовища, що імітує вміст тонкої кишки з рН 7,5 за 200 С, відбувався суттєвий зсув реакції у лужний бік, хоча реакція все ж була слабокислою і залишалась такою за введення алкоголю (табл. 7). За поєднання водного розчину ЯП з буфером з   
рН 7,5 також мала місце кисла реакція (рН 6,8) за температури 200 С. Додавання алкоголю цей показник не змінило. Водночас, збільшення температури суміші до 350 С викликало істотній зсув рН в кислий бік, як із додаванням НС1, так і без неї: рН 4,26 і рН 4,69 відповідно.

*Таблиця 6*

Показники рН води, 40 % розчину етанолу, 0,1 н розчину HCl та їх сумішей з яблучним пектином і препаратами порівняння.

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Речовини та їх суміші | pH, 200 С | pH, 350 С |
| Вода дистильована | 5,8 | 5,8 |
| Етанол, 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 + етанол | 3,6 | 3,2 |
| ЯП + етанол | 4,3 | 4,1 |
| ЯП +0,1 н розчин HCl+ етанол | 2,17 | 2,0 |
| АВ + 0,1 н розчин HCl+ етанол | 4,2 | 4,2 |
| КД + 0,1 н розчин HCl+ етанол | 4,4 | 4,5 |

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

У суміші, що містила буферний розчин, водний розчин ЯП, 0,1 н розчин HCl і 40 % алкоголь, ми отримали найбільш кислу реакцію за обох температурних режимів (табл. 7).

Імовірно, різкий зсув рН у кислий бік 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.

Можна припустити, що завдяки абсорбції ЯП алкоголю відбувається зсув реакції у кислий бік, зменшується концентрація, абсорбція і наступний токсичний вплив алкоголю. Щоб підтвердити ці припущення, було визначено точку 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 можна стверджувати, 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 кислий бік і у тонкій кишці, де всмоктується до 70 % алкоголю, рН ˃3,69, то, імовірно, саме тому його детоксикуюча дія є більш вираженою у порівнянні з АВ і, за рядом параметрів – КД.

*Таблиця 7*

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 + пектин + 0,1 н розчин HCl | 6,64 | 4,26 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + пектин | 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 + етанол | 6,0 | 4,35 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + пектин + етанол | 6,8 | 4,73 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + АВ + етанол | 7,6 | 9,94 |
| Буферний розчин рН 7,5 + Вода + КД + етанол | 7,6 | 7,03 |

Оскільки, для ЯП гостра токсичність не визначена, а доза, яка не викликає будь-яких токсичних ефектів становить 2500 мг/кг маси тіла [**WHO Food Additives, 1974**], то він належить до IV класу низько токсичних речовин. Згідно до численних літературних даних, дозування пектину за умов лікування отруєнь солями металів або радіоактивними ізотопами складає 15-20 г на день. Враховуючи те, що дозування ЯП у наших дослідженнях було 0,2 г/100 г маси тіла щура, розраховано дозу для людини за формулою [О.В. Стефанов, 2001] і вона становить 22 г/на день для лікувального та лікувально-профілактичного режиму введення. 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;

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.

Таким чином, отримані дані дозволяють вважати порошок ЯП перспективним детоксикуючим засобом за гострої та субхронічної алкогольної інтоксикації при лікувально-профілактичному та лікувальному режимах введення та рекомендувати його для подальшого клінічного вивчення з метою впровадження у практичну медицину.

**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 ЯП, 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 КД 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 ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. 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).*
2. 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)*.
3. 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)*.
4. 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)*.
5. 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)*.
6. 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.
7. 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.
8. Гайнюк М.Б., Шеремета Л.М. Фармакологічні ефекти яблучного пектину за умов гострої алкогольної інтоксикації в експерименті. Тези доповідей V Національного з’їзду фармакологів України, 18-20 жовтня 2017 р. Запоріжжя. 2017. С. 140-141.
9. 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.
10. 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.

**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. – ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, 2020.

Робота присвячена дослідженню детоксикуючої активності порошку ЯП за умов експериментальної гострої та субхронічної інтоксикації алкоголем, з’ясуванню та обґрунтуванню можливого механізму дії in vivo та in vitro за умов отруєння етанолом.

Встановлено, що досліджуваний засіб зменшує активність біомаркерів алкоголю, нормалізує інтегральні показники життєво важливих функцій та поведінкові реакції, гематологічні показники, відновлює метаболізм вуглеводів та ліпідів, пригнічує активність процесів ПОЛ, обмежує всмоктування алкоголю і знижує його концентрацію в крові та сприяє відновленню морфологічної структури печінки.

Детоксикуюча активність порошку ЯП проявляється при лікувальному та лікувально-профілактичному введенні.

Доведена значна детоксикуюча дія порошку ЯП за умов гострої та субхронічної алкогольної інтоксикації, яка за ступенем вираженості переважає властивості еталонного сорбента АВ, і реалізується за рахунок адсорбції алкоголю і утворенню гелевого прошарку між вмістом та стінкою шлунка і кишки та підвищенням кислотності, що нейтралізує лужну реакцію алкоголю.

*Ключові слова*: ЯП, гостра і субхронічна 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». – State Enterprise «Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, 2020.

In the dissertation the pharmacological study of the activity of apple pectin powder as a detoxifier for acute and subchronic alcohol intoxication was performed for the first time and an average effective dose was determined experimentally, the expediency of its application was substantiated.

It was shown that the use of apple pectin in dose 0.2 g / 100 g of body weight in acute alcohol intoxication and the curative mode of administration (after alcohol introduction) contributed to the normalization of carbohydrate metabolism, maintaining the level of glucose in the blood at almost normal levels, reduced the activity of alcohol markers АlАТ, АsАТ and molecules of average mass, caused significant inhibition of lipid peroxidation and reduction of its final products in blood serum and restored catalase activity. Investigated, that apple pectin significantly reduced the bioavailability of alcohol by adsorption, that was proved by the gas-liquid chromatography method. Therapeutic and prophylactic introduction - before and after the use of alcohol - also significantly reduced the level of transaminases and lipid peroxidation products and contributed to the restoration of the antioxidant defense system enzyme catalase activity activity. Positive effect of apple pectin application in the curative regimen was noted also in the study of hematological parameters, as well as the glucose and cholesterol metabolism, indicating a sufficient sorption capacity of pectin, especially compared to the reference preparation of activated charcoal. Morphological studies of liver tissues after acute alcohol intoxication and curative regimen of introduction proved that apple pectin contributed to the regression of degenerative changes in hepatocytes and restoration of the trabecular structure of the liver, at first, due to decreasing lipid vacuoles accumulation in the cells cytoplasm, which was shown by a decrease in the degree of accumulation of lipids. In subchronic intoxication (the introduction of alcohol for 11 days) attention was paid to the change in lipid metabolism. It was first investigated that the content of cholesterol in apple pectin introduction in such a model of poisoning was on 35 % less than in control, on 14 % less than in the activated charcoal introduction and practically equivalent to silicon dioxide. The content of triacylglycerols increased in all groups of animals compared to intact ones (р˂0,05), but in the introduction of apple pectin, this indicator was significantly lower (р˂0,05), than in groups, where referent drugs were used, namely: 31 % compared to activated charcoal and 38 % compared to silicon dioxide, indicating a pronounced hypolipidemic effect of apple pectin.

Subchronic intoxication with ethanol also indicated a decrease in the activity of cytolysis and alcohol markers AsAT and AlAT for the introduction of apple pectin to experimental animals: AlAT by 11 % against treated activated charcoal and by 25 % compared to silicon dioxide; AsAT - 8 % against the control and practically equivalent to reference drugs.

The effect of apple pectin on subchronic alcoholic intoxication for 28 days has been studied. It was shown that in the treatment regimen, the introduction of the apple pectin significantly reduces the activity of alcohol biomarkers: AsAT - 42 % compared to the control, 18 % compared to the introduction of activated charcoal and 11 % against the use of silicon dioxide (р˂0,05). The activity of AlAT decreased by 21 % compared to control, 23 % compared to activated charcoal treated and was equivalent to that of the group where silicon dioxide was used.

The study of the influence of apple pectin on the activity of the processes of lipid peroxidation and antioxidant defense enzyme catalase showed a significant decrease in the content of diene conjugate and malone dialdehyde in the blood serum of animals when apple pectin were used. The activity of catalase was close to normal in all groups using medications.

So, based on the results, it can be argued that apple pectin in chronic alcohol intoxication significantly more intensive than activated carbon and silicon dioxide inhibited lipid peroxidation, the development of oxidative stress, performed an antioxidant effect, thereby causing a positive therapeutic, detoxifying effect.

The effect of apple pectin on the pH level was first investigated *in vitro* in two temperature modes – 20 and 35 degrees centigrade to find out the mechanisms of its action. Experimentally proved that apple pectin in a mixture with water, 0,1 n HCl solution and 40 % alcohol caused a decrease of рh to 3,6, that may be explained by changes in the physical and chemical properties of apple pectin and by the increase in the number of active dissociated residues of galacturonic acid.

Probably the acidic reaction of apple pectin is one way of binding alcohol and reducing its absorption.

To explain the results of physical and chemical research, a zero charge point for pectin was made.

The zero charge of apple pectin on the pH scale is 3.75. As a result of the research carried out at pH above 3.69 pectin adsorbs cations of metals or organic substances. The result obtained confirms the ability of apple pectin to bind (adsorb) alcohol([C2H5O-]H)+.

Experimentally proved the efficiency of apple pectin in a dose of 0.2 g / 100 g of rat body weight. In the calculation of the standard formula, it is 22 g for a person for the therapeutic and prophylactic regimens of administration.

In this work, the detoxifying mechanism of action of apple pectin, which presumably consists of several components, was substantiated: ability to adsorb alcohol due to the corresponding magnitude of the zero charge point; partially neutralize the reaction of alcohol; reduce the contact of alcohol with the gut wall, and therefore absorption, due to the formation of a gelatinous layer between the mucous and the contents of the stomach and intestines; increase intestinal motility by increasing the volume of intestinal contents and accelerating the excretion of the toxicant.

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

**АННОТАЦИЯ**

**Гайнюк М. Б. Детоксицирующие действие порошка яблочного пектина в условиях алкогольной интоксикации (экспериментальное исследование). - Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.05 - фармакология. - ГУ «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», Киев, 2020.

Работа посвящена исследованию детоксицирующей активности порошка яблочного пектина в условиях экспериментальной острой и субхронической интоксикации алкоголем, выяснению возможного механизма действия in vivo и in vitro и дозирования в условиях моделируемой патологии.

Показано, что исследуемое средство уменьшает активность биомаркеров алкоголя, нормализует гематологические показатели, восстанавливает метаболизм углеводов и липидов, подавляет активность процессов ПОЛ, ограничивает всасывание алкоголя и снижает его концентрацию в крови, способствует восстановлению морфологической структуры печени.

Детоксицирующая активность порошка яблочного пектина проявляется при лечебном и лечебно-профилактическом введении.

Доказано значительное детоксицирующее действие порошка яблочного пектина в условиях острой и субхронической алкогольной интоксикации, которое по степени выраженности превышает свойства эталонного сорбента активированного угля, и реализуется за счет адсорбции пектином алкоголя и образования гелевого слоя между содержимым и стенкой желудка и кишки, ускорения двигательной функции кишечника, а также повышения кислотности и нейтрализация щелочной реакции этанола.

*Ключевые слова*: яблочный пектин, острая и субхроническая алкогольная интоксикация, детоксицирующий эффект.

перелік умовних позначень, скорочень і термінів

## АВ – активоване вугілля

## АДГ – алкогольдегідрогеназа

## АлАТ – аланін-амінотрансфераза

АОА – антиоксидантна активність

## АсАТ – аспартат-амінотрансфераза

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

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

ЯП – яблучний пектин