

ВОПРОСЫ АЛКОГОЛИЗМА

КОРРЕКЦИЯ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У КРЫС ПРИ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

С. В. Лелевич¹, В. В. Лелевич¹, Е. В. Барковский²

Прерывистая алкогольная интоксикация сопровождается активацией процессов перекисного окисления в крови и печени, а также уменьшением уровня ряда аминокислот в тканях. Используемые для коррекции аминокислотные композиции Тавамин и Нейрамин проявляют нормализующий эффект на пул свободных аминокислот в печени и скелетной мускулатуре, а также ряд биохимических показателей крови.

Ключевые слова: алкоголь; печень; мышцы; глюкоза; аминокислоты

ВВЕДЕНИЕ

Исследование патогенеза алкоголизма с использованием различных методических подходов делает возможным выявление существенных биологических факторов заболевания на уровне метаболических систем, эндокринных расстройств, изменений в сфере модуляции и медиации нервных импульсов в ЦНС и некоторых других факторов [11]. В последние несколько десятилетий предложен и активно разрабатывается ряд экспериментальных моделей алкоголизма [7]. Среди множества форм алкоголизации в человеческой популяции наиболее часто встречается прерывистый прием алкоголя, который можно рассматривать как чередование более или менее длительных периодов алкогольной интоксикации и отмены его потребления. Прерывистая алкогольная интоксикация (ПАИ) представляет собой новое клиническое состояние алкогольной болезни с учетом выраженных клинических и патохимических симптомов алкогольной абстиненции [9, 10].

Нами была разработана новая модель ПАИ, суть которой заключается в чередовании периодов 4-дневной алкоголизации экспериментальных животных и 3-дневных периодов отмены этанола [5]. Первые исследования, проведенные на данной модели, выявили ряд нарушений процессов свободнорадикального окисления, пула свободных аминокислот и других параметров в ряде тканей [4, 6]. Спектр фармакологических препаратов, используемых для лечения алкоголизма, достаточно ограничен [1]. В этой связи активно разрабатывается направление коррекции метаболических

нарушений при данной патологии и ее осложнениях [3, 8].

Учитывая выявленные нарушения пула свободных аминокислот в тканях, а также изменения ряда биохимических параметров в крови при ПАИ, нами была изучена эффективность двух аминокислотных композиций – Тавамина и Нейрамина (РУП “Гродненский завод медицинских препаратов”) – в качестве факторов метаболической коррекции данного состояния.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты были выполнены на 32 беспородных крысах-самцах массой 180 – 220 г, разделенных на 4 равные группы. Животным 1-й группы (контроль) внутрижелудочно дважды в сутки вводили воду в течение 28 дней. Крысам 2-й группы внутрижелудочно вводили этанол в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в сутки в виде 25 % раствора в течение 4 суток, затем в течение последующих 3-х суток данным животным вводили эквивалентное количество воды. Такой цикл повторяли 4 раза. Экспериментальные животные 3-й группы в течение 4 суток внутрижелудочно получали 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела два раза в сутки, а затем в течение 3 суток – аминокислотную смесь Тавамин (валин – 17%, изолейцин – 13%, лейцин – 50%, таурин – 20%) по 250 мг/кг массы тела два раза в сутки (суточная доза 500 мг/кг массы тела). Такие недельные циклы повторяли 4 раза. 4-й группе в течение 4 сут вводили этанол, как в группах 2 и 3, а затем в течение 3 суток внутрижелудочно – аминокислотную смесь Нейрамин (триптофан – 60%, аргинин и аспарат по 10%, глицин – 20%) в дозе 100 мг/кг массы тела, в 2 % суспензии крахмала. Такие недельные циклы повторяли 4 раза. Все эксперименты проводили с учетом рекомендаций о гуманном обращении с экспериментальными животными.

Определение спектра биохимических показателей в плазме крови было выполнено на биохимическом ана-

¹ Кафедра клинической лабораторной диагностики и иммунологии; кафедра биохимии (зав. – проф. В. В. Лелевич) УО “Гродненский государственный медицинский университет”, 230009, Республика Беларусь, Гродно, ул. Горького, 80. E-mail: slelevich@yandex.ru

² УО “Белорусский государственный медицинский университет”.

лизаторе Conelab 30i (Финляндия) [2]. Определение уровней аминокислот проводили в хлорнокислых экстрактах тканей методом обращено-фазной хроматографии на ВЭЖХ-системе Waters, состоящей из системы подачи растворителей М501 с демпфером пульсаций, термостата колонок ТСМ, инжектора Rheoolyne 7125 и амперометрического детектора М460 (“Waters Assoc.”, США) с предколоночной дериватизацией 0,4 % ортофталевым альдегидом и 0,3 % 3-меркаптопропионовой кислотой в 0,4М Na-боратном буфере, рН 9,4, а также флуоренилметилоксикарбонил-хлоридом (FМОС). Сокращения названий аминокислот приведены в соответствии общепринятыми требованиями.

Уровень диеновых конъюгатов (ДК) определяли [12] по интенсивности поглощения липидным экстрактом монохроматического светового потока в области спектра 232 – 234 нм, а малонового диальдегида (МДА) по взаимодействию с 2'-тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [12, 13]. Концентрацию α -токоферола (витамина Е) определяли по методу, основанному на определении интенсивности флуоресценции гексанового экстракта тканей [13].

Статистическую обработку полученных данных выполняли с использованием пакета статистических программ STATISTICA 6.0. Сравнение экспериментальных групп по количественным признакам проводили, используя параметрический *t*-критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Прерывистая алкогольная интоксикация сопровождается биохимическими изменениями в крови: снижением содержания мочевины (на 38 %) и креатинина (на 16 %)(табл. 1). В то же время у животных данной экспериментальной группы наблюдали увеличение уровня гликемии и активности креатинкиназы в крови (табл. 1). На активацию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) при ПАИ указывало статистически значимое увеличение в крови содержания основных продуктов данного процесса – ДК (на 64 %) и МДА (в 4,6 раза). Подтверждением активизации процессов ПОЛ в организме экспериментальных животных при ПАИ является, выявленное нами ранее, повышение уровня ДК в печени ($3,93 \pm 0,26$; $2,24 \pm 0,4$ Ед/мл, $p < 0,01$, соответственно) особей 2-й экспериментальной группы в сравнении с контролем. О снижении активности системы антиоксидантной защиты в данных экспериментальных условиях свидетельствовало снижение концентрации одного из основных ее компонентов – витамина Е – в крови животных 2-й группы (табл. 1).

Определенные изменения ПАИ вызывала в структуре пула свободных аминокислот печени (табл. 2). В данных экспериментальных условиях отмечалось статистически значимое понижение содержания в ткани печени следующих аминокислот: Асп, Тре, ГАМК, Тир, Вал, Три и Фен. Эти сдвиги приводили к снижению в печени суммы протеиногенных аминокислот (на 24,5 %) и достоверному увеличению коэффициен-

Таблица 1. Активность ферментов и содержание субстратов в плазме крови крыс при коррекции прерывистой алкогольной интоксикации (ПАИ) препаратами аминокислот ($M \pm m$)

| Показатель | Экспериментальные группы | | | |
|---------------------------|--------------------------|---------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | Контроль (1-я группа) | ПАИ (2-я группа) | ПАИ +Тавамин (3-я группа) | ПАИ +Нейрамин (4-я группа) |
| ЛДГ, Ед/л | 1225 ± 117 | 1257 ± 111 | 975 ± 93 | 1404 ± 122 |
| Общий белок, г/л | 62,30 ± 2,90 | 59,30 ± 4,48 | 59,50 ± 1,59 | 67,38 ± 2,69 |
| АлАТ, Ед/л | 58,8 ± 2,42 | 59,3 ± 4,28 | 48,2 ± 4,96 | 59,0 ± 4,30 |
| ГГТП, Ед/л | 9,38 ± 1,19 | 7,33 ± 0,33 | 7,67 ± 1,31 | 6,88 ± 0,40 |
| АсАТ, Ед/л | 157 ± 6,76 | 154 ± 10,9 | 145 ± 9,79 | 151 ± 13,1 |
| Щелочная фосфатаза, Ед/л | 347 ± 38,1 | 374 ± 25,6 | 313 ± 34,3 | 318 ± 16,7 |
| Мочевина, ммоль/л | 6,23 ± 0,48 | 3,90 ± 0,13* | 4,45 ± 0,33* | 4,71 ± 0,29*# |
| Общий билирубин, ммоль/л | 10,91 ± 1,34 | 10,73 ± 0,98 | 10,82 ± 1,33 | 8,39 ± 0,65 |
| Креатинин, ммоль/л | 50,2 ± 2,71 | 42,1 ± 2,94* | 48,4 ± 3,28 | 58,1 ± 1,83*# |
| Мочевая кислота, мкмоль/л | 99,0 ± 4,08 | 82,4 ± 15,5 | 134 ± 20,0# | 125 ± 9,28*# |
| Глюкоза, ммоль/л | 5,88 ± 0,27 | 6,78 ± 0,42* | 6,97 ± 0,33* | 6,53 ± 0,33 |
| Холестерол, ммоль/л | 2,11 ± 0,06 | 1,82 ± 0,15 | 2,18 ± 0,16 | 2,38 ± 0,16# |
| Креатинкиназа, Ед/л | 4807 ± 460 | 6179 ± 185* | 3187 ± 386*# | 4496 ± 428# |
| ДК, Ед/мл | 2,24 ± 0,24 | 3,68 ± 0,59* | 2,82 ± 0,63 | 3,73 ± 0,37* |
| МДА, мкмоль/л | 1,08 ± 0,15 | 4,99 ± 0,58* | 4,21 ± 0,92* | 3,72 ± 0,55* |
| Витамин Е, мкмоль/л | 14,70 ± 0,93 | 15,51 ± 1,4 | 13,87 ± 1,41 | 10,60 ± 0,51*# |

Примечание. Здесь и в табл. 2 и 3 статистически значимые изменения в сравнении:

* – с контролем ($p \leq 0,05$), # – с группой ПАИ ($p \leq 0,05$).

Таблица 2. Содержание аминокислот и их производных (в нмоль/г) в печени крыс при коррекции прерывистой алкогольной интоксикации (ПАИ) препаратами аминокислот ($M \pm m$)

| Показатель | Экспериментальные группы | | | |
|-------------|--------------------------|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | Контроль (1-я группа) | ПАИ (2-я группа) | ПАИ + Тавамин (3-я группа) | ПАИ + Нейрамин (4-я группа) |
| Аспаргат | 1418 ± 133 | 819 ± 105* | 1152 ± 170 | 1703 ± 307 [#] |
| Глутатион | 15314 ± 1234 | 20996 ± 1454* | 15079 ± 1939 [#] | 13595 ± 1090 [#] |
| Глицин | 2491 ± 261 | 1862 ± 184 | 1907 ± 562 | 1789 ± 235 |
| Треонин | 909 ± 121 | 484 ± 93* | 613 ± 80,2 | 1057 ± 170 [#] |
| Аргинин | 51,3 ± 8,41 | 30,4 ± 4,07 | 39,6 ± 10,2 | 35,3 ± 4,37 |
| Аланин | 520 ± 119 | 777 ± 107 | 697 ± 104 | 691 ± 155 |
| ГАМК | 69,1 ± 17,5 | 23,5 ± 3,44* | 40,1 ± 15,8 | 65,7 ± 26,8 |
| Тирозин | 338 ± 64,6 | 130 ± 24,5* | 196 ± 51,7 | 361 ± 76,7 [#] |
| Этаноламин | 358 ± 63,7 | 103 ± 25,4* | 210 ± 113 | 340 ± 109 |
| Валин | 626 ± 106 | 277 ± 46* | 408 ± 84 | 644 ± 111 [#] |
| Триптофан | 72,7 ± 7,56 | 38,3 ± 3,99* | 55,0 ± 10,1 | 73,4 ± 8,19 [#] |
| Фенилаланин | 341 ± 66,0 | 147 ± 30,8* | 216 ± 48,4 | 324 ± 51,2 [#] |

та АРУЦ/ААК. Кроме этого, в печени при ПАИ отмечалось увеличение концентрации глутатиона (табл. 2).

В мышечной ткани изменения уровней аминокислот в условиях прерывистой алкоголизации были менее выражены и проявлялись повышением концентраций Три и Про (табл. 3). На изменения структуры пула аминокислот в мышечной ткани в данных условиях указывало статистически значимое повышение соотношений заменимые/незаменимые, а также гликогенные/кетогенные аминокислоты.

При коррекции прерывистой алкогольной интоксикации аминокислотной смесью Тавамин в крови отмечалось статистически значимое снижение активности креатинкиназы и нормализация уровня креатинина (табл. 1). Достаточно выраженный корригирующий эффект Тавамина при прерывистой алкоголизации проявлялся в отношении структуры пула свободных аминокислот в печени (табл. 2). Введение данного препарата сопровождалось нормализацией уровней

Асп, глутатиона, Тре, ГАМК, Тир, ЭА, Вал и Три, которые были снижены при ПАИ. В скелетной мускулатуре Тавамин нормализовал уровни глутатиона и Три (табл. 3).

Введение аминокислотной композиции Нейрамин на фоне ПАИ также приводило к ряду корригирующих эффектов на изученные биохимические показатели в крови (табл. 1). Это проявлялось в его нормализующем действии на содержание мочевины и креатинина, а также активность креатинкиназы. В то же время, Нейрамин не оказывал существенного влияния на показатели ПОЛ – ДК и МДА, уровни которых при ПАИ превышали контрольные (табл. 1). Выраженный корригирующий эффект Нейрамина проявлялся в отношении аминокислотного пула печени. Данная аминокислотная смесь нормализовала, пониженные при ПАИ, концентрации Асп, Тре, ЭА, Вал, Три и Фен (табл. 2). В мышечной ткани нормализующий эффект Нейрами-

Таблица 3. Содержание аминокислот и их производных (в нмоль/г) в скелетной мускулатуре крыс при коррекции прерывистой алкогольной интоксикации (ПАИ) препаратами аминокислот ($M \pm m$)

| Показатель | Экспериментальные группы | | | |
|------------|--------------------------|------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | Контроль (1-я группа) | ПАИ (2-я группа) | ПАИ + Тавамин (3-я группа) | ПАИ + Нейрамин (4-я группа) |
| Глутатион | 1620 ± 111 | 1994 ± 63* | 1746 ± 116 | 1706 ± 125 |
| Серин | 819 ± 89 | 1037 ± 98 | 862 ± 99 | 1150 ± 122* |
| Глутамин | 5234 ± 578 | 6858 ± 630 | 6000 ± 724 | 6664 ± 704 |
| Глицин | 2329 ± 118 | 2289 ± 355 | 2558 ± 346 | 2984 ± 250* |
| Аланин | 2054 ± 96 | 1975 ± 106 | 1767 ± 58* | 2038 ± 129 |
| Таурин | 11940 ± 625 | 13556 ± 1136 | 11806 ± 1150 | 11598 ± 1192 |
| Тирозин | 137 ± 7,90 | 122 ± 4,68 | 110 ± 4,83* | 126 ± 4,00 |
| Этаноламин | 49,2 ± 4,04 | 37,8 ± 2,67 | 29,7 ± 1,54* [#] | 38,3 ± 3,06* |
| Валин | 230 ± 14,70 | 216 ± 5,71 | 205 ± 10,32 | 228 ± 16,20 |
| Триптофан | 38,1 ± 2,67 | 47,3 ± 1,90* | 40,7 ± 1,18 [#] | 40,3 ± 2,24 [#] |
| Пролин | 1674 ± 106 | 2246 ± 142* | 2338 ± 298* | 1689 ± 126 [#] |

на проявлялся в отношении Три и Про, уровень которых увеличивался при ПАИ (табл. 3).

ВЫВОДЫ

1. Прерывистая алкогольная интоксикация в режиме “4 дня этанол – 3 дня отмена в течение 28 дней” сопровождается умеренно выраженным гепатотоксическим эффектом, активацией процессов перекисного окисления липидов в крови и печени. Прерывистая алкогольная интоксикация (ПАИ) вызывала уменьшение уровней Асп, Тре, ГАМК, Тир, ЭА, Вал, Три и Фен в печени. В скелетной мускулатуре при этом повышалось содержание глутатиона, Три и Про.

2. Тавамин и Нейрамин на фоне ПАИ обладают схожим выраженным корригирующим эффектом на пул свободных аминокислот в крови и тканях, что проявляется в нормализации сниженного содержания большинства аминокислот.

3. Аминокислотные композиции Тавамин и Нейрамин могут быть использованы как компоненты комплексной терапии алкогольной интоксикации и ее осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Н. Иванец, И. П. Анохина, Н. А. Винникова, *Наркология. Национальное руководство*, ГОЭТАР-Медицина, Москва (2008).
2. В. С. Камышников, *Методы клинических лабораторных исследований*, МЕД-пресс-информ, Москва (2009).
3. П. Ч. Кирвель, М. В. Горещкая, О. Я. Лукивская и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **75**(7), 36 – 39 (2012).
4. В. В. Лелевич, Ю. А. Тарасов, С. В. Лелевич и др., *Журн. Гродненского государственного медицинского университета*, № 2, 24 – 26 (2012).
5. В. В. Лелевич, С. В. Лелевич, *Способ моделирования прерывистой алкогольной интоксикации у крысы в эксперименте*, Патент № 14289“a20081394, Афіцыйны бюлетэнь / Нац. цэнтр інтэл. уласнасці Рэспубліка. Беларусь, № 2, 36 (2011).
6. С. В. Лелевич, В. В. Лелевич, С. В. Юркевич, *Актуальные проблемы медицины*, Гомель (2012), сс. 234 – 237.
7. С. В. Лелевич, В. В. Лелевич, *Актуальные проблемы медицины*, Гродно (2011), сс. 352 – 354.
8. О. А. Сафонова, Т. И. Рахманова, Т. Н. Попова, Л. Ф. Панченко, *Наркология*, № 9, 53 – 56 (2008).
9. Ю. П. Сиволап, *Журн. неврол. и психиатр.*, № 5, 4 – 8 (2006).
10. Филипп де Витт, *Вопр. наркол.*, № 1, 55 – 56 (2002).
11. Л. Фридман, Н. Флеминг, Д. Робертс, С. Хайман, *Наркология*, БИНОМ, Москва (1998).
12. G. Bartosz, *Druga twarz tlenu*, Warszawa, Wydawnictwo naukowe PWN (2003).
13. S. Taylor, *Lipids*, **11**(7), 530 – 538 (1976).

Поступила 07.02.13

CORRECTION OF METABOLIC VIOLATIONS AT RATS AT FALTERING ALCOHOLIC INTOXICATION

S. V. Lelevich, V. V. Lelevich, and E. V. Barkovsky

Grodno State Medical University, ul. Gor'kogo, 80, Grodno, 230009, Belarus

Faltering alcoholic intoxication is accompanied by activation of processes of lipid peroxidation in blood and a liver, and also reduction of levels of a number of amino acids in tissue. Compositions of “Tavamin” and “Neyramin” used for correction show normalizing effect on a pool of free amino acids in a liver and skeletal muscles, and also a number of biochemical characteristics in blood.

Key words: alcohol; liver; muscles; glucose; amino acids