

Оригинальная статья/ Original Article

УДК 616.98:576.858:615.454.2(049.3)

**ИЗУЧЕНИЕ ПЕРСПЕКТИВ ПРИМЕНЕНИЯ ИНТРАГАСТРАЛЬНЫХ
КОКТЕЙЛЕЙ С ПРЕПАРАТАМИ КОРНЯ СОЛОДКИ РАЗНОГО
ГАЗОВОГО СОСТАВА ПРИ COVID-19 НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
МОДЕЛИ ИММУНОПАТОЛОГИИ, ВЫЗВАННОЙ ГАММА
ОБЛУЧЕНИЕМ ЖИВОТНЫХ**

Л.Е. Старокожко¹, А.М. Шевченко²

*¹Ставропольский государственный медицинский университет
(г. Ставрополь, Россия)*

*²Медико-фармацевтический институт - филиал ФГБОУ ВО Волгоградского
государственного медицинского университета Минздрава России (г.
Пятигорск, Россия)*

Аннотация

Настоящая статья посвящена результатам экспериментального исследования, целью которого было уточнение механизмов воздействия на иммунную систему интрагастральных коктейлей разного газового состава (кислород, углерода диоксид, азот), в том числе в комбинации с препаратами корня солодки с последующей перспективой использования на разных этапах реабилитации больных после COVID-19. Экспериментальной моделью служили крысы-самцы породы Вистар, острое внешне гамма облучение которых вызывает состояние иммунопатологии, сходное с COVID-19. Полученные данные свидетельствовали о наличии эффектов иммунологической коррекции под воздействием изучаемых средств. Причем отмечено, что при нарушениях клеточного звена иммунитета предпочтение следует отдавать в качестве дисперсионной среды - азоту, а гуморального - углекислому газу, тогда как иммуносупрессорный эффект вызывали коктейли с кислородом. Таким образом, установлено, что интрагастральные коктейли разного состава отличаются друг от друга особенностями возникающих реакций на их применение, что в перспективе может быть использовано на разных этапах реабилитации больных COVID-19 и с превентивными целями в межпандемический период в качестве дифференцированных методов иммунологической коррекции. Для этого необходимы дополнительные клинические исследования в соответствии с

принципами доказательной медицины.

Ключевые слова: интрагастральный, коктейль, кислород, углерода диоксид, азот, корень солодки, иммунокоррекция, реабилитация, COVID-19

**STUDYING THE PROSPECTS OF APPLYING INTRAGASTRIC
COCKTAILS OF DIFFERENT GAS COMPOSITIONS WITH LICORICE
ROOT PREPARATIONS FOR COVID-19 ON AN EXPERIMENTAL
MODEL OF IMMUNOPATHOLOGY CAUSED BY GAMMA
IRRADIATION OF ANIMALS**

Starokozhko L.E.¹, Shevchenko A.M.²

¹ *Stavropol State medical University (Stavropol Russia)*

² *Medical and pharmaceutical Institute-branch of the Volgograd state medical University of the Ministry of health of Russia (Pyatigorsk, Russia)*

Absract

This article is devoted to the results of an experimental study, the purpose of which was to clarify the mechanisms of action on the immune system of intragastric cocktails of different gas compositions (oxygen, carbon dioxide, and nitrogen), including in combination with licorice root preparations, with the subsequent prospect of use at different stages of rehabilitation of patients after COVID-19. The experimental model was male Wistar rats, whose acute external gamma irradiation causes a state of immunopathology similar to COVID-19. The data obtained indicated the presence of immunological correction effects under the influence of the studied agents. Moreover, it was noted that in cases of violations of the cellular component of immunity, preference should be given to nitrogen as a dispersion medium and carbon dioxide as a humoral medium, while the immunosuppressive effect is caused by cocktails with oxygen. Thus, it has been established that intragastric cocktails of different compositions differ from each other in the characteristics of the reactions that occur to their use, which in the future can be used at different stages of rehabilitation of patients with COVID-19 and for preventive purposes in the interpandemic period as differentiated methods of immunological correction. This requires additional clinical studies in accordance with the principles of evidence-based medicine.

Key words: intragastric, cocktail, oxygen, carbon dioxide, nitrogen, licorice root, immunocorrection, rehabilitation, COVID-19

ВВЕДЕНИЕ

В результате ряда исследований стало известно, что SARS-CoV-2 приводит к разрушению клеток легких, запуская местный иммунный ответ с привлечением фагоцитов и лимфоцитов, которые, в свою очередь, высвобождают цитокины и первичные адаптивные иммунные реакции Т- и В-клеток, завершая борьбу с инфекционным агентом.

Но может возникать дисфункциональный иммунный ответ, вызывающий тяжелую легочную или даже системную патологию.

Рекрутирование иммунных клеток из кровотока в легкие и инфильтрация дыхательных путей лимфоцитами может объяснить лимфопению и увеличение соотношения нейтрофилов и лимфоцитов, наблюдаемого примерно у 80 % пациентов с инфекцией SARS-CoV-2.

Беспредельная воспалительная инфильтрация клеток сама по себе может привести к повреждению легких через избыточную секрецию протеаз и активных форм кислорода в дополнение к прямому повреждению, вызванному вирусом.

Это ограничивает эффективность газообмена в легких, вызывая затруднение дыхания и приводя к снижению уровня кислорода в крови.

В связи с этим, не случайно, возникла такая эклектическая тенденция в подборе эффективных средств:

- вирусоцидных,
- противомаларийных,
- кортикостероидных и др.

На первый взгляд становится очевидным, что предпочтения заслуживает таргетированное воздействие на вирус.

Однако, включение в патологический процесс самых различных тканей и органов мишеней, предполагает более целесообразным использование таких средств и технологий, которые оказывают позитивное влияние на все основные уровни иерархии человеческого организма [1, 2, 3].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить механизмы воздействия на иммунную систему облученных животных интрагастральных коктейлей разного газового состава, в том числе в комплексе с препаратами корня солодки с оценкой перспектив возможного использования на разных этапах реабилитации больных после COVID-19.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование, состоящее из двух серий, были включены 78 крыс-самцов линии Вистар с массой тела 180-220 г.

В I серии экспериментов изучались особенности воздействия интрагастральных коктейлей разного газового состава: с кислородом и углерода диоксидом. 36 животных были разделены на 6 групп по 6 особей в группе.

Интактные крысы 1-й группы служили общим контролем для всех остальных, животные 2-й группы получали острое внешнее гамма облучение в дозе 3 зиверта (Зв) без последующих воздействий.

3-я и 4-я группы получали интрагастрально в течение 10 дней ежедневно кислородный коктейль с раствором глицирама (5 мг/кг массы), при этом 3-я группа без предварительного облучения, а 4-я после облучения в дозе 3 Зв.

В 5-й группе (без облучения) и в 6-й группе (с облучением) эксперименты проводились по аналогичной схеме, но в газовом составе коктейлей применялся углерода диоксид.

Во II серии 42 крысы были разделены также на 6 равноценных групп. Исследовались особенности воздействия интрагастральных пенных коктейлей с 1,5% раствором густого экстракта корня солодки (ГЭКС) по аналогичной с I серией схеме. В газовом составе коктейлей использовался диоксида углерод или азот.

При этом интактные крысы 1-й группы служили общим контролем; 2-й - получали однократное внешнее облучение в дозе 3 Зв, без последующих воздействий.

3-й группе в течение 10 дней ежедневно вводили углекислый коктейль с ГЭКС, 4-й – аналогичное воздействие, но после облучения.

5-й и 6-й группам в газовом составе коктейля с ГЭКС использовался азот.

Осуществляли 3 прижизненных забора крови - на 5-й, 14-й и 28-й дни, после чего животных иммунизировали 5% взвесью эритроцитов барана и через 5-ть дней забивали.

Исследовали следующие показатели: лейкоцитарную формулу, показатели фагоцитоза кишечной палочки сегментоядерными нейтрофилами, активность лизоцима в сыворотке крови, концентрация циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК). После иммунизации определяли содержание общих, активных, теofilлинрезистентных розеткообразующих: E-РОКобщ., E-РОКакт., E-РОКтфр., и антител образующих клеток (АОК) в селезенке.

Статистическая обработка производилась методами вариационной статистики с помощью программы «Statistica» версия 6,0. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что, уже на 5-й день после облучения под влиянием радиационного облучения на 14-й и 28-й дни эксперимента, по сравнению с интактным контролем, зарегистрировано, хотя и в разной степени, достоверное снижение фагоцитарной функции нейтрофилов ($p < 0,05$ - $p < 0,001$).

Выявлено также, что сразу после введения кислородного коктейля ФА в не облученной 3-й группе была ниже, чем у интактных животных, причем это различие приобрело статистически значимый характер лишь к концу исследования ($p < 0,001$).

У облученных крыс (4-я группа) под влиянием этого вида воздействия существенных изменений не отмечено. В то же время только после приема углекислого коктейля ФА увеличивалась у облученных особей (6-я группа) по сравнению с радиационным контролем ($p < 0,05$) и даже достигала на 14-й день эксперимента уровня данного показателя в интактном контроле. ФИ оказался к 28 дню опыта достоверно выше в 4-й и 6-й группах с облучением, принимавших как коктейль с кислородом, так и углерода диоксидом ($p < 0,01$, $p < 0,001$). Наряду с этим ПЗФ у облученных крыс, по завершении поения кислородным коктейлем, становился значимо выше радиационного контроля и сохранялся на высоком уровне до окончания эксперимента ($p < 0,05$ - $p < 0,001$).

Лекарственная форма с углерода диоксидом вызывала изменения противоположного характера, хотя достоверно более низким этот показатель оказался лишь на 14-ый день в 5-й группе, а по окончании исследования эта тенденция, хотя и статистически не значимо, изменила свое направление.

Рецепция Т-лимфоцитов, по данным теста Е-РОКобщ., снижалась на 30-44% в облученных группах, по сравнению с интактным контролем ($p < 0,001$), хотя при использовании углекислого коктейля эти изменения были менее выражены, чем после кислородного. Уровень АОК в селезенке под влиянием радиационного излучения по сравнению с интактной и 3-й группами существенно не изменялся, тогда как при применении коктейлей, особенно углекислого - снижался на 33% ($p < 0,05$). Проведенный корреляционно-

регрессионный анализ показал, что обнаружена взаимосвязь между показателями ФА и АОК ($r = -0,61$; $p < 0,01$).

Изменение концентрации ЦИК в 5-й (36%) и 6-й (72%) группах оказалось статистически недостоверным ($P < 0,05$). Активность лизоцима в радиационном контроле существенно не отличалась от таковой в интактной группе и у особей, которым вводили кислородный коктейль. Однако, использование коктейля с углекислым газом приводило к снижению мурамидазной активности: $20,9 \pm 2,0$ и $13,7 \pm 1,4$ ($p < 0,01$); $22,2 \pm 2,5$ и $13,4 \pm 1,5$ ($p < 0,01$).

Анализ полученных данных свидетельствует о благоприятном влиянии изучаемых новых лекарственных форм на фагоцитарное звено иммунитета и снижение антителообразования в селезенке под его влиянием, что является следствием связи подавленного гуморального иммунного ответа с повышением фагоцитарной активности.

Обнаруженное увеличение ПЗФ при применении кислородных коктейлей, может быть обусловлено значительной ролью кислородозависимых механизмов в финальной стадии фагоцитоза. Кроме этого, при использовании кислородного коктейля, рецепторная функция Т-лимфоцитов снижается, а углекислотного – восстанавливается, хотя и не полностью, что свидетельствует о разнонаправленном характере воздействия изучаемых лекарственных форм с глицирамом в зависимости от газового состава на клеточное звено иммунной системы. Уменьшение уровня такого неспецифического фактора защиты, как лизоцим, при применении коктейля с углерода диоксидом, также, возможно, связано с активирующим влиянием данного средства на фагоцитарное звено иммунитета.

Во второй серии эксперимента, под влиянием коктейлей с углекислым газом и азотом, в 4-й и 6-й облученных группах сразу после лечебного воздействия увеличивалась ФА ($p < 0,001$), сохраняясь повышенной до завершения эксперимента ($p < 0,001$). В то же время ФИ существенно не отличался во всех группах. ПЗФ сразу по завершению приема углекислого коктейля имел тенденцию к снижению. Однако, статистически значимое изменение в этом направлении показателя зарегистрировано лишь на 28 день исследования ($p < 0,01$).

Рецепция спленоцитов, по данным Е-РОКобщ. и Е-РОКакт. в облученных не леченых группах по сравнению с интактным контролем имела тенденцию к снижению ($p < 0,05$). Тогда как показатель Е-РОКтфр. у данных животных

отличался существенно ($p < 0,05$). Количество Е-РОКобщ. под влиянием проводимого лечения во всех группах значимо увеличивалось ($P < 0,001$). В то же время этот показатель в облученных опытных группах был выше в той, которая получала азотный коктейль ($p < 0,05$). Однако, при сравнении с радиационным контролем только азотный коктейль в облученных группах вызывал повышение Е-РОК акт. и Е-РОК тфр. ($p < 0,05 - p < 0,001$), обеспечивая достижение уровня данных показателей в интактном контроле.

Количество АОК по сравнению с интактным контролем снижалось на 68% ($p < 0,001$). Увеличение данного показателя отмечалось в не облученных группах животных. Однако существенным (39%) оно оказалось только в 3-й, где применялся коктейль с углерода диоксидом ($p < 0,001$).

Сравнение количества АОК у облученных животных, принимавших углекислый и азотный коктейли, показывает, что углекислый газ, как дисперсионная среда, оказывает на процесс антителообразования в селезенке более существенное влияние, чем азот ($p < 0,01$).

Концентрация ЦИК достоверно уменьшалась, по сравнению с радиационным контролем, только у облученных животных, которым вводили азотный коктейль ($p < 0,05$).

Наряду с этим, в облученных группах, принимавших коктейль с углекислым газом и азотом, достоверно, по сравнению как с радиационным, так и интактным контролем увеличивалась активность лизоцима ($p < 0,05 - p < 0,001$).

Отмеченные тенденции в динамике иммунологических показателей были зарегистрированы и в отдаленные сроки эксперимента.

Оценивая полученные результаты к 109 дню исследований, оказалось, что все изучаемые (Е-РОК общ., Е-РОК акт., Е-РОК тфр.) показатели рецепции спленоцитов в радиационном контроле по сравнению с интактными особями оставались на 15-21% ниже ($p < 0,001$) и лишь под влиянием азотного коктейля (6-я группа) они достоверно повышались ($p < 0,05 - p < 0,001$). В то же время следует обратить особое внимание, что во всех опытных группах, получавших азотный коктейль, показатели рецепции спленоцитов были выше, чем у тех животных, которым вводили углекислый вариант изучаемого лечебного средства ($P < 0,05 - P < 0,001$).

Уровень АОК в радиационном контроле в отдаленный период эксперимента, хотя и не так существенно (26%), как в ближайшие сроки (68%) оказался ниже, чем у интактных крыс ($p < 0,001$). В то же время этот

показатель у не облученных животных под влиянием азотного коктейля стал достоверно ниже, чем у тех, которые получали коктейль с углекислым газом ($p < 0,05$).

Концентрация ЦИК, в облученной 4-й группе под влиянием углекислого коктейля стала значимо ниже по сравнению с радиационным и интактным (20 и 61%) контролями. Аналогичное направление изменения уровня ЦИК зарегистрировано у не облученных крыс 5-й группы, получавших азотный коктейль ($p < 0,001$), тогда как у облученных особей, данная разновидность лечебного средства вызвала тенденцию к увеличению данного показателя ($p < 0,05$).

Наконец, активность лизоцима в радиационном и интактном контроле существенно не отличалась ($p < 0,05$), тогда как в не облученных группах после применения углекислого и азотного коктейлей стала достоверно выше интактных особей ($p < 0,01$ – $p < 0,001$).

Наряду с этим, по сравнению с радиационным контролем, использование лечебного средства с углерода диоксидом, вызывало у облученных животных статистически значимое повышение мурамидазной активности.

Оба изучаемых средства оказывают значимое позитивное влияние на фагоцитарные показатели, несколько более выраженные у азотного коктейля. Однако, отмеченное снижение ПЗФ в облученной группе только после применения коктейля с углерода диоксидом, по-видимому, связано с ингибирующим влиянием углекислого газа на кислородозависимые процессы завершающей фазы фагоцитарной реакции.

Углекислый коктейль обеспечивает более существенное влияние, чем азотный, на процесс антителообразования, формирование ЦИК и мурамидазную активность. Наряду с этим, отмечено характерное для азотного коктейля более выраженное и многостороннее действие на клеточное звено иммунного ответа, проявляющееся в повышение розеткообразующей способности спленоцитов, количества активных розеток и клеток с хелперно-индукторной функцией.

ВЫВОДЫ

Выявлено, что пенные интрагастральные коктейли с ГЭКС и глицирамом разного газового состава обладают выраженными иммунокоррекционными свойствами, но отличаются друг от друга воздействием на разные звенья иммунитета.

Возникающие эффекты модулируются газовой составляющей коктейля. При нарушениях клеточного звена иммунитета предпочтение следует отдавать в качестве дисперсионной среды - азоту, гуморального - углекислому газу, а для достижения иммуносупрессорного эффекта – кислородному аналогу [4, 5, 6, 7].

Интрагастральные коктейли с ГЭКС и глицирамом в перспективе могут дифференцированно применяться в качестве патогенетических методов иммунологической коррекции на разных этапах реабилитации больных COVID-19 и с превентивными целями в межпандемический период. Для этого необходимы дополнительные клинические исследования на основе принципов доказательной медицины.

ДОПОЛНИТЕЛЬНО

Информация об авторах:

Старокожко Леонид Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры мануальной терапии, лечебной физкультуры и спортивной медицины с курсом курортологии и физиотерапии ИДПО ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет, Минздрава России; г. Ставрополь; E-mail: eflaem@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6223-0977>

Шевченко Александр Михайлович, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры технологии лекарств Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России; г. Пятигорск; E-mail: nplfarmak-50@yandex.ua; <https://orcid.org/0000-0002-7541-2558>

Вклад авторов:

Авторы подтверждают соответствие своего авторства, согласно международным критериям ICMJE. **Старокожко Л.Е.** – концепция и дизайн исследования, экспериментальная часть, обработка материала; **Шевченко А.М.** – сбор материала, выполнение текстовой части работы.

Конфликт интересов:

Авторы декларируют отсутствие других явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования:

Данное исследование не было поддержано никакими внешними источниками финансирования.

Этические утверждения:

Все манипуляции с животными проводились в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986) и одобрены Комиссией по биоэтике ИДПО ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

Согласие на публикацию:

Не применимо.

ADDITIONAL

Information about the authors:

Starokozhko Leonid Evgenievich, Doctor of Medical Sciences, Professor of the Department of Manual Therapy, Physical Therapy and Sports Medicine with a course of balneology and physiotherapy, Stavropol State Medical University, Ministry of Health of Russia. E-mail: eflaem@rambler.ru; <https://orcid.org/0000-0001-6223-0977>

Shevchenko Alexander Mikhailovich, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor of the Department of Drug Technology of the Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute - a branch of the Volgograd State Medical University of the Ministry of Health of Russia. E-mail: nplfarmak-50@yandex.ua; <https://orcid.org/0000-0002-7541-2558>

Author's contribution:

The author confirms his authorship according to the ICMJE criteria. **Starokozhko L.E.** – concept and design of the study; experimental part; processing of the material; **Shevchenko A.M.** – collecting material; completing the text part of the work.

Source of funding:

This work was conducted under the Institute of Developmental Biology Russian Academy of Sciences Government basic research program, No. 0108-2019-0002.

Disclosure:

The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Ethics Approval:

All manipulations with animals were performed in accordance with the European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasburg, 1986) and approved by the Ethics Committee for Animal Research of the Stavropol State Medical University, Ministry of Health

of Russia.

Consent for Publication:

Not applicable.

Список литературы / References

1. Guan Li X. Early transmission dynamics in Wuhan, China, Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med.* 2020 January 29. [Medline].
2. Zou L. Viral load of SARS-CoV-2 in the upper part. Respiratory samples of infected patients. *N. Engl. J. Med.* 2020 February 19. [Medline].
3. The Center for Disease Control. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Summary of the COVID-19 situation. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/summ>
4. Старокожко Л.Е., Гринзайд, Ю. М. Старокожко З.М. Иммуностимулятор: патент на изобретение, 1994; №2124894, 10 с. [Starokozhko L.E., Greenside Yu.M., Starokozhko Z.M. Immunostimulator: patent for invention, 1994; №2124894, 10 p.] (in Russian).
5. Старокожко Л.Е, Истошин Н.Г, Чалая. Е.Н. Иммуностимулятор: патент на изобретение, 1997; №2139720,10 с. [Starokozhko L.E., Istoshin N.G., Chalaya E.N. Immunostimulator: patent for invention. 1997; №2139720, 10 p.] (in Russian).
6. Старокожко Л.Е., Самутин Н.М., Корсиков А.А. Свойство газовых составляющих газовой-пенных сред оказывать на организм человека и животных иммуномодулирующее действие: диплом на научное открытие. 2005; № 279. [Starokozhko L.E., Samutin N.M., Korsikov A.A. The property of gas components of gas-foam media to have an immunomodulatory effect on the human body and animals: diploma for scientific discovery. 2005, № 279] (in Russian).
7. Старокожко Л.Е. Препараты из корня солодки и технологии их применения для медицинской реабилитации больных распространенными заболеваниями (мифы и реальность): монография. Изд. 2-е, испр. и доп. Ставрополь. Изд-во СтГМУ, 2019. 381 с. [Starokozhko L.E. Preparations from licorice root and technologies of their application for medical rehabilitation of patients with common diseases (myths and reality): monograph. Ed. 2nd, edit. and add. Stavropol. StSMU Publishing House, 2019. 381 p.] (in Russian).