

ВОПРОСЫ АЛКОГОЛИЗМА

НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ СИСТЕМЫ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ И МОЗЖЕЧКА ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ АЛКОГОЛЬНОМ И МОРФИНОВОМ ПОСТИНТОКСИКАЦИОННОМ СИНДРОМЕ

С. В. Лелевич¹

Исследовано содержание ключевых нейромедиаторов, а также некоторых нейромедиаторных аминокислот в коре большого мозга и мозжечке крыс при алкогольном и морфиновом постинтоксикационном синдроме. К концу периода 5-суточной форсированной интоксикации проявляются различия в нейрохимических эффектах алкоголя и морфина. На высоте поведенческих проявлений абстиненции (1-е сутки) отмечаются сходные изменения состояния катехоламиновой системы мозга как при отмене алкоголя, так и морфина. К концу недельного срока абстиненции (алкогольной и морфиновой) не происходит полной нормализации нейромедиаторных нарушений, выявленных в более ранние сроки данных состояний.

Ключевые слова: алкоголь, морфин, постинтоксикационный синдром, мозг, дофамин, норадреналин, ГАМК

ВВЕДЕНИЕ

Постинтоксикационный (абстинентный) синдром характеризуется психическими, вегетативно-соматическими и неврологическими расстройствами, клиническая картина и течение которых зависят от вида вещества, дозы и длительности его употребления [1, 3]. По прошествии острых признаков абстинентного синдрома развивается период неустойчивого равновесия, когда любая нагрузка может вызвать возвращение симптомов абстиненции. Несмотря на многочисленные клинические и экспериментальные исследования в этой области, явно недостаточно данных о том, как связаны между собой конкретные поведенческие, соматические и биохимические нарушения.

Существуют предположения о единстве центральных механизмов зависимости от различных психоактивных веществ (ПАВ) [1, 2]. Нейрохимической основой феномена зависимости от алкоголя и наркотиков считается хроническая дисфункция дофаминергических механизмов головного мозга, в первую очередь затрагивающая систему “подкрепления” [3, 4]. Предполагается существование центрального механизма развития и поддержания зависимости от ПАВ, который находится под генетическим контролем, не зависит от конкретного вида ПАВ и обеспечивает глубокие нейрохимические изменения у индивидуума еще до их употребления [4, 5]. Выявлены однотипные для больных алкоголизмом и опийной наркоманией изменения

частоты аллелей и генотипов полиморфных локусов генов дофаминовых рецепторов [7]. У этих пациентов также обнаружен общий характер изменений функционального состояния α_2 -адренорецепторов и обусловленное этим снижение норадренергического воздействия на гормональную секрецию [8].

Одним их важнейших аспектов изучения нейрохимических нарушений при абстинентном синдроме является их динамичность после прекращения потребления ПАВ. Этот фрагмент проблемы изучен явно недостаточно, что не позволяет дать ответ о времени достижения метаболической или нейрохимической нормализации после окончания интоксикации.

Целью данной работы являлось сравнительное изучение функционального состояния ряда нейромедиаторных систем в коре большого мозга и мозжечке крыс в одинаковые временные сроки алкогольного и морфинового постинтоксикационного синдрома.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В эксперименте по моделированию алкогольного постинтоксикационного синдрома (АПС) было использовано 40 белых беспородных крыс-самцов массой 180 – 220 г, которые были разделены на 5 групп. АПС моделировали по Е. Maichrowich [11] в собственной модификации путем внутрижелудочного введения 25 % раствора этанола 2 раза в сутки по 5 г/кг в течение 5-и суток с последующей отменой. Животных декапитировали через 3 ч (2-я гр.), 1 (3-я гр.), 3 (4-я гр.) и 7 суток (5-я гр.) после последнего введения алкоголя. Контрольным особям (1-я гр.) внутрижелудочно вводили эквивалентное количество 0,9 % раствора NaCl.

¹ Кафедра анестезиологии и реаниматологии с курсом клинической биохимии (зав. — проф. В. В. Спас) УО “Гродненский государственный медицинский университет”, 230009, Республика Беларусь, Гродно, ул. Горького, 80.

При моделировании морфинового постинтоксикационного синдрома (МПС) было использовано 40 белых беспородных крыс-самцов массой 180–220 г. Животные находились на стандартном пищевом режиме вивария со свободным доступом к воде. МПС вызывали путем внутрибрюшинного введения 1 % раствора морфина гидрохлорида два раза в сутки: первые двое суток в дозе 10 мг/кг массы тела, 3–4-е сутки — 20 мг/кг и 5–7-е сутки — 40 мг/кг. Животных декапитировали через 1 ч (2-я гр.), 36 ч (3-я гр.), 3 (4-я гр.) и 7 суток (5-я гр.) после последней инъекции наркотика. Контрольным особям (1-я гр.) внутрибрюшинно вводили эквивалентное количество физиологического раствора NaCl. После декапитации животных на холоде извлекали кору большого мозга и мозжечок, которые замораживали в жидком азоте.

Определение уровней биогенных аминов и их производных проводили в хлорнокислых экстрактах. Образец ткани (20–80 мг) взвешивали и гомогенизировали в 10 объемах 0,2 М HClO₄, содержащей внутренние стандарты: для определения биогенных аминов и их производных — ванилиновую кислоту (VA, 400 нМ), аминокислот и их производных — δ-аминовалериановую кислоту (dAVA, 0,25 мМ), а также 50 мг/л ЭДТА и 50 мг/л Na₂S₂O₅ в качестве антиоксиданта. Уровни биогенных аминов, их предшественников и метаболитов определяли на ВЭЖХ-системе Waters, состоящей из системы подачи растворителей M501 с демпфером пульсаций, термостата колонок TCM, инжектора Rheodyne 7125 и амперометрического детектора M460 (Waters Assoc., США) [6, 9].

Определение биогенных аминов, их предшественников и метаболитов проводили методом ион-парной ВЭЖХ: колонка Сепарон SGX C18, 5 мкм, 3 × 150 мм (Элсико, Россия); подвижная фаза: 0,1 М KH₂PO₄, 17 мМ CH₃COOH, pH 3,55, гептилсульфонат натрия 200 мг/л, октилсульфонат натрия 200 мг/л, ЭДТА 0,1 мМ, с добавлением 11,5 об. % метанола. Скорость потока 0,5 мл/мин, температура колонки 27° С. Детектирование электрохимическое, потенциал рабочего электрода 0,78 В, постоянная времени 2 с [6]. Калибровка осуществлялась с помощью смеси стандартов, содержащей 100 мкМ Туг, 10 мкМ Ттр и 1 мкМ остальных веществ.¹

Определение ГАМК проводили методом обращенно-фазной хроматографии после предколоночной дериватизации с о-фталевым альдегидом и β-меркаптоэтанолом с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции по методу [9] на той же хроматографической системе с детектором флуоресценции M420 (Waters Assoc., США). В качестве возбуждающего и эмиссионного фильтров использовали полосовой фильтр 338 нм и фильтр нижних частот 425 нм соответственно. Колонка 3 × 250 мм Диасорб

130 C16T (Элсико, Россия) термостатировалась при 30 °С. Подвижная фаза: 127 мМ ацетатный буфер pH 5,9, ЭДТА 50 мг/л, тетрагидрофуран 2,8 %, ацетонитрил 14 об. %. Скорость потока подвижной фазы 0,8 мл/мин. Реагент для дериватизации: 2 мг ортофталевого альдегида, 62,5 мкл метанола, 625 мкл 0,4 М боратного буфера pH 9,8 и 2,5 мкл β-меркаптоэтанол. Дериватизацию осуществляли смешиванием пробы и реагента (1:3), через 2 мин пробу нейтрализовали добавлением равного объема 0,1 М раствора хлорной кислоты и немедленно вводили в хроматограф (40 мкл). Для калибровки использовали раствор ГАМК (50 мкМ), приготовленный аналогично пробам биологического материала. Прием и обработку хроматограмм осуществляли с помощью программно-аппаратного комплекса “МультиХром-1”, обработку хроматограмм — по методу внутреннего стандарта.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Для реализации данных целей был использован пакет статистических программ Statistika 6.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Форсированная 5-суточная алкоголизация (2-я гр.) приводила только к увеличению содержания глутамата (на 55 %; $p = 0,0019$) в коре большого мозга (табл. 1). В мозжечке при этом единственным изменением было увеличение концентрации норадреналина на 88 % ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой (табл. 2). Через 1 ч после последней инъекции морфина (2 гр.) в коре отмечалось увеличение уровня гомованилиновой кислоты (на 33 %; $p < 0,05$, табл. 1). В мозжечке животных данной группы концентрация дофамина превышала контрольный уровень на 32 %, содержание ГАМК — на 114 %, гомованилиновой кислоты — на 72 % ($p < 0,05$, табл. 2).

К концу первых суток алкогольной абстиненции (3 гр.) в коре большого мозга отмечался существенный рост уровней дофамина (на 69 %; $p = 0,0019$), серотонина (на 94 %; $p = 0,0019$), 5-окситриптофана (на 49 %; $p = 0,0045$), а также 5-оксииндолуксусной кислоты (на 84 %; $p = 0,0098$, табл. 1). Количество нейромедиаторных нарушений при суточном алкогольном постинтоксикационном синдроме в мозжечке также увеличивалось (табл. 2). Концентрация норадреналина увеличилась по сравнению с 2-й экспериментальной группой на 32 % ($p < 0,05$) и составила 220 % по отношению к контролю. Содержание дофамина снизилось на 34 %, что, по всей видимости, явилось причиной увеличения уровня 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (на 123 %) в мозжечке в данных экспериментальных условиях. Несмотря на неизменную концентрацию серотонина, содержание его метаболической формы — 5-оксииндолуксусной кислоты снизилось на 47 % ($p < 0,05$, табл. 2). На дезорганизацию нейрхимических процессов в мозжечке при суточной алкогольной

¹ Подразумеваются стандарты к определяемым биогенным аминам.

абстиненции указывает снижение концентрации как возбуждающих (аспартата на 47 %), так и тормозных — ГАМК (на 45 %), глицина (на 39 %) — аминокислот. Это, вероятно, является одной из причин наибольшей выраженности поведенческих проявлений синдрома отмены у экспериментальных животных в данные сроки: тревожности, тремора лап, синдрома “отряхивания мокрой собаки” и др., что согласуется с литературными данными [5].

При 36-часовом МПС (3 гр.) в коре большого мозга выявлялось увеличение уровня аспартата, а также снижение концентрации ГАМК и глицина (табл. 1). В мозжечке при 36-часовой отмене морфина (3 гр.) единственным изменением было нарушение функционального состояния дофаминергической системы, что выражалось статистически значимым ростом концентрации дофамина (на 45 %) и продуктов его метаболизма — 3,4-диоксифенилуксусной и гомованилиновой кислот (на 101 и 108 % соответственно) в сравнении с контрольной группой (табл. 2).

Представления об активации катехоламинергических нейромедиаторных систем в процессе формирования морфинового абстинентного синдрома можно считать вполне сформированными [4]. Они основываются на результатах исследований компонентов катехоламинергической нейротрансмиссии, физиологической активности нейронных популяций и функций органов и систем в период опиатной абстиненции. Наиболее ярким проявлением активации данных систем является усиление оборота соответствующих нейромедиаторов, то есть ускорение их экзоцитоза, деградации, а в некоторых случаях и возрастание обратного захвата.

Изменения состояния серотонинергической системы на высоте абстиненции более противоречивы. При АПС в коре у животных 3-й группы отмечались признаки усиления оборота серотонина, а при МПС изме-

нений параметров серотонинергической системы в коре не наблюдалось (табл. 1).

Возможным объяснением выявленных изменений являются индивидуальные особенности функционирования нейромедиаторных систем и их компенсаторных возможностей при алкогольном и морфиновом постинтоксикационном синдроме [10]. Эти особенности, по всей видимости, обуславливают различную степень восприимчивости к отдельным видам психоактивных веществ. Зависимость от ПАВ в настоящее время рассматривается как заболевание мозга, являющееся результатом взаимодействия генетических, биологических и психосоциальных факторов, а также влияния внешней среды [10]. При этом именно генетическому фактору отводится одна из ключевых ролей. Вероятно, различия в эффектах алкогольной и морфиновой абстиненции на функционирование серотонинергической нейромедиаторной системы в различных структурах головного мозга связаны с особенностями ассоциации полиморфизма генов серотониновых транспортеров (VNTR и ID), а также опиоидной рецепции [10].

Увеличение сроков алкогольного постинтоксикационного синдрома до 3-х суток (4-я гр.) сопровождалось ростом концентрации дофамина (на 48 %; $p = 0,0019$), гомованилиновой кислоты (на 51 %; $p = 0,0141$) и норадреналина (на 34 %; $p = 0,0019$) в коре большого мозга (табл. 1). В мозжечке в данных экспериментальных условиях на фоне неизменного функционального состояния серотонинергической системы отмечались нарушения функционирования дофаминергической системы, а также развивался дисбаланс в содержании возбуждающих и тормозных нейромедиаторных аминокислот (табл. 2). Снижение концентрации дофамина в данных экспериментальных условиях является логичным следствием падения уровня данного нейромедиатора в более ранние сроки

Таблица 1. Содержание нейромедиаторов, их предшественников, метаболитов и нейромедиаторных аминокислот в коре большого мозга крыс при алкогольном — АПС (числитель) и морфиновом — МПС (знаменатель) постинтоксикационном синдроме

Показатель	Отмена (АПС/МПС) 3/1 час (2 гр.)	Отмена (АПС/МПС) 1 сут/36 ч (3 гр.)	Отмена 3 суток (4 гр.)	Отмена 7 суток (5 гр.)
Дофамин	86 %/98 %	169 %*/119 %	148 %*/112 %	111 %/61 %
3,4-диоксифенилуксусная кислота	136 %/129 %	91 %/120 %*	120 %/35 %*	53 %*/60 %
Гомованилиновая кислота	99 %/133 %*	111 %/150 %*	151 %*/107 %	104 %/131 %
Норадреналин	92 %/108 %	122 %/118 %	134 %*/108 %	199 %*/115 %
5-окситриптофан	111 %/140 %	149 %*/104 %	98 %/116 %	117 %/102 %
Серотонин	111 %/104 %	194 %*/116 %	97 %/82 %	121 %/92 %*
5-оксиндоуксусная кислота	74 %/120 %	184 %*/98 %	121 %/127 %	115 %/169 %*
ГАМК	99 %/73 %	107 %*/61 %*	97 %/75 %	102 %/67 %
Глутамат	155 %*/79 %	143 %*/110 %	93 %/115 %	82 %/150 %*
Аспартат	99 %/77 %	140 %/111 %	144 %/143 %*	114 %/145 %*
Глицин	97 %/90 %	104 %/67 %	89 %/84 %	115 %/89 %

Примечание. Здесь и в табл. 2 за 100 % приняты значения соответствующих показателей в контрольной группе; * — статистически значимые различия с контролем.

АПС (табл. 2) и согласуется с литературными данными о дефиците катехоламиновой нейротрансмиссии при абстинентном синдроме [5]. На фоне сохраненного, по сравнению с предыдущей группой, сниженного уровня аспартата, в мозжечке при АПС длительностью 3 суток отмечалось резкое увеличение концентрации тормозных аминокислот — ГАМК (на 61 %) и глицина (на 46 %). Учитывая важную роль мозжечка в регуляции локомоторных функций организма, выявленные нами нарушения аминокислотного пула в данных экспериментальных условиях имеют весьма важный практический аспект и должны учитываться при разработке схем метаболической коррекции АПС.

Через 3 суток после отмены морфина (4 гр.) уровень изученных нейромедиаторов в коре не отличался от контроля, а в мозжечке животных данной экспериментальной группы был снижен только уровень серотонина (табл. 2).

Спустя 7 суток после отмены алкоголя (5-я гр.) в коре большого мозга на фоне сниженной концентрации 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (в 1,8 раза) отмечалось практически двукратное увеличение содержания норадреналина в сравнении с контролем (табл. 1). В мозжечке при АПС длительностью 7 суток наблюдалось наибольшее количество нейромедиаторных нарушений в сравнении с предыдущими экспериментальными группами (табл. 2). При этом затрагивались все изученные системы нейромедиации: снижение концентрации дофамина (на 22 %) сопровождалось увеличением уровней гомованилиновой (на 99 %)

и 3,4-диоксифенилуксусной кислот (на 97 %), а также содержания норадреналина (на 78 %). Концентрация серотонина увеличивалась на 85 %, уровень его метаболита — 5-оксииндолюксусной кислоты был снижен на 51 % в сравнении с контролем (табл. 2). На фоне увеличения содержания тормозных аминокислот — ГАМК и глицина, концентрации возбуждающих — аспартата и глутамата — изменялись разнонаправленно (табл. 2).

Морфиновый постинтоксикационный синдром длительностью 7 суток (5 гр.) сопровождался сходными нейромедиаторными нарушениями в коре по сравнению с 4-й экспериментальной группой, что выражалось ростом концентраций возбуждающих аминокислот — глутамата и аспартата на фоне стабильного состояния изученных нейромедиаторных систем (табл. 1). В мозжечке при недельном морфиновом постинтоксикационном синдроме были обнаружены менее выраженные нейромедиаторные изменения (табл. 2). На фоне стабильного состояния здесь дофаминергической и адреналинергической систем отмечалось снижение уровня серотонина (на 33 %) и, как следствие, рост концентрации 5-оксииндолюксусной кислоты. Кроме того, в мозжечке при этом отмечались признаки торможения, что проявлялось снижением уровней ключевых возбуждающих аминокислот — глутамата и аспартата (табл. 2).

Выявленные изменения нейромедиации в отдаленные сроки алкогольной и морфиновой абстиненции указывают на перестройку функционального состоя-

Таблица 2. Содержание нейромедиаторов, их предшественников, метаболитов и нейромедиаторных аминокислот в мозжечке крыс при алкогольном – АПС (числитель) и морфиновом – МПС (знаменатель) постинтоксикационном синдроме

Показатель	Отмена 3/1 час (АПС/МПС) (2 гр.)	Отмена 1 сут/36 ч (АПС/МПС) (3 гр.)	Отмена 3 суток (4 гр.)	Отмена 7 суток (5 гр.)
Дофамин	76%	66% *	59% *	178% *
	132% *	145% *	112%	109%
3,4-диоксифенилуксусная кислота	120%	223% *	118%	197% *
	121%	201% *	126%	131%
Гомованилиновая кислота	89%	123%	98%	199% *
	172% *	208% *	129%	137%
Норадреналин	188% *	220% *	126%	178% *
	117%	132%	107%	106%
5-окситриптофан	86%	93%	86%	59% *
	109%	106%	84%	91%
Серотонин	96%	92%	99%	185% *
	134%	109%	75% *	67% *
5-оксииндолюксусная кислота	81%	53% *	107%	49% *
	193% *	160% *	162% *	208% *
ГАМК	98%	55% *	161% *	167% *
	214% *	114%	105%	10%
Глутамат	92%	89%	96%	167% *
	63% *	89%	93%	69% *
Аспартат	93%	53% *	59% *	51% *
	80%	89%	91%	60% *
Глицин	85%	61% *	146% *	182% *
	107%	114%	88%	107%

ния ЦНС, что является одним из звеньев формирования патохимической картины данных состояний. Если на начальной стадии (1–2-е сутки) алкогольного и морфинового абстинентного синдрома основной причиной данных проявлений можно считать ослабление опиоидергической передачи, то в более поздний период (7-е сутки) на первый план, по всей видимости, выходит активация оси “гипоталамус-гипофиз-железы внутренней секреции”, включающая сдвиги обмена релизинг-факторов и гормонов, позволяющая охарактеризовать синдром отмены как стрессовую реакцию [10].

ВЫВОДЫ

1. К концу периода 5-суточной форсированной интоксикации проявляются различия в нейрхимических эффектах алкоголя и морфина. Этанол в данных условиях не изменяет содержание основных компонентов дофаминергической, адреналинергической и серотонинергической нейромедиаторных систем в изученных отделах головного мозга. Форсированная морфиновая интоксикация приводит к активации высвобождения в синаптическую щель дофамина и серотонина.

2. На высоте поведенческих проявлений абстиненции (1-е сутки) отмечаются сходные изменения состояния катехоламиновой системы коры большого мозга как при отмене алкоголя, так и морфина. В мозжечке в данных условиях на фоне разнонаправленных изменений концентрации дофамина регистрируется сходное увеличение уровней его метаболитов.

3. К концу недельного срока алкогольной и морфиновой абстиненции в коре большого мозга не происхо-

дит полной нормализации нейромедиаторных нарушений. При этом выявляется определенное сходство изменений при отмене алкоголя и морфина, проявляющееся в активации выброса серотонина. В мозжечке в данных условиях отмечается сходная интенсификация деятельности дофаминовой нейромедиаторной системы, а также разнонаправленные сдвиги в содержании компонентов серотонергической нейромедиации.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. П. Анохина, Н. Л. Векшина, В. А. Томилин, *Наркология*, № 1, 22 – 28 (2008).
2. И. П. Анохина, *Вопр. наркол.*, № 1, 21 – 30 (2006).
3. А. И. Головкин, С. М. Тихомиров, С. И. Головкин и др., *Наркология*, № 11, 13 – 24 (2004).
4. А. И. Головкин, Л. В. Леонтьева, С. И. Головкин и др., *Нейрохимия*, **20**(4), 245 – 258 (2003).
5. А. И. Головкин, С. И. Головкин, Л. В. Леонтьева, С. Ю. Зефиров, *Нейрохимия*, **18**(2), 96 – 103 (2001).
6. Е. М. Дорошенко, Л. И. Нефедов, И. И. Климович и др., *Здравоохранение Беларуси*, № 12, 20 – 23 (1994).
7. А. О. Кибитов, Е. Ю. Воскобоева, В. М. Бродянский и др., *Вопр. наркол.*, № 4, 13 – 31 (2009).
8. А. О. Кибитов, Е. Ю. Воскобоева, И. А. Моисеев и др., *Наркология*, № 4, 31 – 38 (2007).
9. Л. И. Нефедов, Е. М. Дорошенко, В. Ю. Смирнов и др., *Украинский биохим. журн.*, **68**(1), 21 – 26 (1996).
10. Е. В. Черепкова, И. А. Грибачева, *Бюл. сиб. мед.*, № 3(2), 49 – 51 (2009).
11. E. Majchrowicz, W. A. Hunt, *N. Y. Acad. Press.*, 419 – 424 (1980).

Поступила 12.05.11

NEUROMEDIATOR SYSTEMS OF BRAIN CORTEX AND CEREBELLUM UNDER ALCOHOL AND MORPHINE WITHDRAWAL SYNDROME CONDITIONS

S. V. Lelevich

Grodno State Medical University, ul. Gorkogo 80, Grodno, 230009, Belarus Republic

The content of key neuromediators and some neuromediator amino acids in the brain cortex and cerebellum of rats has been investigated under conditions of alcohol and morphine withdrawal syndrome. By the end of the period of a 5-day forced intoxication, distinctions in the neurochemical effects of alcohol and morphine are manifested. At the maximum (1st day) of behavioural manifestations of withdrawal, similar changes of the state of catecholamine brain system are observed for both alcohol and morphine. By the end of one-week withdrawal (both alcohol and morphine) there is no full normalization of impaired neuromediator functions revealed at the earlier stages of withdrawal syndrome.

Key words: Alcohol, morphine, withdrawal syndrome, brain, dopamine, norepinephrine, GABA