

УДК 613.6.01:613.6.02:613.6.06

ХАРАКТЕР МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТАМИ

Тимашева Г.В., Каримов Д.О., Репина Э.Ф., Смолянкин Д.А., Хуснутдинова Н.Ю.,
Мухаммадиева Г.Ф., Байгильдин С.С.

ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», г. Уфа, Россия

В настоящее время алкоголизм остается одной из важных медико-социальных проблем. Исследования многих авторов посвящены вопросам хронической алкогольной интоксикации, сопровождающейся дисбалансом гомеостаза, ведущих к заболеваниям гепатобилиарной системы. Актуальным является изучение метаболических нарушений в печени при острой интоксикации этанолом в высоких дозах и оценка эффективности своевременного применения гепатопротективных препаратов. Проведено острое внутрижелудочное введение этанола лабораторным животным, изучено корректирующее действие препаратов Мексидол и оксиметилурацил. Проведены биохимические исследования биоматериала лабораторных животных. Анализ полученных результатов установил, что при применении Мексидола и оксиметилурацила после воздействия этанола в высоких дозах происходит нормализация ряда биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени у лабораторных животных. При этом выявлена разнокачественность изменений активности ферментов, обусловленная адаптационными процессами и метаболическими сдвигами, что требует дальнейших исследований патогенетических механизмов острого воздействия этанола.

Ключевые слова: острая интоксикация, этанол, гепатопротекторное действие, этилметилгидроксипиридина сукцинат, оксиметилурацил.

Для цитирования: Тимашева Г.В., Каримов Д.О., Репина Э.Ф., Смолянкин Д.А., Хуснутдинова Н.Ю., Мухаммадиева Г.Ф., Байгильдин С.С. ХАРАКТЕР МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ЕЕ КОРРЕКЦИИ ПРЕПАРАТАМИ. Медицина труда и экология человека. 2020; 3:114-121

Для корреспонденции: Тимашева Гульнара Вильевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, gulnara-vt60@yandex.ru.

Финансирование: исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10315>

CHARACTER OF METABOLIC CHANGES IN EXPERIMENTAL ANIMALS EXPOSED TO ACUTE ALCOHOLIC INTOXICATION AND ITS CORRECTION WITH DRUGS

Timasheva G.V., Karimov D.O, Repina E.F., Smolyankin D.A, Khusnutdinova N.Y

Mukhammadieva G.F., Baigildin S.S.

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, Russia

Annotation. Alcoholism remains one of the most important medical and social problems currently. Research by many authors is devoted to the issues of chronic alcohol intoxication, accompanied by an imbalance of homeostasis, leading to diseases of the hepatobiliary system. The study of metabolic disorders in the liver in acute intoxication with high doses of ethanol and the assessment of the effectiveness of the timely use of hepatoprotective drugs is relevant. Acute intragastric administration of ethanol to laboratory animals was carried out, the corrective effect of oxymethyluracil was studied in comparison with Mexidol. Biochemical studies of the biomaterial of laboratory animals have been carried out. The analysis of the results obtained has established that when using "Mexidol" and oxymethyluracil after exposure to ethanol in high doses, a number of biochemical parameters that characterize the functional state of the liver in laboratory animals are normalized. At the same time, the difference in quality of changes in enzyme activity was revealed, due to adaptation processes and metabolic changes, which requires further studies of the pathogenetic mechanisms of acute exposure to ethanol.

Key words: acute intoxication, ethanol, hepatoprotective effect, ethylmethylhydroxypyridine succinate, oxymethyluracil

For citation: Timasheva G.V., Karimov D.O., Repina E.F., Smolyankin D.A., Khusnutdinova N.Yu., Mukhammadieva G.F., Baygildin S.S. CHARACTER OF METABOLIC CHANGES IN EXPERIMENTAL ANIMALS EXPOSED TO ACUTE ALCOHOLIC INTOXICATION AND ITS CORRECTION WITH DRUGS. Occupational health and human ecology. 2020; 3:114-121

For correspondence: Gulnara V. Timasheva , PhD in Biology, Leading Researcher at the Department of Toxicology and Genetics with the Experimental Clinic of Laboratory Animals, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, 450106, Ufa, gulnara-vt60@yandex.ru

Funding: The study was not financially supported.

Conflict of interest: The authors declare they have no conflict of interest.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24411/2411-3794-2020-10315>

Введение

В настоящее время в условиях, усугубляемых глобальной пандемией COVID-19, алкоголизм остается серьезной медицинской и социальной проблемой. Исследования многих авторов посвящены теме хронической алкогольной интоксикации, сопровождающейся дисбалансом гомеостаза [3, 5, 11]. При длительном употреблении алкоголя происходят глубокие и необратимые изменения, развиваются вторичный иммунодефицит и метаболические нарушения крови, выражающиеся в энзимологических изменениях [6, 10, 13].

В работе Рослый И.М. и др. [10] связали патогенез алкоголизма с двумя основными проблемами – митохондриальной гиперстимуляцией и белковой дистрофией, причем

второе состояние является следствием первого. Гипопротеинемия, отражающая снижение синтеза белка клетками печени, была расценена как тяжелый метаболический синдром. В работах других авторов [1, 5, 6, 10] также было обнаружено, что при алкогольном поражении в печени развиваются гипоксические явления, в результате которых образуется дефицит энергии, приводящий к нарушению функции гепатоцитов. Функциональная печеночная недостаточность под влиянием этанола характеризовалась снижением уровня белка, дислипидемией, значительным повышением активности сывороточных трансаминаз, уровня общего билирубина, а также токсическим поражением по воспалительному типу и недостаточности синтетических процессов.

Этанол – один из определяющих факторов патогенеза заболеваний гепатобилиарной системы, что требует фармакологической коррекции препаратами метаболического действия, сочетающимися как антигипоксическую, так и антиоксидантную активность. Одним из таких средств является этилметилгидроксипиридина сукцинат (международное непатентованное название) – Мексидол, обладающий гепатопротекторными, детоксикационными и мембранозащитными свойствами [5, 12].

В ранее проведенных экспериментальных исследованиях при поражении печени, вызванных промышленными токсикантами (тетрахлорметаном, дихлорэтаном, полихлорированными бифенилами) при длительных периодах интоксикации, были определены гепатопротекторные свойства ОМУ, который может ингибировать свободные радикалы, улучшать и стабилизировать процессы восстановления в клеточных мембранах [1, 7, 8].

В связи с этим **целью** исследования является изучение метаболических нарушений в печени при острой интоксикации этанолом и применении гепатопротективных препаратов на ранних сроках влияния.

Материалы и методы

Эксперименты проводились на половозрелых крысах-самцах массой 200-220 г. Все исследования проводились с соблюдением принципов, изложенных в Европейской Конвенции (г. Страсбург, Франция, 1986) [3], и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003).

Животным в опытных группах перорально вводили 40% раствор этанола из расчета 4 г/кг массы тела. Крысам в контрольной группе вводили эквивалентное количество дистиллированной воды. Корректирующее действие после алкогольной интоксикации проводили известными препаратами Мексидол (производитель ОАО «Верофарм», Россия), ОМУ (5-гидрокси-6-метилурацил; синтезирован в Институте органической химии Уфимского научного центра РАН) [7].

Все животные были разделены на 7 групп по 7 особей в каждой. 1-я группа – отрицательный контроль, 2-я А группа – положительный контроль, получала только этанол (забой через 24 часа), 2-я Б группа – положительный контроль, получала этанол (забой через 72 часа), 3-я А группа – этанол + Мексидол (50 мг/кг, внутривентрально, через 1 и 24 часа после токсиканта), 3-я Б группа – этанол + Мексидол (50 мг/кг, внутривентрально, через 1, 24, 48, 72 после этанола), 4-я группа – этанол + ОМУ (50 мг/кг, перорально, через 1 и 24 часа после токсиканта), 4-я Б группа – этанол + ОМУ (50 мг/кг, перорально через 1, 24, 48, 72

после токсиканта). Животных выводили из эксперимента путем декапитации через 1 час после последнего введения корректирующих препаратов.

В сыворотке крови лабораторных животных определяли активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), показатели липидного обмена – содержание холестерина и триглицеридов, а также уровень общего белка, мочевой кислоты. Для исследований были использованы тест-наборы и контрольные материалы производства ООО «Вектор-Бест» [4].

Статистическая обработка результатов исследования выполнена с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows. Расчет включал определение средних величин, стандартной ошибки, вероятность принятия нулевой гипотезы о совпадении распределений сравниваемых выборок. Различия признавали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

После введения этанола через 24 часа было выявлено повышение активности ЛДГ и щелочной фосфатазы (табл. 1). Следует подчеркнуть, что гиперферментемия ЩФ (на 18,2%) была статистически значимой по сравнению с животными в группе отрицательного контроля ($p = 0,004$), что указывало на признаки цитолитического и холестатического синдромов при воздействии этанола. В то же время активность АСТ и АЛТ была снижена через 24 часа воздействия алкоголя. Одновременно наблюдалось понижение уровня белка на 19,4% ($p = 0,001$), холестерина на 29,2% ($p = 0,001$), повышение содержания триглицеридов на 84,2% ($p = 0,004$) по сравнению с контрольной группой, что характеризовало нарушения печеночного метаболизма.

Таблица 1

Изменения биохимических показателей у животных при воздействии этанолом и коррекции гепатопротекторами через 24 часа эксперимента

Показатели	Группы животных			
	Контроль	Этанол	Этанол + Мексидол	Этанол + ОМУ
	1А	2А	3А	4А
АСТ, Е/л	185,23±3,23	174,39±10,36	178,81±13,4	163,59 ±6,85
АЛТ, Е/л	52,64±2,01	50,46±2,05	45,10±3,24	36,33±2,00
ЛДГ, Е/л	2162,4±100,4	2380,57±292,27	1455,37±105,26	1022,27±142,28
ЩФ, Е/л	308,8±15,9	364,43±12,7*	502,57±58,9	393,4±30,68
Холестерин, ммоль/л	2,19±0,12	1,55±0,14*	2,22±0,16**	1,93±0,12**
Триглицериды, ммоль/л	0,70±0,09	1,29±0,15*	1,08±0,23	1,13±0,22
Мочевая кислота, моль/л	123,9±3,29	133,69±3,26	124,74±2,88	118,3±7,62
Общий белок, г/л	70,7±0,75	57,33±1,28*	63,74±2,1	68,23±5,19**

*- статистически значимые различия между животными групп 1А и 2А, $p < 0,05$;

** - статистически достоверная разница между животными групп 2А, 3А, 4А, $p < 0,05$.

После 72 часов воздействия этанола нарушения обменных процессов усилились, что привело к снижению активности ЩФ на 37,8% ($p=0,004$), АСТ и АЛТ на 12,4% и 9,6% соответственно, по сравнению с контролем. У животных наблюдалось устойчивое снижение уровня белка на 26,0% ($p=0,001$), холестерина на 15,9% ($p=0,034$) и уровня триглицеридов в 2,1 раза ($p=0,002$), что является нарушением в адаптационных процессах и метаболических сдвигах (табл. 2). Следует отметить, что изменений содержания мочевой кислоты в сыворотке подопытных животных не обнаружено в обеих сериях эксперимента.

Таблица 2

Изменения биохимических показателей у животных при воздействии этанолом и коррекции гепатопротекторами через 72 часа эксперимента

Показатели	Группы животных			
	Контроль	Этанол	Этанол + Мексидол	Этанол + ОМУ
	1А	2Б	3Б	4Б
АСТ, Е/л	185,23±3,23	162,4±9,8	167,86±9,9	164,9±7,4
АЛТ, Е/л	52,64±2,01	47,56±2,00	36,69±3,30	35,47±3,007
ЛДГ, Е/л	2162,36±100,72	2201,43±173,57	1536,04±203,44	1916,97±176,96
Щелочная фосфатаза, Е/л	308,8±15,9	270,47±8,16*	285,56±30,79	309,31±24,74
Холестерин, ммоль/л	2,19±0,12	1,84±0,08*	1,74±0,09	2,26±0,12**
Триглицериды, ммоль/л	0,70±0,09	1,49±0,20*	1,02±0,19	0,74±0,12**
Мочевая кислота, моль/л	123,9±3,3	133,40±5,44	109,1±4,25	121,24±5,49
Общий белок, г/л	70,7±0,75	52,31±2,02*	63,87±2,7	66,29±1,22**

*- статистически достоверная разница между животными групп 1Б и 2Б, $p<0,05$;

** - статистически достоверная разница между животными групп 2Б и 3Б, 4Б, $p<0,05$.

Исследования, проведенные в отношении корректирующего действия препаратов, показали следующие результаты. Двукратное введение Мексидола (через 1 и 24 часа) на фоне воздействия этанола способствовало нормализации липидного профиля сыворотки крови – уровня холестерина и триглицеридов. При этом содержание холестерина достигло контрольных значений, выявлены статистически значимые различия по сравнению с животными группы 1А ($p=0,01$). Было обнаружено увеличение общего содержания белка на 11,1% по сравнению с животными в опытной группе. В то же время после введения Мексидола были обнаружены лишь незначительные положительные эффекты в метаболизме ферментов, а именно тенденция к восстановлению активности АСТ и ЩФ в сыворотке крови экспериментальных крыс.

После перорального введения ОМУ (через 1 и 24 часа) у животных наблюдалось повышение уровня общего белка на 19,0% до уровня 68,23±5,19 г/л, что характеризует

восстановление белково-синтетической функции гепатоцитов, а также нормализация содержания холестерина и триглицеридов по сравнению с 2А (табл. 1).

Четырехкратное применение ОМУ в дозе 50 мг/кг массы тела положительно сказалось на липидном и белковом обмене, содержание общего белка, холестерина и триглицеридов восстановилось до значений контрольной группы (табл. 2). Следует отметить, что различия в значениях этих показателей между группами 2Б и 4Б были статистически значимыми, что подтверждает значимое влияние ОМУ на улучшение метаболических процессов на ранних стадиях воздействия. После введения препарата Мексидол через 1, 24, 48 и 72 часа отмечалась нормализация уровня холестерина, триглицеридов и белка, а также активности ЩФ, хотя значения не достигли уровня контрольных значений.

Заключение

При введении этанола в дозе 50 мг/кг через 24, 72 часа у подопытных животных обнаруживалась гипопроотеинемия и дислипидемия, что указывало на функциональную недостаточность клеток печени. Снижение уровня белка характеризовало нарушение белково-синтетической функции печени. Обнаруженные изменения липидного обмена (снижение уровня холестерина и увеличение триглицеридов), вероятно, были компенсаторной реакцией на нарушения биоэнергетических механизмов, которые развиваются при отравлении этанолом. Эти нарушения согласуются с выводами ряда авторов о патогенетических механизмах алкогольной интоксикации [1, 2, 9, 10]. Изменения активности ферментов были отражением адаптивных процессов и метаболических изменений. Эти положения раскрыты в работах других авторов [4]. После применения Мексидола и ОМУ через 24 и 72 часа установлена нормализация ряда исследуемых биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние печени подопытных животных. Важно отметить, что коррекция ОМУ после интоксикации этанолом имела более выраженный характер. Уровень белка через 24 и 72 часа восстановился до значений контрольной группы. Аналогичная динамика была выявлена для показателей липидного профиля – холестерина и триглицеридов, значения которых статистически значимо улучшались по сравнению с опытными группами, что свидетельствует о восстановлении метаболических процессов.

Эти результаты подтверждают целесообразность использования гепатопротекторов на ранних стадиях отравления этанолом. В то же время, разное качество биохимических изменений, представляющих различные патогенетические механизмы острых токсических эффектов этанола, требуют дальнейших исследований.

Список литературы:

1. Бибик Е.Ю., Кривоколыско Б.С., Бурдейная А.А., Деменко А.В., Фролов К.А., Доценко В.В., Кривоколыско С.Г. Влияние частично гидрированных пиридинов, производных цианотиоацетамида, на показатели крови крыс с сочетанным парацетамольно-алкогольным поражением печени. *Кубанский научный медицинский вестник*. 2019; 26(2):106-114.
2. Бушмина О.Н., Долгарева С.А., Локтионов А.Л., Конопля А.И. Метаболические нарушения в условиях экспериментального острого деструктивного панкреатита и воздействия этанола. *Системный анализ и управление в биомедицинских системах*. 2015, 14(3):396-403.

3. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях. (ETS N 123). Страсбург, 18.03.1986.
4. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М.: Медпресс-информ; 2009.
5. Климович В.В., Масловская А.А., Кузнецов О.И., Булат А.В. Показатели метаболического статуса печени крыс при хронической алкогольной интоксикации и применении гепатопротекторных препаратов. *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. 2007; 18(2):23-24.
6. Конопля А.И., Локтионов А.Л., Дудка В.В., Долгарева С.А. и др. Хроническая интоксикация этанолом: метаболические изменения, коррекция нарушений. *Токсикологический вестник*. 2015; 5:25-30.
7. Мышкин В. А., Бакиров А. Б. Оксиметилурацил. Уфа: ДАР; 2001.
8. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф. Коррекция перекисного окисления липидов при повреждающих воздействиях (гепатотропные яды, гипоксия, стресс). Уфа: Мир печати; 2012.
9. Мышкин В.А., Бакиров А.Б., Репина Э.Ф., Каримов Д.О. Экспериментальная фармакокоррекция токсических поражений печени антиоксидантами. Уфа: ООО «Принт-2»; 2016.
10. Рослый И.М., Абрамов С.В., Агаронов В.Р., Иванов А.В., Шуляк Ю.А. Биохимия и алкоголизм (I): метаболические процессы при алкоголизме. *Вопросы наркологии*. 2004; 2:70-77.
11. Сорокин А.В., Машошина Д.О., Драгозов И.С., Молокоедов В.В. Влияние этанола на биохимическую активность гепатоцитов печени при экспериментальном остром деструктивном панкреатите и способы коррекции. *Международный студенческий научный вестник*. 2018; 4.
12. Терехова С.В., Быстрова Н.А., Литвинова Е.С., Гаврилюк Е.В. Фармакологическая коррекция иммунометаболических нарушений гептралом и мексикором у животных на фоне ишемического поражения печени. *Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация*. 2012; 141(22):179-182.
13. Чиркин А.А. Молекулярные механизмы повреждения печени. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2000; 1:27-34.

References:

1. Bibik E.Ju., Krivokolysko B.S., Burdejnaja A.A., Demenko A.V., Frolov K.A., Docenko V.V., Krivokolysko S.G. The effect of partially hydrogenated pyridines, derivatives of cyanothioacetamide, on the blood counts of rats with combined paracetamol-alcoholic liver damage. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2019. 26(2): 106-114. (in Russia).
2. Bushmina O. N., Dolgareva S. A., Loktionov A. L., Konoplya A. I. Metabolic disorders in conditions of experimental acute destructive pancreatitis and ethanol exposure. *Sistemnyj analiz i upravlenie v biomedicinskikh sistemakh*. 2015, 14(3):396-403.
3. Evropeyskaya konventsiya o zashchite pozvonochnykh zhivotnykh. ispolzuyemykh dlya eksperimentov ili v inykh nauchnykh tselyakh. (ETS N 123). Strasburg. 18.03.1986.
4. Kamyshnikov V.S. Handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnostics. M.: Medpress-infom; 2009. (in Russia).

5. Klimovich V. V., Maslovskaya A. A., Kuznetsov O. I.; Bulat A.V. Indicators of the metabolic status of the liver of rats with chronic alcohol intoxication and the use of hepatoprotective drugs. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta*. 2007; 18(2):23-24.
6. Konoplya A. I., Loktionov A. L., Dudko V. V., Dolgareva S. A. et al. Chronic ethanol intoxication: metabolic changes, correction of disorders. *Toksikologicheskij vestnik*. 2015; 5:25-30.
7. Myshkin V. A., Bakirov A. B. Oxymethyluracil Ufa: DAR; 2001. (in Russia).
8. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina Eh.F. Correction of lipid peroxidation in case of damaging effects (hepatotropic poisons, hypoxia, stress). Ufa: Mir pechaty; 2012.
9. Myshkin V.A., Bakirov A.B., Repina Je.F., Karimov D.O. Experimental pharmacocorrection of toxic liver damage with antioxidants. Ufa:OOO Print-2; 2016. (in Russia)
10. Roslyj I.M., Abramov C.B., Agaronov V.R., Ivanov A.B., Shulyak Yu.A. Biochemistry and alcoholism (I): metabolic processes in alcoholism. *Voprosy narkologii*. 2004; 2:70-77.
11. Sorokin A.V., Mashoshina D.O., Dragovoz I.S., Molokoedov V.V. The influence of ethanol on the biochemical activity of hepatocytes in the liver in experimental acute destructive pancreatitis and methods of correction. *Mezhdunarodnyj studencheskij nauchnyj vestnik*. 2018; 4.
12. Terekhova S.V., Bystrova N.A., Litvinova E.S., Gavrilyuk E.V. Pharmacological correction of immunometabolic disorders with Heptral and Mexicor in animals against the background of ischemic liver damage. *Nauchnye vedomosti. Seriya Medicina. Farmaciya*. 2012; 141(22):179-182.
13. Chirkin A.A. Molecular mechanisms of liver damage. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya*. 2000; 1:27-34.

Поступила/Received: 3.09.2020

Принята в печать/Accepted: 09.09.2020