

ПАТОХИМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ У КРЫС

Лелевич В.В.

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

В статье приводится анализ биохимических изменений в плазме крови и тканях крыс при двух разных режимах прерывистой алкогольной интоксикации (ПАИ-4 и ПАИ-7). В плазме крови при ПАИ-4 повышен уровень глюкозы, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, снижено содержание мочевины и креатинина. ПАИ-7 сопровождается гипергликемией и увеличением концентрации продуктов перекисного окисления липидов. Структура пула свободных аминокислот при ПАИ в большей степени изменяется в сердце и скелетной мускулатуре, чем в крови и печени.

Ключевые слова: прерывистая алкогольная интоксикация, пул свободных аминокислот, печень, сердце, мышечная ткань.

Изучение патогенеза алкоголизма с помощью различных методических подходов делает возможным выявление значимых биологических факторов заболевания на уровне метаболических систем, эндокринных расстройств, дезорганизации регуляторных механизмов и некоторых других отклонений. Хроническое потребление алкоголя приводит к развитию адаптации всех внутриклеточных систем к постоянно повышенной концентрации этанола в крови, а следовательно, и в клетке. Выявлены изменения активностей ряда ферментов углеводного обмена в печени крыс при длительном (3,5 мес.) потреблении алкоголя в качестве единственного источника жидкости [10]. Обнаружены изменения функционального состояния пентозофосфатного пути при хронической алкогольной интоксикации [9]. Имеются данные о нейромедиаторных нарушениях в разных отделах головного мозга при введении алкоголя в организм [2].

Среди множества форм алкоголизации в человеческой популяции наиболее часто встречается прерывистый прием алкоголя, который можно рассмотреть как чередование более или менее длительных периодов алкогольной интоксикации и отмены его потребления. Прерывистую алкогольную интоксикацию следует рассматривать как новое клиническое состояние алкогольной болезни с учетом выраженных клинических и патохимических симптомов алкогольной абстиненции [6].

Материалы и методы

Опыты проведены на 40 беспородных белых крысах-самцах массой 200-220 г по 10 особей в группе. Исследования проводились с соблюдением принципов, изложенных в конвенции по защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других целях (Страсбург, 1986). Нами была разработана экспериментальная модель прерывистой алкогольной интоксикации, обладающая высокой воспроизводимостью, позволяющая изучить метаболические нарушения в условиях, максимально приближенных к реальным [8]. Были апробированы два разных режима прерывистой алкоголизации.

Прерывистая алкогольная интоксикация с 4-дневным периодом введения этанола (ПАИ-4): животным внутривенно вводили 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела 2 раза в сутки в течение 4-х суток; затем в течение 3-х суток внутривенно вводили эквивалентное количество воды, такой цикл повторяли 4 раза.

Прерывистая алкогольная интоксикация с 7-дневным периодом введения этанола (ПАИ-7): внутривенно вводили 25% раствор этанола

в дозе 3,5 г/кг массы тела 2 раза в сутки в течение 7 суток; затем в течение 7 суток данным животным внутривенно вводили эквивалентное количество воды, данные циклы повторяли 2 раза.

Для выполнения корректной статистической обработки полученных результатов были сформированы две контрольные группы. Контроль 1 использовался для сравнения с группой ПАИ-4, контроль 2 – для сравнения с группой ПАИ-7. В контрольных группах применяли аналогичные схемы введения, однако раствор этанола был заменен на воду.

Определение спектра биохимических показателей в плазме крови выполнено с помощью биохимического анализатора KONELAB 30i (Финляндия) [4]. Уровень диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) определяем по [3]. Определение уровней аминокислот проводили в хлорных гомогенатах крови и тканей методом обращенно-фазной хроматографии на ВЭЖХ-системе Waters.

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 обсуждение

Прерывистая алкогольная интоксикация как в режиме ПАИ-4, так и в режиме ПАИ-7 сопровождается нарушением ряда биохимических параметров в плазме крови. При ПАИ-4 отмечается статистически значимое, в сравнении с контролем, повышение содержания глюкозы, ДК, МДА. В то же время на фоне ПАИ-4 снижается уровень мочевины и креатинина (табл. 1).

При алкоголизации животных в режиме ПАИ-7 в плазме крови повышались, в сравнении с контрольной группой, содержание глюкозы, ДК и МДА. При этом оказались повышенными, в сравнении с группой ПАИ-4, уровни мочевины, глюкозы, МДА, активность щелочной фосфатазы, АлАТ и ГГТП.

Рост уровней МДА и ДК в плазме крови животных в группах ПАИ-4 и ПАИ-7 свидетельствует о повышении интенсивности реакций перекисного окисления липидов. Более высокий, чем при ПАИ-4, уровень мочевины в группе ПАИ-7 как признак катаболизма белков является индикатором их использования в синтезе глюкозы из аминокислот через глюкозо-аланиновый шунт [12]. Это подтверждается повышенным содержанием глюкозы в плазме крови крыс группы ПАИ-7, причем этот показатель оказался выше, чем в группе ПАИ-4 (табл. 1).

Таблица 1. – Биохимические показатели плазмы крови крыс при прерывистой алкогольной интоксикации

Показатель	Контроль 1 к ПАИ-4	ПАИ-4	Контроль 2 к ПАИ-7	ПАИ-7
Общий белок, г/л	73,5±0,08	71,6±1,53	79,0±2,05	77,0±1,74
Мочевина, ммоль/л	5,68±0,38	3,69±0,31 *	4,76±0,37	5,33±0,23#
Мочевая к-та, ммоль/л	95,1±23,0	68,1±3,40	60,3±9,56	54,1±2,64
Креатинин, мкмоль/л	35,0±4,41	25,4±2,81*	40,4±3,71	37,4±2,60
Глюкоза, ммоль/л	5,28±0,11	7,21±0,17 *	7,84±0,24	8,71 ± 0,29*#
Щелочная фосфатаза, Ед/л	284,9±21,5	218,0±30,8	281,6±23,9	333,0 ± 26,5#
АлАТ, Ед/л	62,7±3,94	55,5±5,75	69,4±5,24	74,0±2,30#
ГГТП, Ед/л	21,4±1,88	18,4±1,95	23,1±1,69	25,0±1,51#
ДК, Ед/мл	0,81±0,08	1,06±0,08*	1,14±0,06	1,24±0,07*
МДА, моль/л	1,05±0,033	2,18±0,17*	0,96±0,007	3,03±0,34*#

Примечание: * - статистически значимые изменения с соответствующим контролем;

- статистически значимые изменения с группой ПАИ-4

АлАТ является классическим маркером поражения печени [11], поэтому можно говорить о проявлении гепатотоксического эффекта этанола при алкоголизации в режиме ПАИ-7. Повышение активности АлАТ в группе ПАИ-7 можно объяснить и усилением синтеза фермента под действием глюкокортикоидов в условиях интоксикационного стресса. Это означает не что иное, как готовность биологических систем трансминировать аланин в пируват для синтеза глюкозы (глюконеогенез). Известно, что при алкогольных нагрузках наблюдается повышение уровня глюкокортикоидов в плазме крови [12].

Алкоголизация организма приводит к дисбалансу практически всех метаболических процессов организма. Аминокислоты, являясь исходным материалом для биосинтеза белка и высокоактивных биологических соединений, играют также роль посредников, связывающих основные метаболические пути: гликолиза, цикла трикарбоновых кислот, глюконеогенеза [14]. Использование аминокислот как энергетического субстрата более предпочтительно, так как они напрямую поступают в ЦТК и их биохимические пути превращения наиболее выгодны [5]. То есть в экстремальных условиях организму оптимально использовать аминокислоты, чем углеводы или липиды. В свою очередь аминокислотный пул плазмы крови является интегральным биохимическим показателем, позволяющим комплексно оценить функциональное состояние организма. Литературные данные свидетельствуют о наличии ряда изменений в пуле аминокислот плазмы крови как после острой, так и после хронической алкогольной интоксикации [13, 15]. Сведения о состоянии аминокислотного пула в крови при такой разновидности алкоголизма, как прерывистая алкоголизация, до сих пор единичны [7]. Именно прерывистый режим употребления алкоголя наиболее приближен к реальным условиям жизни человеческого общества. В связи с этим актуальным и насущным является изучение изменения биохимических показателей и пула свободных аминокислот при разных режимах прерывистой алкоголизации организма.

В плазме крови после 4-х прерывистых циклов алкогольной интоксикации (группа ПАИ-4) досто-

верно повысился уровень β-аланина, снизилось содержание цистеиновой кислоты и оксипролина.

При другом режиме алкоголизации (ПАИ-7) в плазме крови снизились уровни глутамина, оксипролина и этаноламина. При этом в данной группе оказалось снижено, в сравнении с ПАИ-4, содержание валина, аспарагина, этаноламина и β-аланина. Анализ структуры пула свободных аминокислот плазмы крови выявил в группе ПАИ-7 снижение отношения аминокислот с разветвленной углеводородной цепью к ароматическим аминокислотам (АРУЦ/ААК). Следует отметить, что выявленное уменьшение концентрации аминокислот с разветвленной цепью, подтверждаемое снижением соотношения АРУЦ/ААК (антитоксический индекс печени, индекс Фишера), может косвенно свидетельствовать о нарушении функции печени [1].

ПАИ не приводит к значительным изменениям пула свободных аминокислот в печени (табл. 2). На фоне ПАИ-4 и ПАИ-7 повышаются только соотношения АРУЦ/ААК при стабильности других показателей пула.

Таблица 2. – Основные показатели аминокислотного пула печени крыс при прерывистой алкогольной интоксикации

Показатель	Контроль 1 к ПАИ-4	ПАИ-4	Контроль 2 к ПАИ-7	ПАИ-7
Сумма протеиногенных АК	26759±702	24933±1345	26571±1563	24977±922
АРУЦ/ААК	3,99±0,08	4,90±0,17 *	4,17±0,56	6,00±0,59*
Заменимые/незаменимые	6,80±0,24	6,60± 0,55	6,89±0,43	5,94±0,30
Гликогенные/кетогенные	13,85±0,70	13,50±1,31	16,18±2,46	13,87±0,58

В сердце при режиме алкоголизации ПАИ-4 достоверно увеличились концентрации цистеиновой кислоты, аспартата, глутамата и аргинина по сравнению с контролем. После ПАИ-7 из всего исследованного пула аминокислот сердца достоверно повысились концентрации глутамата, β-аланина и этаноламина. Более выраженные изменения структуры пула свободных аминокислот в сердце отмечаются при ПАИ-4 (табл. 3). На фоне этого режима алкоголизации отмечается повышение соотношения заменимые/незаменимые, гликогенные/кетогенные аминокислоты.

Таблица 3. – Основные показатели аминокислотного пула сердца крыс при прерывистой алкогольной интоксикации

Показатель	Контроль 1 к ПАИ-4	ПАИ-4	Контроль 2 к ПАИ-7	ПАИ-7
Сумма протеиногенных аминокислот	26450±2704	32959±1719	31036±1686	33989±1053
АРУЦ/ААК	3,31±0,120	2,89±0,396	3,80±0,672	2,92±0,090
Заменимые/незаменимые аминокислоты	8,67±0,436	9,91±0,384 *	9,54±0,653	10,5±0,5
Гликогенные/кетогенные аминокислоты	15,3±0,6	26,4±1,5*	17,0±1,1	18,6±1,3

Аналогичные с миокардом сдвиги пула свободных аминокислот при ПАИ-4 регистрируются и в скелетной мускулатуре. Здесь также повышаются коэффициенты заменимые/незаменимые, гликогенные/кетогенные аминокислоты в сравнении с контрольной группой. При ПАИ-7 в мышечной ткани эти отклонения не выявляются.

Выводы

1. Интегральный анализ полученных результатов указывает на то, что степень выраженности метаболических нарушений и их тканевая локализация определяется формой прерывистой алкогольной интоксикации.

2. В плазме крови при ПАИ-4 отмечается гипергликемия, пониженное содержание мочевины и креатинина. Отклонения проявляются и при ПАИ-7. Однако при последней форме алкоголизации выявляется тенденция к повышению в крови активности маркерных печеночных ферментов. Существенных нарушений структуры пула свободных аминокислот в плазме крови при прерывистой алкоголизации не происходит, за исключением снижения отношения АРУЦ/ААК при ПАИ-7. Также не происходит значи-

тельных изменений аминокислотного пула в печени – здесь повышается только соотношение АРУЦ/ААК.

3. В сердце и мышечной ткани выраженные нарушения структуры пула свободных аминокислот при прерывистой алкоголизации проявляются в увеличении удельной доли заменимых и гликогенных аминокислот. На фоне ПАИ-7 в этих тканях нарушений структуры аминокислотного пула не отмечается.

4. Прерывистая алкогольная интоксикация сопровождается формированием метаболического дисбаланса. Причем наиболее выраженной гепатотоксичностью обладает ПАИ-7, тогда как отклонения структуры пула свободных аминокислот в сердце и мышечной ткани в большей степени проявляются при ПАИ-4.

Литература

1. Адаменко, Е. И. Характеристика спектра свободных аминокислот сыворотки крови у больных циррозом печени / Е. И. Адаменко, Н. Н. Селивончик, О. П. Попова и др. // Весті НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2005. – № 2. – С. 63 – 68.

2. Анохина, И. П. Структура и функция α 2-адренергических рецепторов и их роль в развитии алкогольной и наркотической зависимости / И. П. Анохина, Н. Л. Векшина, В. А. Томилин // Наркология. – 2008. – № 1. – С. 22 – 28.

3. Гаврилов, В. Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В. Б. Гаврилов, М. И. Мишкорудная // Лабораторное дело. – 1983. – № 3. – С. 33 – 36.

4. Камышников, В. С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике / В. С. Камышников – Минск: Беларусь. – 2002. – Т. 2

5. Коротаева, К. М. Положительный ионотропный эффект тирозина, гистидина и триптофана в опытах с изолированным миокардом сердца человека / К. Н. Коротаева, В. И. Циркин, В. А. Вязников // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 2012. – Т. 153, 3 1. – С. 59 – 61.

6. Лелевич, В. В. Новые подходы в моделировании алкогольной интоксикации / В. В. Лелевич и др. // Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости: материалы межд. симпозиума – Гродно: ИБХ. – 2004. – С. 86 – 90.

7. Лелевич, В. В. Динамика изменения пула свободных аминокислот плазмы крови крыс в условиях прерывистой алкоголизации / В. В. Лелевич, О. В. Артемова // Весті НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2007. – № 4. – С. 93 – 96.

8. Лелевич, В. В. Способ моделирования прерывистой алкогольной интоксикации у крыс в эксперименте / В. В. Лелевич, С. В. Лелевич // Патент на изобретение № 14289 от 01.11.2011.

9. Лелевич, С. В. Влияние хронической алкогольной интоксикации на гликолиз и пентозофосфатный путь в мышечной ткани крыс / С. В. Лелевич, А. Н. Бородинский // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2007. – № 4. – С. 34 – 36.

10. Лелевич, С. В. Особенности обмена глюкозы в печени, содержания тиреоидных гормонов и инсулина у крыс при алкогольной интоксикации / С. В. Лелевич // Весті НАН Беларусі. Сер. мед. навук. – 2009. – № 2. – С. 21 – 27.

11. Рослыж, И. М. Биохимия и алкоголизм: роль биохимических показателей плазмы крови в оцен-

Literatura

1. Adamenko, E. I. Charakteristika spektra svobodnyh aminokislot syvorotki krvi u bol'nyh cirrozom pecheni / E. I. Adamenko, N. N. Selivonchik, O. P. Popova i dr. // Vesci NAN Belarusi. Ser. med. navuk. – 2005. – № 2. – S. 63 – 68.

2. Anohina, I. P. Struktura i funkcija α 2-adrenergicheskikh receptorov i ih rol' v razvitii alkogol'noj i narkoticheskoj zavisimosti / I. P. Anohina, N. L. Vekshina, V. A. Tomilin // Narkologija. – 2008. – № 1. – S. 22 – 28.

3. Gavrilov, V. B. Spektrofotometricheskoe opredelenie sodержaniya gidroperekisej lipidov v plazme krvi / V. B. Gavrilov, M. I. Mishkorudnaja // Laboratornoe delo. – 1983. – № 3. – S. 33 – 36.

4. Kamyshnikov, V. S. Spravochnik po kliniko-biohimicheskoj laboratornoj diagnostike / V. S. Kamyshnikov – Minsk: Belarus'. – 2002. – T. 2

5. Korotaeva, K. M. Polozhitel'nyj ionotropnyj jeffekt tirozina, gistidina i triptofana v opytah s izolirovannym miokardom serdca cheloveka / K. N. Korotaeva, V. I. Cirkin, V. A. Vjaznikov // Bjull. jeksperim. biol. i med. – 2012. – T. 153, 3 1. – S. 59 – 61.

6. Lelevich, V. V. Novye podhody v modelirovanii alkogol'noj intoksikacii / V. V. Lelevich i dr. // Sovremennye aspekty izuchenija alkogol'noj i narkoticheskoj zavisimosti: materialy mezhd. simpoziuma – Grodno: IBH. – 2004. – S. 86 – 90.

7. Lelevich, V. V. Dinamika izmenenija pula svobodnyh aminokislot plazmy krvi krys v uslovijah preryvistoj alkogolizacii / V. V. Lelevich, O. V. Artemova // Vesci NAN Belarusi. Ser. bijal. navuk. – 2007. – № 4. – S. 93 – 96.

8. Lelevich, V. V. Sposob modelirovanija preryvistoj alkogol'noj intoksikacii u krys v jeksperimente / V. V. Lelevich, S. V. Lelevich // Patent na izobretenie № 14289 ot 01.11.2011.

9. Lelevich, S. V. Vlijanie hronicheskoj alkogol'noj intoksikacii na glikoliz i pentofofosfatnyj put' v myshechnoj tkani krys / S. V. Lelevich, A. N. Borodinskij // Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. – 2007. – № 4. – S. 34 – 36.

10. Lelevich, S. V. Osobennosti obmena gljukozy v pecheni, sodержaniya tireoidnyh hormonov i insulina u krys pri alkogol'noj intoksikacii / S. V. Lelevich // Vesci NAN Belarusi. Ser. med. navuk. – 2009. – № 2. – S. 21 – 27.

11. Roslyj, I. M. Biohimija i alkogolizm: rol' biohimicheskikh pokazatelej plazmy krvi v ocenke metabolicheskogo statusa bol'nyh alkogolizmom / I. M. Roslyj, S. V. Abramov, M. G. Vodolazhskaja,

- ке метаболического статуса больных алкоголизмом / И. М. Рослий, С. В. Абрамов, М. Г. Водолажская, Ю. А. Шуляк // Вопросы наркологии. – 2005. - № 1. – С. 59 – 67.
12. Шабанов, П. Д. Биология алкоголизма / П. Д. Шабанов, С. Ю. Калишевич. – СПб: Лань. – 1998. – 272 с.
13. Badawy, A. A. Tryptophan metabolism in alcoholism / A. A. Badawy // Adv. Exp. Med. Biol. – 1999. – V. 467. – P. 265 – 272.
14. Charlton, M. Branched – chain amino acid enriched supplements as therapy fo liver disease / M. Charlton // J. Nuts. – 2006 / - V. 136. – P. 295 – 298.
15. Danchour, A. Effects of acamprosate on excitatory amino acid during multiple ethanol withdrawal periods / A. Danchour, P. De Witte // Alcohol. Clin. Exp. Res. - 2003. – V. 23, № 3. – P. 171 – 178.
- Ju. A. Shuljak // Voprosy narkologii. – 2005. - № 1. – S. 59 – 67.
12. Shabanov, P. D. Biologija alkogolizma / P. D. Shabanov, S. Ju. Kalishevich. – SPb: Lan'. – 1998. – 272 s.
13. Badawy, A. A. Tryptophan metabolism in alcoholism / A. A. Badawy // Adv. Exp. Med. Biol. – 1999. – V. 467. – P. 265 – 272.
14. Charlton, M. Branched – chain amino acid enriched supplements as therapy fo liver disease / M. Charlton // J. Nuts. – 2006 / - V. 136. – P. 295 – 298.
15. Danchour, A. Effects of acamprosate on excitatory amino acid during multiple ethanol withdrawal periods / A. Danchour, P. De Witte // Alcohol. Clin. Exp. Res. - 2003. – V. 23, № 3. – P. 171 – 178.

PATHOCHEMICAL EFFECTS OF INTERMITTENT ALCOHOL INTOXICATION IN RATS

Lelevich V. V.

Educational Establishment «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

The article provides the analysis of biochemical changes in the blood plasma and tissues of rats at two different modes of intermittent alcohol intoxication (DAI-4 and DAI-7). During DAI-4 the levels of glucose, diene conjugates, malonic dialdehyde are increased, while urea and creatinine are lowered in blood plasma. DAI-7 is accompanied by hyperglycemia and increased concentration of lipid peroxidation products. The structure of the free amino acids pool in DAI largely changes in the heart and skeletal muscles rather than in blood and liver.

Key words: *intermittent alcohol intoxication, free amino acids pool, liver, heart, muscle tissue.*

Адрес для корреспонденции: e-mail: kbh@tgrsmu.by

Поступила 27.02.2015