

ИЗМЕНЕНИЕ НЕКОТОРЫХ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ УПОТРЕБЛЕНИИ АЛКОГОЛЯ И ИХ КОРРЕКЦИИ МИЛДРОНАТОМ

В.М. Петров, А.Г. Захаров, Л.В. Замураева

Анализируется ухудшение поведенческих реакций, снижение работоспособности, нарушение свертываемости крови и ионного равновесия при длительном употреблении алкоголя. Приведены данные, подтверждающие положительное влияние применения милдроната на эти показатели.

Ключевые слова: алкоголь; милдронат; поведенческие реакции; физическая работоспособность; коагулограмма; электролиты.

По оценке ВОЗ, болезни, возникающие вследствие злоупотребления алкоголем, занимают третье место в мире, уступая лишь ИБС и опухолям. Ежегодно регистрируется примерно 80 тыс. острых смертельных отравлений этиловым спиртом и его суррогатами [1]. В связи с увеличением распространенности хронического алкоголизма во всем мире все более актуализируется необходимость лечения этих больных.

Несмотря на многочисленные работы по данному вопросу, проблема фармакоррекции алкоголизма до настоящего времени остается мало изученной. Экспериментально показано, что с помощью лекарственных препаратов можно добиться регресса патологических изменений в печени и стенке аорты, произошедших в результате 8-месячной алкоголизации крыс [2].

Среди современных препаратов с широким спектром действия привлекает внимание милдронат. Механизм его действия определяет многообразие фармакологических эффектов: повы-

шение работоспособности, уменьшение симптомов психического и физического перенапряжения, активация тканевого и гуморального иммунитета, кардиопротекторное действие. Кроме того, милдронат обладает общестимулирующим эффектом на ЦНС и рекомендован для лечения хронической зависимости от алкоголя. Он активно конкурирует за рецепторы ГББ-гидролазы – последнего фермента в цепи биосинтеза карнитина [3]. В результате снижается скорость транспорта жирных кислот в митохондриях и увеличивается их количество в цитоплазме, что является сигналом для клетки о невозможности накопления активизированных форм недоокисленных жирных кислот, и улучшается транспорт АТФ из митохондрий [4]. Его рекомендуют для лечения алкоголизма и купирования синдрома абстиненции [5].

Целью настоящего исследования явилось изучение поведенческих реакций, работоспособности, состояния гемокоагуляции и электролитного обмена при моделировании хрониче-

ской алкогольной интоксикации и ее коррекции милдронатом.

Материалы и методы. Исследования выполнены в лаборатории экспериментального моделирования патологических процессов при кафедре физиологических дисциплин Кыргызско-Российского Славянского университета (г.Бишкек, 760 м над ур. м.) на 30 беспородных крысах-самцах при 60-дневном употреблении алкоголя. Крысы получали и сбалансированный по белкам и углеводам витаминизированный кормовой рацион. Доступ к пище был свободным.

Эксперименты проводили в строгом соответствии с положениями IV Европейской конвенции по защите животных и требованиями “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных” (Приказ МЗ СССР от 12 августа 1977 года № 755).

Животные были разделены на три опытные группы:

- 1 – здоровые животные;
- 2 – с принудительной алкоголизацией (в течение 60 дней) без фармакоррекции;
- 3 – с принудительной алкоголизацией (в течение 60 дней) и фармакоррекцией милдронатом (1 раз в сутки в дозе 15 мг/кг веса внутрибрюшинно в течение последних 20 дней опыта).

Животные имели свободный доступ к раствору этилового спирта (без дачи воды), с постепенным увеличением концентрации: 10 дней – 5%; 10 дней – 10%; 20 дней – 15%; 20 дней – 20%.

Поведенческие реакции изучены на 10-, 20-, 40- и 60-й дни опыта в тесте “открытое поле” [6], пробу на физическую работоспособность крыс (поднятие груза) проводили по методике С.В. Сперанского [7].

Состояние свертывающей системы крови изучали по коагулограмме, записанной на коагулографе Н-334 непосредственно перед выведением животных из эксперимента. Определяли начало, продолжительность, окончание времени свертывания, вязкость крови и плотность кровяного сгустка.

Определение содержания электролитов (Na⁺, K⁺) в тканях головного мозга, сердца, печени и почке проводили на пламенном фотометре ПФМ-УХЛ 4.2 по методу, предложенному А.Г. Румель и А.Ф. Баженовой [8].

Забой подопытных животных проводили путем декапитации, после предварительной дачи им эфирного наркоза.

Статистическую обработку материала проводили методом вариационной статистики с по-

мощью компьютерных программных пакетов Statlab и Microsoft Excel. Вычисляли среднее значение (M), ошибку средней величины (m). Разницу средних величин оценивали по t-критерию Стьюдента и вероятности P, которую признавали статистически значимой при P < 0,05.

Графические иллюстрации построены при помощи компьютерных программных пакетов Microsoft Excel.

Результаты исследований. Исследование пробежки по наружным квадратам показало (табл. 1), что на 10-е сутки после принятия 5%-ного алкоголя у крыс наблюдалось снижение локомоторной активности на 43% (с 38±4 до 22±4, P < 0,05), повышенная двигательная активность животных отмечалась на 1–3-й минутах. После употребления алкоголя в течение 20 дней активность животных продолжала снижаться (на 53%, P < 0,01), причем животные были активны в первые полторы минуты, а затем сидели в углу и не двигались. В последующие сроки наблюдения (40- и 60-й дни) локомоторная активность уже снизилась на 73–74%, причем крысы двигались только в первую минуту. В 3-й группе животных при фармакоррекции милдронатом (табл. 1) нами было отмечено увеличение локомоторной активности крыс на 26% по сравнению с контролем (с 38±4 до 49±5 пробежек), причем животные сохраняли активность в течение всего опыта (5 мин.), но более интенсивно она проявлялась в первые 3 минуты (P < 0,05). Отмечено ее значительное увеличение по сравнению с таковой в группе без фармакоррекции (12±1,2, P < 0,001).

Анализируя данные по ориентировочно-исследовательскому поведению на 10-е сутки (см. табл. 1) после принудительной алкоголизации (5%-ным раствором спирта) крыс, можно отметить, что достоверных изменений по количеству пересечения “внутренних квадратов”, “норковых рефлексов” и “стоек” не наблюдалась, а обнаружена лишь небольшая тенденция к их изменению.

Через 20 дней регистрировалось уменьшение количества пересеченных наружных квадратов уже в 2 раза (P < 0,001). Двигательная активность у этих животных сохранялась в течение первых 3 минут.

После 40 дней наблюдения нами отмечено резкое снижение исследовательского поведения животных. Так, выход во внутренние квадраты был ниже на 70% (с 2±0,4 до 0,6±0,3, P < 0,02), количество “заглядываний” в норки и стойки снижались соответственно с 7±1 до 3±0,6 (P < 0,02) и с 4,2±0,4 до 2±0,7 (P < 0,05). На 60-й день экспери-

мента эти параметры колебались в тех же пределах. Следует отметить, что двигательная активность крыс сохранялась лишь в 1-ю минуту.

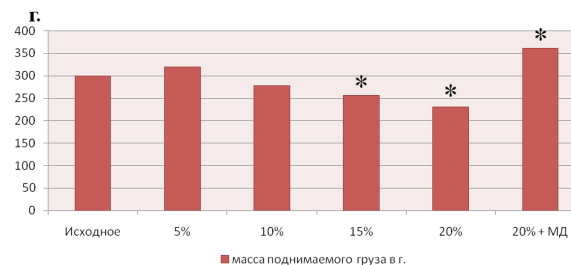
Анализ данных у животных 3-й группы (с введением милдроната) показал увеличение ориентировочно-исследовательской деятельности (см. табл. 1). Так, выход во внутренние квадраты увеличился в 2 раза ($P < 0,05$). Количество обследованных норок возросло до 12 ± 1 против исходного 7 ± 1 ($P < 0,01$), а стоек – до $13 \pm 1,5$ против $4,2 \pm 0,4$ ($P < 0,01$).

Аналогичные изменения отмечены и при анализе косметического ухода за собой (груминг), которое постепенно снижалось во 2-й группе к 60-му дню наблюдения, с нормализацией этого показателя у животных 3-й группы.

Анализ количества дефекаций показал, что их число достоверно не менялось во 2-й группе опытных животных, а у животных 3-й группы резко снизилось с $1,5 \pm 0,4$ до $0,1 \pm 0,1$ ($P < 0,01$).

Изучение физической работоспособности выявило (см. рисунок), что на 10-е сутки после употребления 5%-ного этилового спирта наблюдалась незначительная тенденция к повышению физической работоспособности (на 19 г), а на 20-е сутки – к ее снижению по сравнению с контрольной группой (на 22 г). На 40-е сутки после употребления 15%-ного этилового спирта регистрировалось достоверное снижение работоспособности (на 43 г, $P < 0,01$). На 60-й день исследования работоспособность во 2-й группе снизилась до максимально низкого значения (на 69 г, $P < 0,01$), в то время как в 3-й опытной группе (с фармакоррекцией) отмечалось достоверное

повышение работоспособности по сравнению как с контрольной ($P < 0,05$), так и со 2-й опытной группой ($P < 0,001$).



Изменение работоспособности при употреблении алкоголя и фармакоррекции.

* Изменения достоверны по сравнению с исходными данными ($P < 0,05$)

Изучение состояния свёртываемости крови показало (табл. 2), что при алкоголизации животных (2-я группа) наблюдалось удлинение начала и окончания свертывания крови. При этом достоверно увеличивалась и продолжительность свертывания крови (до 222 ± 10 против исходной – 182 ± 11 с., $P < 0,05$). Вязкость крови повышалась на 44% ($P < 0,01$), а плотность кровяного сгустка имела тенденцию к повышению.

В 3-й группе животных с фармакоррекцией милдронатом время начала свертывания крови аналогично таковому во 2-й группе (77 ± 2 с.), а время его окончания значительно не отличалось от исходного. В связи с этим продолжительность свертывания была в пределах нормальной. Вязкость крови оставалась повышенной на 70%

Таблица 1

Изменение поведенческих реакций при длительном употреблении алкоголя и фармакоррекции

Концентрация этилового спирта	Наруж. квадрат	Внутр. квадрат	Норки	Стойки	Груминг	Дефекац.	Мочеисп.
Исходные	38 ± 4	$2 \pm 0,4$	7 ± 1	$4,2 \pm 0,4$	$5 \pm 0,8$	$1,5 \pm 0,4$	$0,2 \pm 0,1$
5%-ный спирт	22 ± 4	$2 \pm 0,7$	$5 \pm 1,6$	$5 \pm 1,5$	$4 \pm 1,2$	$1 \pm 0,6$	0 ± 0
10%-ный спирт	$15 \pm 2,4^*$	$1 \pm 0,6$	$6 \pm 0,7$	$5 \pm 1,4$	$3 \pm 0,8$	$1 \pm 0,6$	$0,6 \pm 0,4$
15%-ный спирт	$11,4 \pm 1,3^*$	$0,6 \pm 0,3^*$	$3 \pm 0,6^*$	$2 \pm 0,7^*$	$2,4 \pm 0,6^*$	$1 \pm 0,6$	0 ± 0
20%-ный спирт	$12 \pm 1,2^*$	$2,3 \pm 1,6$	$3 \pm 0,4^*$	$2 \pm 0,3^*$	$3 \pm 1,0$	$0,6 \pm 0,3$	0 ± 0
20%-ный спирт + милдронат	$49 \pm 5^*$	$4 \pm 0,6$	$12 \pm 1^*$	$13 \pm 1,5^*$	$5 \pm 0,6$	$0,1 \pm 0,1^*$	$0,4 \pm 0,2$

* Изменения достоверны по сравнению с исходными данными ($P < 0,05$).

($P < 0,001$). В то же время не было достоверных изменений плотности кровяного сгустка.

Изучение содержания электролитов в органах и тканях показало (табл. 3), что в сердечной мышце уровень K^+ в группе с принудительной алкоголизацией снизился на 2,3 ($P < 0,05$), а Na^+ повысился на 5,3 мэкв/100 г сухой ткани ($P < 0,01$), в связи с этим достоверно уменьшился K^+/Na^+ коэффициент ($P < 0,01$). Несколько иная картина наблюдалась у животных, которым проводили фармакоррекцию милдронатом. Так, уровень K^+ имел небольшую тенденцию к повышению по сравнению с таковым в контрольной группе и был на 3,5 мэкв/100 г сухой ткани выше, чем в группе с алкоголизацией без фармакоррекции ($P < 0,02$). Содержание Na^+ в этой группе также было увеличенным по сравнению с контролем, но в меньшей степени, чем в группе без фармакоррекции. В связи с этим K^+/Na^+ коэффициент

не отличался от коэффициента контрольной здоровой группы.

В ткани мозга в группе с принудительной алкоголизацией уровень K^+ снизился на 7,2 ($P < 0,01$), а Na^+ – на 7,1 мэкв/100 г сухой ткани ($P < 0,001$), поэтому K^+/Na^+ коэффициент не изменился. В группе с принудительной алкоголизацией и дачей милдроната в последние 20 дней опыта уровень K^+ имел тенденцию к снижению ($P < 0,1$), а Na^+ существенно не отличался от уровня контрольных животных ($P > 0,5$). Поэтому K^+/Na^+ коэффициент не изменился.

Изучение уровня K^+ в печени показало, что он был достоверно снижен как во 2-й, так и в 3-й группах так же, как и Na^+ на 5,3 (2-я группа) и 7,5 (3-я группа) мэкв/100 г сухой ткани ($P < 0,01$; $< 0,001$). Поэтому K^+/Na^+ коэффициент был более высоким в обеих группах ($P < 0,05$).

В ткани почки содержание K^+ существенно не изменялось в обеих опытных группах, в то

Таблица 2

Изменения в свертывающей системы крови при употреблении алкоголя и фармакоррекции

	T_1, c	T_2, c	T, c	$A_m, \text{ усл. ед.}$	$A_0, \text{ усл. ед.}$
Исходные	48 ± 5	182 ± 11	134 ± 9	$3,7 \pm 0,09$	$0,019 \pm 0,004$
20%-ный (60 дней)	$74 \pm 8^*$	$222 \pm 10^*$	$177 \pm 7^*$	$2 \pm 0,2^*$	$0,01 \pm 0$
20%-ный + милдронат	$77 \pm 2^*$	189 ± 7	118 ± 5	$1 \pm 0,3^*$	$0,01 \pm 0$

Примечание: T_1 – начало свертывания, T_2 – окончание свертывания, T – продолжительность свертывания крови, A_m – вязкость крови, A_0 – плотность кровяного сгустка.

* Изменения достоверны по сравнению с исходными данными ($P < 0,05$).

Таблица 3

Изменение содержания электролитов ($M+m$) в тканях и органах (мэкв / 100 г сухой ткани) и K^+/Na^+ коэффициента (усл. ед.) у крыс с принудительной алкоголизацией и фармакоррекцией

Органы и ткани	K^+			Na^+			K^+/Na^+ коэффициент		
	контроль, 1-я группа	алкоголь, 2-я группа	алк+ милдр., 3-я группа	контроль, 1-я группа	алкоголь, 2-я группа	алк+ милдр., 3-я группа	контроль, 1-я группа	алкоголь, 2-я группа	алк+ милдр., 3-я группа
Сердце	$28,8 \pm 0,8$	$26,5 \pm 0,4^*$	$30 \pm 0,9$	$16,1 \pm 1,0$	$21,4 \pm 0,8^*$	$20 \pm 1,1^*$	$1,6 \pm 0,08$	$1,2 \pm 0,06^*$	$1,5 \pm 0,04$
Мозг	$44,4 \pm 1,6$	$37,2 \pm 0,8^*$	$39,9 \pm 1,5$	$28,4 \pm 1,4$	$21,3 \pm 0,6^*$	$27,9 \pm 1,5$	$1,6 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,05$	$1,4 \pm 0,07$
Печень	$26,6 \pm 1,0$	$22,9 \pm 1^*$	$23,7 \pm 0,7^*$	$19,7 \pm 0,6$	$14,4 \pm 1^*$	$12,2 \pm 0,8^*$	$1,35 \pm 0,1$	$1,7 \pm 0,10^*$	$1,9 \pm 0,09^*$
Почки	$20,0 \pm 1,4$	$23,5 \pm 1,3$	$22,1 \pm 1$	$16,4 \pm 1,2$	$20,7 \pm 1,7$	$24,5 \pm 1,2^*$	$1,2 \pm 0,01$	$0,9 \pm 0,05^*$	$0,9 \pm 0,07^*$
Ск. мышца	$28,8 \pm 1,0$	$30,8 \pm 0,7$	$28,1 \pm 1,4$	$13,2 \pm 1,1$	$15,3 \pm 1,1$	$14 \pm 1,2$	$2,1 \pm 0,15$	$2,1 \pm 0,2$	$2,2 \pm 0,2$

* Изменения достоверны по сравнению с исходными данными ($P < 0,05$).

время как содержание Na^+ значительно возросло, в связи с чем K^+/Na^+ коэффициент снизился ($P < 0,001$; $< 0,01$).

В скелетной мышце существенных изменений ионного баланса не отмечалось, не изменялся и K^+/Na^+ коэффициент.

Обобщая полученные данные, можно отметить, что в процессе алкоголизации крыс отмечалось нарушение процессов возбуждения и торможения. Активное поведение длилось 1–1,5 минуты, сменяясь заторможенностью. У животных были снижены локомоторная активность и исследовательские поведенческие реакции. Особенно это проявилось у животных 2-й группы к концу наблюдения. Надо отметить, что у животных 3-й группы, получавших инъекции милдроната, прослеживалась положительная динамика. У них регистрировалась повышенная двигательная активность в течение всего срока наблюдения (5 минут), снижался процент стрессированности (дефекация составила $0,1 \pm 0,1$ ($P < 0,01$)), отмечалось увеличение физической работоспособности, вероятно, за счет улучшения метаболических процессов, перераспределения кровотока в ишемизированных зонах головного мозга.

Изучение состояния свертывания крови показало, что длительная алкоголизация вызывает существенное нарушение свертывания крови, что, очевидно, связано с нарушениями функции печени. Применение милдроната, улучшающего метаболизм и энергообеспечение тканей, в том числе и печеночных клеток, существенно корригирует имеющиеся гипокоагуляционные сдвиги, формируя тенденцию к нормализации свертывания крови.

Таким образом, нами установлено значительное ухудшение поведенческих реакций, снижение физической работоспособности, нарушение свертываемости крови и электролитного

баланса, а применение милдроната оказало корригирующее влияние, улучшая исследуемые показатели.

Литература

1. Хохлов В.В. Экспертиза отравлений этанолом и его суррогатами. Смоленск, 2008. 112 с.
2. Арыстан Л.И. Морфологическое изучение состояния печени и аорты при этаноловой дислипидемии // Актуальные проблемы сохранения и рационального использования биологических ресурсов: Матер. междунауч. научн.-практ. конф. Бишкек, 2010. С. 108–112.
3. Калвиньеш И. Метаболизм миокарда и ишемия // Метаболическая терапия и применение милдроната в клинической практике: Матер. I междунауч. научн.-практ. конф. Ялта: Grindex, 2003. С. 24–25.
4. Клиническая фармакология средств, улучшающих энергетический метаболизм миокарда: Учебное пособие / Сост. В.Я. Мкртчян. М., 2003. 24 с.
5. Минко А.И., Бараненко А.В. Применение цитопротектора милдроната в комплексной терапии алкогольной зависимости // Український вісник психоневрології. 2006. Т. 14, № 2. С. 99–103.
6. Буреш Я., Хьюстон П.Д. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. 399 с.
7. Вишневский А.А. Модификация биомембран и ответ мессенджерных систем при воздействии факторов высокогорья и физиологически активных веществ: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Новосибирск, 2007. 31 с.
8. Руммель А.Г., Баженова А.Ф. Методика определения натрия, калия и хлора в биологических жидкостях и тканях // Кортикостероидная регуляция водно-солевого гомеостаза. Новосибирск, 1967. С. 234–237.