

СОСТОЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ ГОЛОВНОГО МОЗГА И МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ В ПЕЧЕНИ И СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЕ КРЫС ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ АБСТИНЕНЦИИ

Лелевич С.В.¹, Барковский Е.В.²

¹УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Беларусь

²УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
Минск, Беларусь

1230009, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Горького, 80

E-mail: slevich@yandex.ru

Статья поступила 08.04.2013

В эксперименте было изучено состояние нейромедиаторных систем головного мозга, а также показатели углеводного обмена в печени и скелетной мускулатуре при алкогольном абстинентном синдроме. Были отмечены стадийные нарушения нейромедиации в коре больших полушарий и таламической области, метаболизма глюкозы в печени и скелетной мускулатуре в динамике развития алкогольной абстиненции. Выраженность этих метаболических отклонений имеет временную синхронизацию, как в головном мозге, так и в периферических тканях (печень, скелетная мускулатура). Патохимические изменения наиболее выражены на высоте поведенческих симптомов абстиненции (1-е сутки) с относительной нормализацией через 3-е суток и повторным проявлением на 7-е сутки после прекращения алкоголизации.

Ключевые слова: алкоголь, крысы, печень, мышцы, глюкоза, дофамин, ГАМК

Под алкогольным абстинентным синдромом (ААС) понимают симптомокомплекс соматических, неврологических и психопатологических расстройств, возникающих при прекращении потребления алкоголя или снижении его доз. Данное состояние является одним из показателей сформировавшейся физической зависимости от алкоголя, а течение абстинентного синдрома зависит от продолжительности употребления и доз этанола, а также функциональных особенностей организма [9, 12–14].

Абстинентные состояния изучаются после различных по длительности периодов алкоголизации и способов введения этанола [6, 10, 11]. Одним из важнейших биологических эффектов этанола является разжижение клеточных мембран,

которое при длительном введении алкоголя сменяется их ригидностью. Это, в свою очередь, приводит к нарушению транспорта в нейроны и клетки глии глюкозы — основного энергетического субстрата. Одновременно с этим в крови экспериментальных животных значительно возрастает содержание масляной и молочной кислот [8]. Они проходят через клеточные мембраны и становятся основными энергетическими субстратами для многих процессов в нейронах. После прекращения введения алкоголя возникает дефицит ставших уже привычными для клеток головного мозга источников энергии. Ее недостаток приводит к снижению образования ГАМК в нейронах и росту концентрации хлора. Клетки головного мозга оказываются не в состоянии быстро удалять нейромедиаторы из перинеуронального пространства, что влечет за собой формирование состояния гипервозбудимости.

Имеются данные о нарушениях углеводно-энергетического обмена в головном мозге крыс при ААС [8]. Выявленные при этом изменения носят стадийный характер с максимумом отклонений через одни сутки и повторным проявлением на седьмые сутки отмены этанола. Снижение суммарного содержания высокоэнергетических соединений, обнаруженное в данных условиях, наиболее выражено в коре больших полушарий и стволе головного мозга [8]. Кроме того, ААС оказывает непосредственное влияние на функционирование ключевых нейромедиаторных систем головного мозга [1, 8]. Прежде всего это касается дофаминергической нейромедиации в стволовых и лимбических отделах [1]. Имеются данные о вовлечении в патологический процесс при этом также серотонинергической, норадренергической и ГАМК-ергической нейромедиаторных систем [8].

Вместе с тем, выявленные метаболические нарушения, характерные для ААС, получены в различных экспериментальных условиях и не позволяют сформировать целостную картину развития данной патологии. Ранее нами было изучено состояние основных нейромедиаторных систем головного мозга [8], нарушения обмена глюкозы в печени [6] и скелетной мускулатуре [7] при моделировании ААС. В этих работах показаны изменения отдельных метаболических звеньев в соответствующих тканях. Для воссоздания целостной патохимической картины развития алкогольной абстиненции с учетом центральных (головной мозг) и периферических (печень, скелетная мускулатура) компонентов нами был проведен сравнительный интегральный анализ метаболических нарушений в этих тканях, полученных в одной унифицированной модели.

Цель работы — сравнительная характеристика центральных (нейромедиаторы головного мозга) и периферических (показатели углеводного обмена в печени и скелетной мускулатуре) метаболических механизмов в динамике развития ААС.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании было использовано 40 белых беспородных крыс-самцов, массой 180–200 г, которые находились на стандартном рационе вивария со сво-

бодным доступом к воде. ААС моделировали по Majchrowich в модификации [5]. Животные были разделены на пять равных групп. Особи 1-й группы (контроль) внутрижелудочно (в/ж) получали 0,9%-ный раствор NaCl 2 раза в сутки. Крысам 2–5-й групп в/ж вводили 25%-ный раствор этанола в дозе 5 г/кг массы тела 2 раза в сутки с интервалом в 12 ч на протяжении 5 суток. Животных 2-й, 3-й, 4-й и 5-й групп декапитировали через 3 ч, 1, 3 и 7 суток соответственно после последнего введения этанола.

В гомогенатах печени и скелетной мускулатуры с помощью высокоспецифичных методов определяли активность гексокиназы (ГК) и глюкокиназы (ГЛК), фосфофруктокиназы (ФФК), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГДГ) и транскетолазы (ТК), а также содержание основных субстратов углеводного обмена — глюкозы, глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф), пирувата, лактата и пентоз [6]. В сыворотке с использованием глюкозооксидазного метода определяли концентрацию глюкозы [6]. Уровень инсулина в крови устанавливали, применяя радиоиммунологический анализ.

В коре больших полушарий и таламической области головного мозга методом высоко-эффективной жидкостной хроматографии определяли уровень нейромедиаторов и нейромедиаторных аминокислот — дофамина, 3,4-диоксифенилуксусной кислоты, гомованилиновой кислоты, норадреналина, 5-окситриптофана, серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты, ГАМК, глутамата, аспартата, глицина, триптофана. Статистическую обработку данных проводили с использованием методов непараметрической статистики (U-критерий Манна–Уитни), в качестве дополнительного способа обработки был использован пошаговый дискриминантный анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Состояние отдельных нейромедиаторных систем при развитии ААС претерпевает индивидуальные изменения и определяется регионом ЦНС. Форсированная алкоголизация в течение 5 дней (2-я группа) не приводит к существенным изменениям концентрации исследуемых нейромедиаторов и нейромедиаторных аминокислот в коре больших полушарий и таламусе [8]. На высоте ААС (3-я группа) в коре больших полушарий отмечают нарушения функционирования дофаминергической и серотонинергических систем, что проявляется в существенном росте уровней дофамина и серотонина, 5-окситриптофана и 5-оксииндолуксусной кислоты. Кроме того, в данном отделе мозга животных этой группы отмечается рост концентраций глутамата и аспартата [8]. Последнее согласуется с указаниями об участии так называемого «глутаматергического фактора» в механизмах формирования ААС [2].

В качестве дополнительного метода статистической обработки с целью демонстрации разграничения экспериментальных групп в коре больших полу-

шарий по всему кругу исследованных показателей был использован метод пошагового дискриминантного анализа. На *рисунке 1* все экспериментальные группы располагаются отдельно друг от друга, перекрытий значений нет. Наиболее отдаленное положение по 1-й дискриминантной функции (Root 1) от контроля занимает 3-я группа. Данная модель является статистически значимой (F (критерий Фишера)=54,84; $p < 0,01$). Наиболее информативными показателями, включенными в модель, являются концентрации дофамина, 3,4-диоксифенилуксусной кислоты, норадреналина, триптофана и глутамата. Наибольший вклад в разделительную способность дискриминантной функции 1 вносят переменные глутамат, 3,4-диоксифенилуксусная и гомованилиновая кислота. Коэффициент канонической корреляции R_1 , равный 0,99, указывает на наличие сильной зависимости между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Коэффициент R_2 , составляющий величину 0,99, говорит о сильной связи групп и 2-й функции (Root 2). Разделительная способность данной функции обеспечивается показателями дофамина, норадреналина и аспартата.

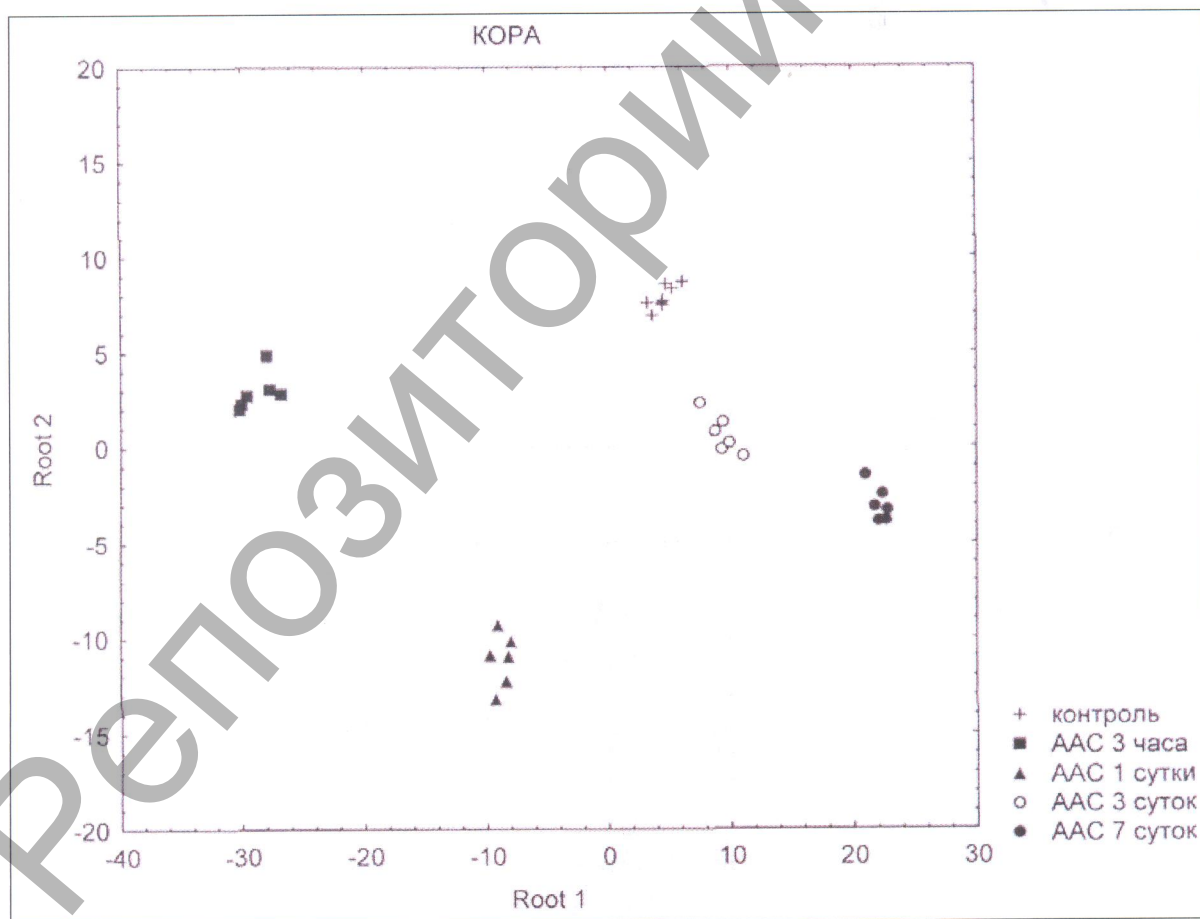


Рис. 1. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей в коре больших полушарий крыс на плоскости двух главных компонент при ААС

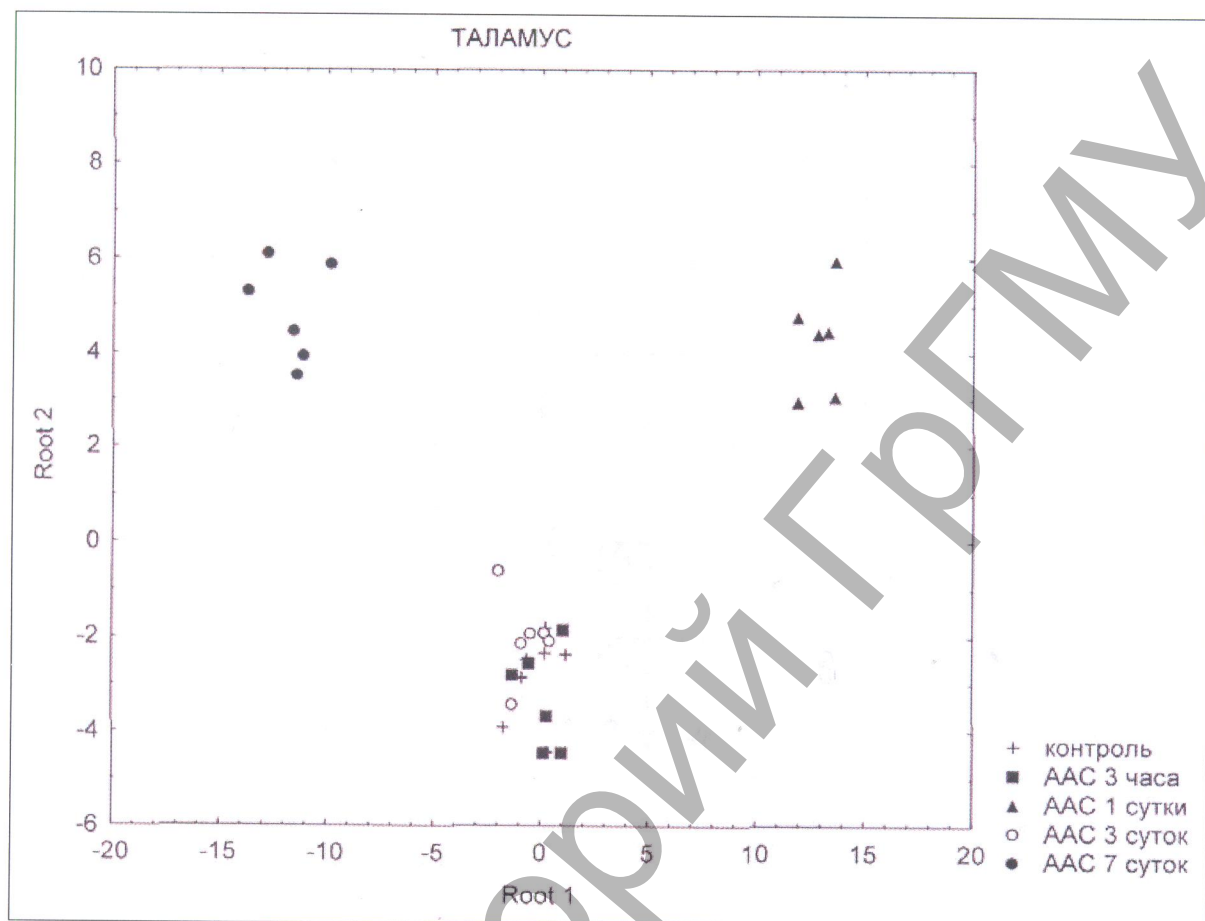


Рис. 2. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей в таламической области крыс на плоскости двух главных компонент при ААС

В таламусе при суточной абстиненции также отмечаются существенные изменения показателей нейромедиации [8]. Наряду с ростом содержания дофамина, регистрировалось снижение концентрации 3,4-диоксифенилуксусной и гомованилиновой кислот, что указывает на замедление оборота дофамина в данном отделе мозга через сутки после прекращения форсированной алкоголизации. Кроме того, в таламусе у животных 3-й группы отмечается снижение концентрации серотонина и его метаболита — 5-оксииндолуксусной кислоты. Эти результаты, в известной степени, подтверждают точку зрения о том, что формирование ААС связано с накоплением дофамина в структурах мозга, что обуславливает основные клинические признаки данного состояния [1].

На рисунке 2 1-я, 2-я и 3-я группы занимают близкие положения. Данная модель является статистически значимой ($F=15,41$; $p<0,01$). Наиболее информативными показателями, включенными в модель, являются дофамин, гомованилиновая и 3,4-диоксифенилуксусная кислота, норадреналин и ГАМК. Наибольший вклад в разделительную способность дискриминантной функции 1 вносят переменные глутамат, гомованилиновая кислота и аспарат. Коэффи-

циент канонической корреляции R_1 , равный 0,99, указывает на наличие сильной зависимости между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Коэффициент R_2 , составляющий величину 0,95, говорит о сильной связи групп и 2-й функции (Root 2). Разделительная способность данной функции в основном обеспечивается показателями триптофана, 5-оксииндолуксусной кислоты и норадреналина.

Увеличение сроков алкогольной абстиненции до 3-х суток (4-я группа) несколько нормализует содержание изученных нейромедиаторов в структурах мозга. На фоне повышенного, в сравнении с контролем, уровня дофамина, норадреналина, гомованилиновой кислоты, нормализуется содержание серотонина и ГАМК в коре больших полушарий [8]. Нейромедиаторные изменения в данном отделе мозга при ААС длительностью 3 суток согласуются с классическими представлениями о развитии этого патологического состояния. При прекращении приема алкоголя формируется усиленный кругооборот катехоламинов, прежде всего дофамина, в головном мозге, что обуславливает развитие основных клинических признаков абстинентного синдрома — состояния тревожности и возбуждения [5]. В таламусе у особей 4-й группы отмечается снижение концентрации гомованилиновой и 5-оксииндолуксусной кислот.

Метод пошагового дискриминантного анализа также указывает на относительную нормализацию процессов нейромедиации в коре (рис. 1) и таламической области (рис. 2) у особей 4-й группы. Об этом говорит размещение их реализаций на плоскости двух главных компонент ближе к контрольной группе.

ААС длительностью 7 суток характеризуется определенной нормализацией содержания изученных нейромедиаторов в коре. На фоне сниженной концентрации 3,4-диоксифенилуксусной кислоты отмечается увеличение содержания норадреналина и триптофана [8]. В таламусе животных 5-й группы на фоне неизмененного содержания дофамина и норадреналина отмечается снижение концентрации серотонина и его метаболита — 5-оксииндолуксусной кислоты.

Это подтверждает и расположение изученных показателей особей 5-й группы при реализации пошагового дискриминантного анализа. В коре больших полушарий отмечается более выраженное их удаление от контрольной группы, в сравнении с 4-й группой (рис. 1). В таламической области удаление показателей от контроля при 7-суточной абстиненции выражено еще в большей степени (рис. 2).

Состояние абстиненции, моделируемое аналогичным образом, сопровождается также стадийными нарушениями функционирования гликолиза и пентозофосфатного пути (ПФП) в печени [6]. Форсированная алкогольная интоксикация (2-я группа) приводит к ингибированию активности ферментов начальных стадий гликолиза — ГК и ГЛК, снижению уровня Г-6-Ф и пирувата, активизации анаэробного пути метаболизма глюкозы. Функциональное состояние ПФП при этом не изменялось. На высоте проявления алкогольной аб-

стиненции (3-я группа) в печени отмечается ингибирование, как ферментов гликолиза, так и ПФП. Это подтверждает ранее высказываемые предположения, что ААС развивается на фоне энергодифицита [4] и применение углеводно-электролитных смесей способствует купированию ряда его симптомов [15]. Увеличение сроков абстиненции до 3-х суток сопровождалось определенной стабилизацией функционального состояния гликолиза в печени. Отмена алкоголя спустя 7 суток приводила к повторной, после суточной абстиненции, дезорганизации функционирования гликолиза и ПФП в печени с признаками их ингибирования. Вышеуказанные изменения проявляются и в графическом выражении при пошаговом дискриминантном анализе (рис. 3).

На рисунке 3 по 1-й дискриминантной функции (Root 1) группы контроль, ААС 3 суток, ААС 1 сутки а также ААС 7 суток занимают близкие положения, образуя пары реализаций. Данная модель является статистически значимой ($F=15,80$; $p<0,01$). Наиболее информативными показателями, включенными в модель, являются ГК, ГЛК и ФФК. Наибольший вклад в разделительную способность дискриминантной функции 1 вносят переменные ГЛК, ФФК и Г-6-ФДГ. Коэффици-

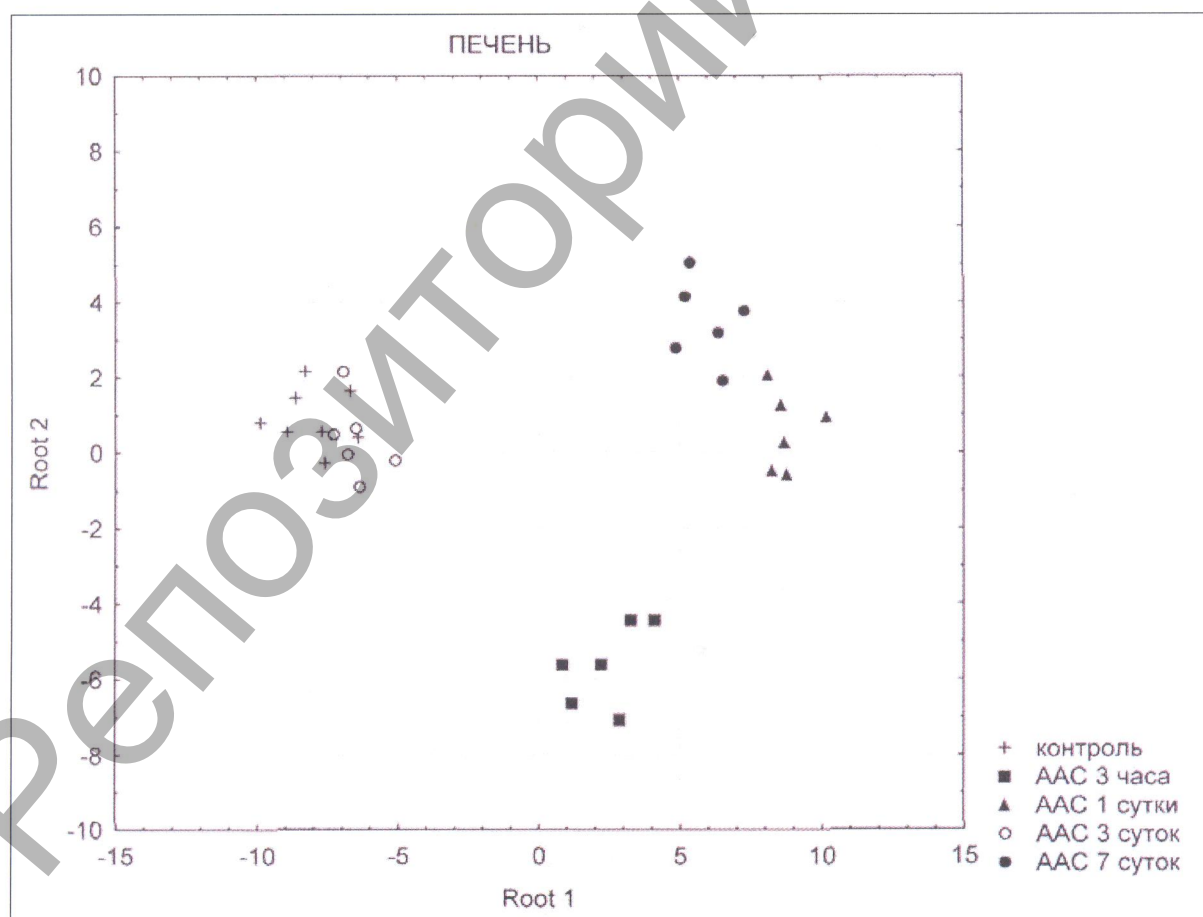


Рис. 3. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей в печени крыс на плоскости двух главных компонент при ААС

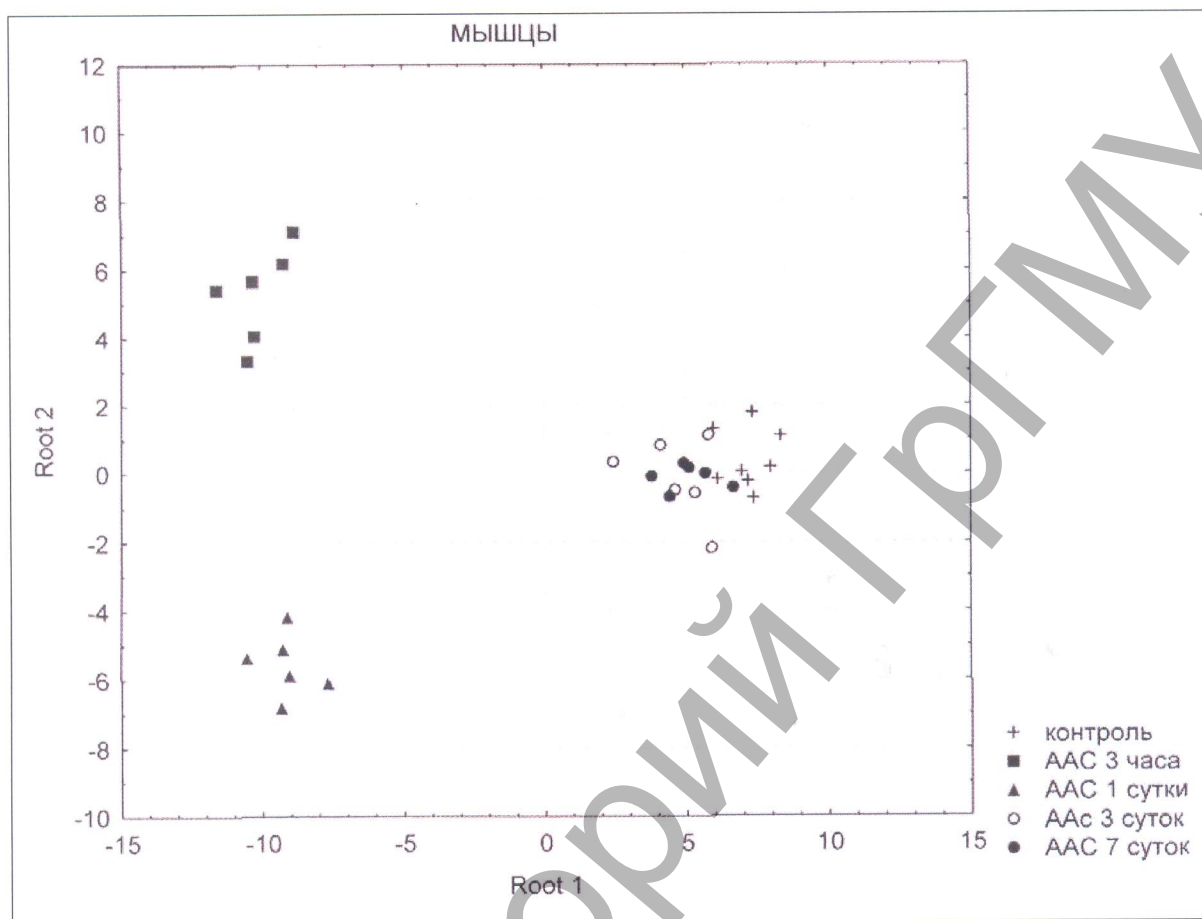


Рис. 4. Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей в скелетной мускулатуре крыс на плоскости двух главных компонент при ААС

ент канонической корреляции R1, равный 0,99, указывает на наличие сильной зависимости между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Коэффициент R2, составляющий величину 0,95, говорит о сильной связи групп и 2-й функции (Root 2). Разделительная способность данной функции в основном обеспечивается показателями ГК, ГЛК и Г-6-ФДГ.

Стадийный характер нарушений путей метаболизма глюкозы в динамике ААС проявляется и в скелетной мускулатуре. Его ингибирующая направленность и временная выраженность аналогична таковой для печени. Спустя 1 сутки после прекращения алкоголизации (3-я группа) в скелетной мускулатуре снижается активность ФФК, ГК, содержание Г-6-Ф и пентоз [5]. Увеличение сроков абстиненции до 3 суток сопровождается нормализацией функционирования основных путей метаболизма глюкозы в скелетной мускулатуре. Через 7 суток после прекращения алкоголизации выявлены повторные, после предыдущей нормализации, нарушения метаболизма глюкозы, выражающейся в ингибировании ГК и снижении уровня Г-6-Ф.

При обработке исследуемых показателей мышечной ткани методом пошагового дискриминантного анализа группы контроль, ААС 3 суток и ААС 7 суток занимают близкие положения, в отличие от групп ААС 3 ч и ААС 1 сутки. Данная модель является статистически значимой ($F=12,44$; $p<0,01$). Наиболее информативными показателями, включенными в модель, являются ГК, ПК, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) и лактат. Наибольший вклад в разделительную способность дискриминантной функции 1 вносят переменные ЛДГ, лактат, ПК и глюкоза. Коэффициент канонической корреляции R_1 , равный 0,99, указывает на наличие сильной зависимости между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Коэффициент R_2 , составляющий величину 0,96, говорит о сильной связи групп и 2-й функции (Root 2). Разделительная способность данной функции в основном обеспечивается показателями ПК, ФФК, глюкоза и Г-6-Ф.

Таким образом, при ААС отмечаются стадийные нарушения нейромедиаторных систем в коре больших полушарий и таламической области, метаболизма глюкозы в печени и скелетной мускулатуре в динамике развития этого состояния. Выраженность этих метаболических отклонений имеет временную синхронизацию, как в головном мозге, так и в периферических тканях (печень, скелетная мускулатура). Патохимические изменения наиболее выражены на высоте поведенческих симптомов абстиненции (1-е сутки) с относительной нормализацией через 3 суток и повторным проявлением на 7 сутки после прекращения алкоголизации.

Это указывает на формирование при ААС динамической патохимической картины, включающей центральные (нейромедиаторные системы мозга) и периферические (метаболизм глюкозы в печени и скелетной мышце) звенья.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о тесной взаимосвязи и вовлечении в патогенетические механизмы ААС основных регуляторных систем — нейроэндокринной, гормональной, пептидергической [11]. Данные метаболические отклонения, очевидно, имеют прямое отношение к проявлению основных клинических симптомов ААС — психических, неврологических и соматовегетативных [3].

Данные о повторных, после предыдущей нормализации, отклонениях нейромедиации в головном мозге, обмена глюкозы в печени и скелетной мускулатуре через неделю после прекращения алкоголизации имеют не только теоретическое, но и прикладное значение. Они могут быть использованы для понимания молекулярных механизмов соматических, функциональных и поведенческих расстройств в отдаленные сроки абстиненции, а также выработке комплексных методов их коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Анохина И.П., Веретинская А.Г., Васильева Г.Н., Овчинников И.В. Общность патогенетических механизмов формирования алкоголизма и наркоманий и пути

поиска средств для лечения этих заболеваний // Физиология человека. 2000. Т. 26, № 6. С. 74–81.

2. *Гехт А.Б., Полунина А.Г., Брюн Е.А., Гусев Е.И.* Неврологические нарушения у больных героиновой наркоманией при острой абстиненции и в раннем постабстинентном периоде // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. 2003. Т. 103, № 2. С. 9–15.

3. *Гофман А.Г.* Клиника алкогольного абстинентного синдрома // Вопросы наркологии. 2012. № 6. С. 82–90.

4. *Лелевич В.В.* Гипоэнергетическая гипотеза возникновения и развития алкоголизма // Материалы межд. науч. конф. ГГМИ. — Гродно: ГГМИ, 1993. Ч. 2. С. 336–337.

5. *Лелевич С.В.* Метаболизм глюкозы в печени крыс при алкогольном абстинентном синдроме // Вопросы наркологии. 2008. № 4. С. 101–107.

6. *Лелевич С.В.* Метаболические аспекты морфиновой наркомании. — Гродно: ГрГМУ, 2007. — 140 с.

7. *Лелевич С.В., Бородинский А.Н.* Нарушения метаболизма глюкозы в скелетной мускулатуре крыс в динамике алкогольного абстинентного синдрома // Вопросы наркологии. 2008. № 5. С. 87–92.

8. *Лелевич С.В., Дорошенко Е.М.* Состояние нейромедиаторных систем в некоторых отделах головного мозга крыс в динамике алкогольного постинтоксикационного синдрома // Экспериментальная и клиническая фармакология. 011. № 2. С. 29–33.

9. *Beauseigneur L., Verger G., Delage A.* Actualite des marqueurs biologiques dans l'alcoolisme // Journee d'alcoolologie de la Societe de psychiatrie du centre Auvergne et Limousin, Limoges, 7 avr., 2005 / Rev. fr. psychiat. et psychol. med. 2006. Vol. 10, № 95. P. 17–25.

10. *Frank J., Witte K., Schrod W., Schutt C.* Chronic alcoholism causes deleterious of innate immunity // Alcohol. Alcohol. 2004. Vol. 39, № 5. P. 386–392.

11. *Haddad J.J.* Alcoholism and neuro-immune-endocrine interactions: physiochemical aspects // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004. Vol. 15, № 2. P. 361–371.

12. *Hines I.N., Wheeler M.D.* Recent advances in alcoholic liver disease. III. Role of the innate immune response in alcoholic hepatitis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2004. Vol. 287, № 2. P. 310–314.

13. *Kuntz E., H.-D.* Alcohol-induced liver damage // Hepatology. Principles Practice. — Берлине: Heidelberg, 2006. P. 520–540.

14. *Motivala S.J., Dang J., Obradovic T. et al.* Leptin and cellular and innate immunity in abstinent alcoholics and controls // Alcohol. Clin. Exp. Res. 2003. Vol. 27, № 11. P. 1819–1824.

15. *Wright C., Talbott G.* The use of carbohydrate-electrolite supplements in residential treatment of chemical dependence // J. Physioact. Drugs. 1988. Vol 20, № 3. P. 337–348.