

В.В. Лобанова, Ф.И. Висмонт

**ОСОБЕННОСТИ И МЕХАНИЗМЫ ИЗМЕНЕНИЯ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ
ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС С ХРОНИЧЕСКОЙ ЭТАНОЛОВОЙ
ИНТОКСИКАЦИЕЙ РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТИ**

Кафедра патологической физиологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

V.V. Lobanova, F.I. Vismont

**FEATURES AND MECHANISMS OF CHANGES IN THE DETOXICATION
FUNCTION OF THE SEAL IN RATS WITH CHRONIC ETHANOL
INTOXICATION OF VARIABLE SEVERITY**

Department of Pathological Physiology

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. В опытах на крысах установлено, что в изменениях детоксикационной функции печени и развитии оксидативного стресса, индуцированных хронической интоксикацией этанолом, участвует аргиназа печени и монооксид азота. Направленность и выраженность изменений активности аргиназы и детоксикационной функции печени при хронической алкоголизации зависит от тяжести хронической алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: хроническая этаноловая интоксикация, детоксикация, аргиназа печени, перекисное окисление липидов, монооксид азота.

Resume. In experiments on rats, it was established that liver arginase and nitrogen monoxide are involved in changes in the detoxification function of the liver and the development of oxidative stress induced by chronic ethanol intoxication. The direction and severity of changes in arginase activity and detoxification function of the liver during chronic alcoholism depend on the severity of chronic alcohol intoxication.

Keywords: chronic ethanol intoxication, detoxification, liver arginase, lipid peroxidation, nitrogen monoxide

Актуальность. Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии, патологии приводящей к сокращению продолжительности жизни и отрицательно сказывающейся на состоянии здоровья.

Как известно, заболеваемость и смертность при регулярном потреблении алкогольных напитков связана с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь, печень [1].

Биохимические проявления хронической этаноловой интоксикации различной тяжести на организм сложны и многообразны. К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии [2, 5]. Учитывая, что активность аргиназы печени лимитирует доступность L-аргинина для NO-синтазы [8], были основания полагать, что ее активность будет сказываться на синтезе монооксида азота (NO), который играет важную роль в процессах жизнедеятельности, механизмах детоксикации в частности [6]. Однако исследования с целью выяснения особенностей процессов детоксикации и значимости в их развитии аргиназы печени и NO у крыс при хронической алкогольной интоксикации различной тяжести не проводились.

Цель: выяснить особенности изменения процессов детоксикации и значимость в их развитии аргиназы печени и монооксида азота у крыс при хронической алкогольной интоксикации различной тяжести.

Задачи:

1. Исследовать влияние хронической этаноловой интоксикации различной тяжести на процессы детоксикации, активность аргиназы печени и температуру тела у крыс.

2. Определить уровень нитратов/нитритов в плазме крови у экспериментальных животных в условиях хронической этаноловой интоксикации различной тяжести.

3. Выяснить особенности процессов детоксикации у крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести в условиях угнетения активности аргиназы печени.

Материалы и методы. Опыты выполнены на взрослых ненаркотизированных белых крысах-самцах массой 180–220 г.

Модель хронической алкогольной интоксикации воспроизводили на животных путем интрагастрального введения этанола. Одна группа животных получала ежедневно интрагастрально 10%, а другая 30% водный раствор этанола (из расчета 1,0 г и 3,5 г 92% этанола на кг массы тела животного, соответственно) в течение 60 дней. Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически [7]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню в плазме крови нитратов/нитритов ($\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$) [9].

О детоксикационной функции печени, процессах детоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), степени токсичности крови (СТК) и содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ). ПНС (гексенал 100 мг/кг, внутривентриально) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку. Определение содержания в крови СМ проводили методом кислотно-этанольного осаждения, разработанным В.М. Моиним с соавт. [3], СТК способом, предложенным О.А. Радьковой с соавт. [4]. О тяжести повреждения печени судили по активности в плазме крови аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ). Определение активности АлАТ и АсАТ в плазме крови проводили колориметрически динитрофенилгидразиновым методом.

Ректальную температуру измеряли электротермометром ТПЭМ-1. Декапитацию производили через один час после последнего введения этанола (опыт) или физиологического раствора (контроль).

Все эксперименты выполнены в соответствии с этическими нормами обращения с лабораторными животными. Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($\bar{X} \pm S_x$). Достоверность результатов учитывали при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. В опытах на крысах выявлено, что ежедневное интрагастральное введение животным 30% водного раствора этанола (3,5 г 92% этанола на кг массы тела) в течение 60 дней приводит к угнетению детоксикационной

функции печени, что проявлялось повышением СТК на 57,8% ($p < 0,05$, $n=10$), уровня СМ в плазме крови на 38,5% ($p < 0,05$, $n=10$) и увеличением ПНС на 23,8% ($p < 0,05$, $n=12$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в контрольной группе животных (ежедневное интрагастральное введение физраствора в течение двух месяцев, $n=10$) составили соответственно $0,69 \pm 0,012$ г/л, $1,3 \pm 0,11$ ед. и $27,8 \pm 3,22$ мин. Активность аргиназы печени в этих условиях снижалась на 54,7% ($p < 0,05$, $n=8$) и составляла $2,5 \pm 0,27$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·час. Активность АлАТ и АсАТ, важнейших показателей тяжести поражения печени, в крови у алкоголизированных животных, по сравнению с соответствующим контролем, повышалась на 488,5% ($p < 0,05$, $n=8$) и 196,3% ($p < 0,05$, $n=8$) и составляла $2,71 \pm 0,13$ и $1,77 \pm 0,16$ мккат/л соответственно. Ректальная температура снижалась (через 60 дней от начала эксперимента) на $1,1 \pm 0,14$ °C ($p < 0,05$, $n=20$). Интрагастральное введение этанола через 60 дней алкоголизации, приводило у крыс ($n=8$) к повышению в плазме крови уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ (конечных продуктов деградации NO) на 79,1% ($p < 0,01$) и который составлял $11,02 \pm 1,34$ мкмоль/л.

Опыты показали, что в этих условиях в крови и печени у крыс повышается по сравнению с животными контрольной группы содержание продуктов ПОЛ в крови и печени. Обнаружено, что действие этанола (3,5 г 92% этанола на кг массы тела) в организме у животных ($n=8$) в течение 60 дней сопровождается повышением в плазме крови уровня ДК, МДА и ОШ на 38,9% ($p < 0,05$), 59,1% ($p < 0,05$) и 50,7% ($p < 0,05$) соответственно. В печени содержание ДК возрастало на 29,3% ($p < 0,05$), МДА на 36,3% ($p < 0,05$) и ОШ на 23,3% ($p < 0,05$). У крыс контрольной группы (физраствор интрагастрально ежедневно 60 дней, $n=8$) содержание ДК, МДА и ОШ в плазме крови составляло соответственно $0,59 \pm 0,051$ D₂₃₃/мл, $0,71 \pm 0,058$ мкмоль/мл и $5,4 \pm 0,52$ ЕД/мл, а в печени $14,5 \pm 1,38$ D₂₃₃/г.ткани, $17,1 \pm 0,71$ мкмоль/г.ткани и $136,4 \pm 13,5$ ЕД/г.ткани.

Хроническая алкоголизация животных этанолом в дозе 1,0 г/кг массы тела в течение 60 дней приводила к повышению активности аргиназы и детоксикационной функции печени и не сопровождалась достоверными изменениями температуры тела и уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме крови. При этом СТК понижалась на 27,1% ($p < 0,05$, $n=9$), уровень СМ в плазме крови на 19,7% ($p < 0,05$, $n=9$), а ПНС на 20,8% ($p < 0,05$, $n=10$). Активность аргиназы печени в этих условиях повышалась на 30,5% ($p < 0,05$, $n=8$) и составляла $6,0 \pm 0,51$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·час. Активность АлАТ и АсАТ в крови у алкоголизированных животных, по сравнению с соответствующим контролем, достоверно не изменялись, хотя имели тенденцию к повышению.

Обнаружено, что в условиях депрессии аргиназы печени, вызванной ежедневным внутрибрюшинным введением в течение 2-х месяцев крысам ($n=10$) ингибитора аргиназы N^ω-гидрокси-нор-L-аргинина (nor-NOHA) фирмы ВАСhЕМ (Германия) в дозе 10 мг/кг, действие этанола (в дозе 3,5 г/кг массы тела) сопровождается более значимым угнетением процессов детоксикации и более выраженным повышением уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме, а также содержания продуктов ПОЛ в крови и печени.

Установлено, что у алкоголизованных животных в условиях угнетения аргиназы печени pH-NOHA значения основных показателей печеночной детоксикации (СМ в плазме крови, степень ее токсичности, ПНС) были выше по сравнению с контрольными (физраствор внутривентриально один раз в день в течение 60 дней и этанол интрагастрально ежедневно в течение двух месяцев) на 29,3% ($p < 0,05$, $n=7$), 21,6% ($p < 0,05$, $n=8$) и 34,7% ($p < 0,05$, $n=8$) соответственно.

Выявлено, что действие в организме у крыс ($n=9$) блокатора NO-синтазы метилового эфира N^G -нитро-L-аргинина фирмы ACROS ORGANICS (США) (ежедневное внутривентриальное введение в течение 60 дней) в дозе 25 мг/кг ослабляет токсическое действие этанола (в дозе 3,5 г/кг массы тела) на печень. Установлено, что действие этанола у крыс в условиях предварительной инъекции (за 30 мин до интрагастрального введения животным этанола в течение 60 сут) L-NAME, по сравнению с контрольной группой животных (внутривентриальное введение физраствора и хроническая алкоголизация) сопровождалось менее выраженными изменениями процессов детоксикации и содержания продуктов ПОЛ в крови и печени животных, а также менее значимым повышением уровня АлАТ, АсАТ и $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ в плазме крови. ПНС, уровень СМ в плазме крови и СТК у опытных крыс ($n = 9$), подвергшихся хронической алкоголизации, по сравнению с животными контрольной группы были ниже на 24,6% ($p < 0,05$), 31,8% ($p < 0,05$) и 29,2% ($p < 0,05$) соответственно. Активность АлАТ и АсАТ плазмы крови у крыс, подвергшихся хронической алкоголизации в условиях блокады в организме животных NO-синтазы по сравнению с животными контрольной группы были ниже соответственно на 37,5% ($p < 0,05$, $n=7$) и 48,8% ($p < 0,05$, $n=7$), а содержание $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ – на 59,3% ($p < 0,05$, $n=8$).

Выводы: в изменениях детоксикационной функции печени и развития оксидативного стресса, индуцированных хронической интоксикацией этанолом, участвует аргиназа печени и монооксид азота. Направленность и выраженность изменений активности аргиназы и детоксикационной функции печени при хронической алкоголизации зависит от тяжести хронической алкогольной интоксикации.

Литература

1. Буко, В. У. Метаболические последствия алкогольной интоксикации / В.У. Буко, О.Я. Лукивская, А.М. Хоха // Минск: Белорусская наука, 2005. – 207с.
2. Висмонт, А. Ф. Роль аргиназы печени в процессах детоксикации и ее участие в механизмах регуляции температуры тела при бактериальной эндотоксинемии / А.Ф. Висмонт, Л.М. Лобанок // Доклады НАН Беларуси. – 2011. – Т. 55, №2. – С. 83–87.
3. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях: а.с. 1520445 СССР, VRB F 01 № 33/50. / В.М. Моин [и др.] – №4323421/28-14; заявлено 02.11.87; опубл. 07.11.89 // Открытия. Изобретения. – 1989. – № 41. – С. 415.
4. Способ определения токсичности биологических жидкостей: а.с. 1146570 СССР, МКИ б О1 № 1/28. / О.А. Радькова [и др.] – № 3458007/28-13; заявлено 18.06.84; опубл. 23.03.85 // Открытия. Изобретения. – 1985. – №41. – С. 415.
5. Трапезникова, С. С. Активность аргиназы различных тканей крысы при алкогольной интоксикации / С.С. Трапезникова, В.М. Гуртовенко, Д.Г. Навасардянец // Вопр. мед. химии. – 1983. – Т. 29, № 4. – С. 95–98.

6. Тэйлор, Б. С. Индуцибельная синтаза оксида азота в печени: регуляция и функции / Б.С. Тэйлор, Л.Х. Аларсон, Т.Р. Биллиар // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 905–923.
7. Geyer, J. W. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates / J. W. Geyer, D. Dabich // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 39, № 2. – P. 412–417.
8. Hallemeesch, M.M. Reduced arginine availability and nitric oxide production / M.M. Hallemeesch, W.H. Lamers, N.E. Deutz // Clin. Nutr. – 2002. – Vol. 21. – P. 273–279.
9. Moshage, H. Nitrite and nitrate determinations in plasma: A critical evaluation / H. Moshage, B. Kok, J.R. Huizenga, P.L. Jansen // Clin. Chem. – 1995. – Vol. 41, №6. – P. 892–896.