

На правах рукописи

БЕРБЕРИДИ Христина Панаевна

**ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ
НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ
И ВОЗМОЖНОСТИ ИХ КОРРЕКЦИИ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

1.5.4. Биохимия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Краснодар – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Кубанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России).

Научный руководитель – доктор медицинских наук, профессор
Быков Илья Михайлович.

Официальные оппоненты:

Микашинович Зоя Ивановна, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра общей и клинической биохимии № 1, заведующая кафедрой;

Синицкий Антон Иванович, доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биохимии имени Р.И. Лифшица, заведующий кафедрой.

Ведущая организация:

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Ставропольский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится 06 декабря 2022 года в 11.00 на заседании диссертационного совета 21.2.014.02 на базе ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (350063, Краснодар, ул. Митрофана Седина, 4, тел. (861) 2625018).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и официальном сайте (<http://www.ksma.ru>) ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Автореферат разослан " ____ " _____ 2022 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета 21.2.014.02
доктор медицинских наук,
профессор

 Лапина Наталья Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Выраженность метаболических нарушений у больных сахарным диабетом (СД) зависит от функционального состояния печени [И.В. Пальцев, 2016; О.В. Гулинская, 2017; J. Zuwala-Jagiello et al., 2017], что связано с ее участием в патогенезе заболевания и, прежде всего, выполнением глюкостатической функции. Первым органом, в который инсулин приносится с током крови является печень [Д.Н. Пеньков и соавт., 2013]. Гипогликемический эффект инсулина обусловлен рядом факторов, в том числе активацией гликогеногенеза в ткани печени и скелетных мышцах, ингибированием секреции глюкагона на уровне α -клеток островкового аппарата поджелудочной железы. Кроме того, инсулин подавляет процесс мобилизации нейтрального жира и, соответственно, снижает концентрацию глицерола и свободных жирных кислот в крови, которые также поступают в печень [Н.А. Бабенко, В.С. Харченко, 2015; А.А. Dawood et al., 2017]. Таким образом, снижение активности инсулина способствует постоянной гиперпродукции глюкозы печенью [М.А. Дербак и соавт., 2014]. Распространенность поражений печени при СД достаточно высока. В зависимости от методов диагностики диабетические гепатопатии выявляются в 30–60 % всех случаев. По некоторым данным гепатопатии занимают по частоте третье место среди поздних осложнений СД, после диабетических нейро- и нефропатий [Е. Вовк, 2013; А.О. Буеверов, А.В. Зиллов, 2021]. У больных СД статистически значимо выше распространенность маркеров инфекционных гепатитов, чем среди популяции доноров, не страдающих данной эндокринопатией, и составляет для гепатитов В и С соответственно 8 % и 4 % на 100 обследованных (в здоровой популяции 0,4–0,7 %) [А. Lecube et al., 2006; Z.M. Younossi et al., 2019]. Значительную роль в структуре заболеваний печени играют алкогольные гепатиты, что особенно актуально ввиду многократного увеличения токсического влияния этанола на метаболические системы организма больных СД.

Степень разработанности темы. Важная роль в развитии СД и заболеваний печени отводится нарушениям нормального функционирования прооксидантно-антиоксидантной системы. В большом количестве исследований показано, что воспаление и окислительный стресс являются одними из основных факторов развития и прогрессирования поздних осложнений СД [А.А. Спасов и соавт., 2016]. Между окислительным стрессом и воспалением также существует симбиотическая связь. ОС представляет собой дисбаланс между продукцией активных форм кислорода и антиоксидантной защитой. Это патологическое состояние, которое приводит не только к прямому клеточному повреждению, но и к развитию воспалительного каскада, который еще больше усиливает повреждение тканей [V. Calabrese et al., 2012; F. McMurray et al., 2016; H. Juchniewicz, A. Lubkowska, 2020]. Перспективные терапевтические стратегии направлены на повышение антиоксидантной защиты (антиоксиданты и активаторы Nrf2), снижение продукции АФК (ингибиторы NADPH-оксидазы и ингибиторы ксантиноксидазы), ингибирование ассоциированных воспалительных путей (ингибиторы инфламмосомы NLRP3, липоксины, агонисты рецепторов GLP-1 и антагонисты рецепторов AT-1). В ряде экспериментальных и клинических работ

показана возможность антиоксидантной коррекции метаболических нарушений, как при СД, так и при гепатитах различного генеза [В.Я. Мокрый и соавт., 2015; S.W. Choi, C.K. Ho, 2017; Е.И. Морковин и соавт., 2019]. В многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях показана возможность усиления основных метаболических нарушений на фоне сочетанного течения СД и алкогольной интоксикации [Z. Ren et al., 2016]. При этом во всех случаях экспериментальных исследований индуцировали развитие СД введением аллоксана или стрептозоцина, а уже потом вводили этиловый спирт в составе питьевого рациона или внутривенно [А.В. Индутный и соавт., 2010; Н.В. Жаркова и соавт., 2012]. На наш взгляд более логичной и соответствующей реальной клинической ситуации должна быть обратная модель – формирование СД на фоне предварительной алкоголизации.

Цель исследования: определить особенности нарушений обмена веществ в условиях сочетанного моделирования сахарного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации и провести сравнительную оценку эффективности серосодержащих соединений для коррекции повреждений печени и нарушений окислительного гомеостаза.

Задачи исследования:

1. Изучить особенности повреждения печени и нарушений обмена веществ в экспериментальных условиях моделирования сахарного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации.

2. Определить особенности нарушений окислительного гомеостаза и эндотоксикоза в экспериментальных условиях моделирования сахарного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации.

3. Провести сравнительную оценку эффективности коррекции повреждений печени и нарушений окислительного гомеостаза в условиях моделирования хронической алкогольной интоксикации с использованием метионина и S-аденозилметионина.

4. Провести сравнительную оценку эффективности разных тиозфирных и тиолсодержащих соединений в коррекции повреждений печени и нарушений окислительного гомеостаза в условиях моделирования хронической алкогольной интоксикации.

5. Сравнить эффективность разных способов введения липоевой кислоты для коррекции повреждений печени и нарушений окислительного гомеостаза в условиях моделирования хронической алкогольной интоксикации.

Научная новизна. В исследовании впервые:

1) определены особенности повреждения печени и обмена веществ в экспериментальных условиях при моделировании аллоксан-индуцированного диабета на фоне предварительно сформированной хронической алкогольной интоксикации у крыс;

2) проведено сравнительное исследование гепатопротекторной активности метионина и S-аденозилметионина в эксперименте при моделировании хронической алкогольной интоксикации у крыс;

3) изучено влияние тиозфирных (метионин и S-аденозилметионин) и тиолсодержащих (липоевая кислота) соединений на состояние окислительного гомеостаза и повреждение печени при моделировании хронической алкогольной интоксикации у крыс;

4) доказана эквивалентная эффективность введения липоевой кислоты только в парентеральной форме или по смешанной схеме, включающей на первом этапе внутривенное введение препарата с переходом на дальнейшую поддерживающую терапию с пероральным введением липоевой кислоты.

Теоретическая и практическая значимость исследования. Теоретическая значимость работы заключается в определении характера взаимного влияния хронической алкогольной интоксикации и СД при их сочетанном моделировании в экспериментальных условиях. Основным практическим результатом является обоснование гепатопротекторной эффективности различных серосодержащих соединений таких как метионин, аденозилметионин и липоевая кислота. Определены несомненные преимущества активной формы метионина, связанные с его влиянием на метаболические и детоксицирующие системы печени. Использование свободного метионина может быть оправдано только в профилактических целях в стадии ремиссии заболевания, что связано с утяжелением повреждений печени при его введении. Кроме того, было установлено, что липоевая кислота оказывает выраженную поддержку антиоксидантной системы крови, но это оказывается недостаточным для защиты гепатоцитов от повреждений в условиях хронической алкоголизации крыс.

Методология и методы исследования. Дизайн исследования включал 2 основных раздела: изучение особенностей течения СД на фоне хронической алкогольной интоксикации и сравнительную оценку эффективности использования серосодержащих соединений для коррекции метаболических нарушений у животных в процессе алкоголизации. На первом этапе были сформированы 4 группы животных (по 20 особей): контрольная и экспериментальные – с моделированием сочетанной и изолированных форм патологических состояний (СД и алкогольная интоксикация). Для реализации 2-го этапа сформированы группы крыс (по 15 особей), которые подвергали 2-х месячной алкоголизации с параллельным введением аденозилметионина, метионина или липоевой кислоты. Последнее вещество вводили в пероральной форме, парентеральной и смешанной. Для оценки метаболических нарушений определяли биохимические показатели крови и гомогената печени, отражающие состояние цитолитического синдрома, уровня гликемии и липидного профиля, окислительного метаболизма и эндогенной интоксикации.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Сочетанное моделирование сахарного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации у крыс сопровождается усилением повреждения печени и нарушений углеводного обмена относительно изолированного течения патологических процессов.

2. Изменения липидного профиля и нарушения окислительного метаболизма в условиях сочетанного моделирования хронической алкогольной интоксикации и аллоксан-индуцированного диабета в основном связаны с развитием сахарного диабета, тогда как алкоголизация животных оказывает основное влияние на развитие эндогенной интоксикации.

3. В сравнении с липоевой кислотой и метионином S-аденозилметионин оказывает влияние на метаболические системы не только крови, но и печени, что сопряжено с реализацией его цитопротекторных свойств.

4. Введение метионина крысам с хронической алкогольной интоксикацией не оказывает гепатопротекторного действия, что может быть связано с энергозатратным процессом его активации в условиях гипоэнергетического состояния.

5. Введение липоевой кислоты крысам с хронической алкогольной интоксикацией сопровождается наиболее выраженными изменениями антиоксидантной активности крови, но практически не оказывает гепатопротекторного эффекта.

6. Наиболее оптимальной схемой применения липоевой кислоты при токсическом повреждении печени является парентеральное введение на начальном этапе терапии с дальнейшим переходом на пероральное введение препарата.

Степень достоверности и апробации работы. Исследование проведено на 155 белых нелинейных крысах-самцах массой 200–250 грамм. Лабораторные животные были разделены на 9 групп по 15–20 особей в каждой, что позволило сформировать достаточные по объему выборки для проведения статистического анализа. Статистическая обработка данных выполнена с помощью программы StatPlus для Windows (AnalystSoft Inc.). Лабораторный этап исследования выполнен с использованием современных методик и оборудования. Определение не отдельных показателей, а профилей показателей, комплексно отражающих состояние липидного обмена, окислительного гомеостаза, эндогенной интоксикации, цитолитического синдрома позволило получить объективные данные о состоянии отдельных звеньев метаболизма и сформулировать достоверные выводы.

Диссертационная работа выполнена в соответствии с планом научно-исследовательских работ и в рамках комплексных тем НИР кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России № АААА-А17-117060610055-4 «Изучение молекулярных механизмов и разработка инновационных биохимических подходов диагностики, мониторинга и коррекции адаптационного потенциала у лиц, работающих в экстремальных условиях, при высоких физических нагрузках и различных патологических состояниях», № 121110900082-3 «Исследование молекулярных механизмов патологических процессов в условиях коморбидных форм социально значимых заболеваний».

Основные результаты диссертационного исследования были доложены и обсуждены на XI Всемирном конгрессе по ХОБЛ, астме и иммунопатологии (Москва, 2017), XXIV Всемирном конгрессе по клинической медицине и иммунореабилитации (Дубай, ОАЭ, 2017), XII World congress on COPD, asthma and respiratory allergy (Dubai, UAE, 2018), Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: innovative technologies, Filodiritto International Proceedings (Bologna, Italy, 2018), XXV Всемирном конгрессе по реабилитации в медицине и иммунореабилитации (Барселона, Испания, 2018), II Объединенном научном форуме, VI Съезде физиологов СНГ, VI Съезде биохимиков России (Сочи – Дагомыс, 2019), XIII Всемирном конгрессе по астме, аллергии и иммунопатологии, III международном конгрессе по молекулярной аллергологии (Москва, 2020).

Внедрение результатов исследования. Основные фундаментальные положения, сформулированные в диссертационном исследовании, внедрены в учебный процесс кафедры фундаментальной и клинической биохимии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Основные практические результаты диссертации внедрены в диагностическую лабораторную практику Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России.

Публикации. Всего по материалам диссертационной работы опубликовано 10 научных работ, из которых 5 – в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним.

Личный вклад автора в исследование. Диссертантом проведена разработка дизайна исследования (95 %), проведен поиск и обзор отечественных и зарубежных источников литературы (92 %), лично выполнены все лабораторные исследования, проведена статистическая обработка и анализ полученных результатов (85 %). Соискатель принимал непосредственное участие в составлении выводов и формулировании научных положений, предложений для внедрения, разработке практических рекомендаций (85 %), написании статей (73 %) и тезисов (78 %), подготовил текст и иллюстративный материал для диссертации (97 %).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, заключения и списка литературы, иллюстрирована 13 таблицами и 8 рисунками. Указатель литературы содержит 131 источник, из которых 34 отечественных и 97 зарубежных авторов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Диссертационная работа была выполнена с использованием 155 белых нелинейных крыс-самцов массой 210–240 грамм. Лабораторные животные содержались на базе учебно-производственного отдела ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Все исследования были предварительно рассмотрены и одобрены на заседании независимого этического комитета при ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (протокол № 54, от 11.10.2017 г.). Этические принципы соответствовали «Правилам, принятым в Европейской конвенции по защите позвоночных животных» (Страсбург, 1986), болезненные манипуляции выполняли после общей анестезии препаратом Золетил 100 («Virbac», Франция, 10 мг/кг, в/м).

Лабораторные животные были разделены на следующие группы:

1. **Контрольная группа:** интактные животные (1-я группа, $n = 20$), содержащиеся в таких же условиях, что и крысы опытных групп, но которым не выполнялось моделирование сахарного диабета или алкогольной интоксикации, а также не вводили никакие средства для метаболической коррекции.

2. **Группы сравнения:** животные по 20 особей в группах, на которых выполнялось моделирование аллоксанового диабета или алкогольной интоксикации без проведения коррекции:

- 2-я группа ($n = 20$) – лабораторные животные, которым выполнялось моделирование аллоксан-индуцированного сахарного диабета. Для создания экспериментальной модели животным после суточного голодания внутривентриально однократно вводили аллоксана моногидрат в дозировке 150 мг/кг;

- 3-я группа ($n = 20$) – крысы, которые подвергались алкоголизации в течение 2-х месяцев. Для создания экспериментальной модели животным полно-

стью заменяли стандартный питьевой рацион на раствор этилового спирта. При этом для постепенного привыкания животных в первую неделю крысы получали 10 % этанол, в течение 2-й недели – 20 % этанол, а начиная с 3-й недели и до конца эксперимента крысы получали 30 % этиловый спирт;

- 4-я группа (n = 20) – животные с сочетанной формой патологического процесса. Для моделирования патологического процесса крысам 4-й группы начинали проведение алкоголизации по той же схеме, что и крысам 3-й группы, но спустя месяц после начала алкоголизации 10 % этиловым спиртом вводили аллоксана моногидрат в дозировке 150 мг/кг с продолжением наблюдения еще в течение месяца и введением этанола до конца эксперимента.

3. **Основные опытные группы:** животные по 15 особей в группах, на которых выполнялось моделирование хронической алкогольной интоксикации по схеме, описанной для 3-й группы крыс, на фоне метаболической коррекции:

- 5-я группа (n = 15) – крысы, которым на фоне хронической алкогольной интоксикации, продолжающейся в течение 1 месяца, вводили адеметионин 10 мг/сут (Гептрал, Эбботт С.р.Л., Италия) в течение месяца, в течение которого также продолжали введение этилового спирта;

- 6-я группа (n = 15) – крысы, которые на фоне хронической алкогольной интоксикации, продолжающейся в течение 1 месяца, получали метионин 100 мг/кг/сут перорально с питьевым рационом в течение месяца, в течение которого также продолжали введение этилового спирта;

- 7-я группа (n = 15) – крысы, которые на фоне хронической алкогольной интоксикации, продолжающейся в течение 1 месяца, получали липоевую кислоту (Октолипен, Фармстандарт-Лексредства, Россия) перорально 100 мг/кг/сут с питьевым рационом в течение месяца, в течение которого также продолжали введение этилового спирта;

- 8-я группа (n = 15) – крысы, которым на фоне хронической алкогольной интоксикации, продолжающейся в течение 1 месяца, вводили липоевую кислоту (Октолипен, Фармстандарт-Лексредства, Россия) внутривентриально 50 мг/кг/сут в первую неделю, затем переходили на пероральное введение аналогичного препарата в дозировке 100 мг/кг/сут до конца эксперимента, в течение которого также продолжали введение этилового спирта;

- 9-я группа (n = 15) – крысы, которым на фоне хронической алкогольной интоксикации, продолжающейся в течение 1 месяца, вводили липоевую кислоту только внутривентриально в дозировке 50 мг/кг/сут до конца эксперимента, при этом продолжали алкоголизацию животных еще в течение месяца.

Для оценки патобиохимических изменений в крови и гомогенате печени животных определяли ряд биохимических показателей, характеризующих состояние углеводного обмена, повреждения печени, прооксидантно-антиоксидантной системы, эндогенной интоксикации и функционального состояния митохондрий печени. В плазме крови, цитозольной фракции и суспензии митохондрий определяли общую антиоксидантную активность (АОА) железо-восстанавливающим методом (FRAP метод). В эритроцитарной взвеси и в цитозольной фракции гомогената определяли содержания продуктов окислительных модификаций биомолекул по реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК), содержание восстановленного

глутатиона, активность ферментов системы антиоксидантной защиты: супероксиддисмутаза (СОД), каталазы (КАТ), глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионредуктазы (ГР). В плазме крови определяли уровень общих тиоловых групп по реакции с дитиобиснитробензойной кислотой. Для оценки степени эндогенной интоксикации определяли содержание веществ со средней и низкой молекулярной массой в крови.

Для лабораторной оценки повреждения печени выполняли определение активности аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и концентрации общего белка плазмы крови. Для изучения липидного профиля выполняли определение содержания общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) и липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП). Для оценки нарушений углеводного обмена у животных на фоне моделирования сахарного диабета определяли концентрацию глюкозы плазмы крови. Определение всех изученных параметров проводили с использованием реагентов Randox Laboratories (Великобритания) и автоматического биохимического анализатора Super Z (Китай).

Интегральной характеристикой, отражающей функциональное состояние митохондрий, может служить способность их генерировать мембранный потенциал, от которого зависит в первую очередь способность синтезировать АТФ, но также другие функции, такие как определение направления транспорта веществ, контроль качества органелл и др. Для определения мембранного потенциала митохондрий использовали катионный флуоресцентный краситель сафранин О.

Для статистического анализа результатов исследования использовали AnalystSoft Inc., StatPlus (Версия 7, см. www.analystsoft.com/ru/). Перед выполнением основной части статистической обработки данных, включающей сравнение показателей различных выборок, определялись с методами анализа. Для этого, прежде всего, выполняли оценку характера распределения показателей, в большинстве случаев распределение показателей в выборках отличалось от нормального закона, описываемого Гауссовой функцией. Это обусловило выбор непараметрических методов сравнения данных. При этом сравнение показателей разных групп лабораторных животных основывалось на определении критерия Краскела-Уоллиса, а при выявлении статистически значимых отличий выполняли попарное сравнение показателей групп с учетом критерия Манна-Уитни. В данном случае также различия принимали статистически значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе исследования была выполнена оценка выраженности повреждений печени в условиях формирования экспериментальных моделей (таблица 1). В результате проведенных исследований было установлено, что на фоне хронической алкоголизации животных происходит выброс ферментов – ЛДГ и АЛТ из ткани печени и наблюдается увеличение их активности в плазме крови в 1,7–2,2 раза. Одновременное моделирование аллоксанового диабета и хронической алкогольной интоксикации у животных 4-й экспериментальной группы ожидаемо сопровождалось еще более значительным увеличением маркеров цитолитического синдрома. Активность ЛДГ в данном случае возростала до уровня значе-

ний, превышающих контрольные в 3,3 раза. Активность АЛТ в плазме крови крыс 4-й группы превышала значение аналогичного показателя 1-й группы в 2,2 раза. Максимальные значения маркеров цитолиза гепатоцитов у животных 4-й группы наглядно демонстрируют влияние сопутствующего развития СД, проявляющееся в усилении поражения печени на фоне алкоголизации.

Таблица 1 – Изменения маркеров цитолитического синдрома у животных на фоне хронической алкогольной интоксикации и аллоксанового диабета (Ме (Q₁/Q₃)) (Ме (Q₁-Q₃))

Группа, № №	Показатели		
	ЛДГ, ед/л	АЛТ, ед/л	АСТ, ед/л
1 (контрольная)	86,4 (77,2/105,8)	23,5 (19,4/24,5)	44,6 (42,9/47,9)
2 (СД)	113,3 (95,8/125,0)	23,4 (22,0/24,3)	47,6 (44,2/50,5)
3 (А)	193,6 (175,5/220,1) *	40,2 (35,8/48,9) *	45,3 (40,3/47,6)
4 (А+СД)	285,2 (247,5/302,1) *^#	50,7 (42,6/65,6) *^	49,3 (47,8/55,5)

Примечание: * – наличие статистически значимых отличий от контрольного показателя ($p < 0,05$); ^ – наличие статистически значимых различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей 2-й и 4-й групп; # – наличие статистически значимых различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей 3-й и 4-й групп.

Определение концентрации глюкозы в плазме крови ожидаемо показало ведущее влияние моделирования аллоксанового диабета. У экспериментальных животных 2-й группы уровень данного показателя (10,65 (10,26/11,56) ммоль/л) превышал значение контрольного параметра на 66 %, а для крыс 4-й группы было характерно еще более существенное возрастание уровня гликемии – до цифр, превышающих контрольные в 2,0 раза (12,93 (12,19/14,68) ммоль/л). Таким образом, исследование основных лабораторных маркеров позволило установить, что развитие СД на фоне хронической алкогольной интоксикации у животных характеризуется обоюдным усилением и повреждения печени и нарушения углеводного обмена.

Изменения липидного профиля плазмы крови животных были в также продиктованы развитием аллоксанового диабета. У животных 2-й группы на фоне СД был статистически значимо увеличен уровень концентрации общего холестерина на 66 % (5,22 (4,86/5,42) ммоль/л), концентрация ХС ЛПНП была увеличена в 2,0 раза (4,05 (3,65/4,22) ммоль/л). Аналогичные значения рассматриваемых показателей были определены и у крыс 4-й группы. Кроме того, у животных всех опытных групп, включая крыс только с хронической алкогольной интоксикацией, была определена увеличенная на 54–71 % концентрация триглицеридов плазмы крови (0,65–0,72 ммоль/л). Отсутствие статистически значимых отличий между параметрами липидного профиля 2-й и 4-й групп лабораторных животных может быть объяснено второстепенным участием обмена жиров в развитии и течении изученных патологических процессов.

Одной из сторон нарушения липидного обмена может быть перекисное окисление липидов. Для интегральной оценки уровня оксидативного стресса была определена концентрация ТБК-реактивных продуктов в эритроцитарной взвеси. У всех основных групп лабораторных животных уровень данного показателя был статистически значимо выше уровня значения соответствующего параметра кон-

трольной группы. Так на фоне хронической 2-х месячной алкоголизации животных содержание продуктов окислительных модификаций биомолекул было увеличено на 34 %. У крыс 2-й группы содержание ТБК-реактивных продуктов превышало уровень контрольных значений на 68 %, а для животных 4-й группы были характерны еще более высокие цифры – на 85 % превышающие контрольные. Таким образом, максимальные значения были ассоциированы с развитием СД. Это обусловлено более высоким уровнем окислительного стресса, что подтверждается и нашими данными и общими представлениями об участии свободнорадикальных процессов в развитии и прогрессировании осложнений хронической гипергликемии. Такие выводы обоснованы также выявленными особенностями изменений активности ферментного звена. На фоне моделирования аллоксанового диабета или хронической алкоголизации животных активность СОД в эритроцитарной взвеси была сниженной на 10–13 %, а у животных 4-й группы значение анализируемого показателя отставало от контрольных цифр на 29 %. Наиболее низкие значения активности КАТ, на 42 % ниже контрольных цифр, были определены у животных 2-й группы (9,42 (7,96/10,74) ммоль/л×мин). На 31 % ниже контрольного уровня было значение активности анализируемого фермента антиоксидантной защиты в крови животных 3-й группы (11,24 (10,54/14,02) ммоль/л×мин). В эритроцитах крыс 4-й группы каталазная активность снижена только на 19 % (13,08 (11,39/15,25) ммоль/л×мин). Можно отметить ведущую роль СД в развитии окислительных повреждений, однако сочетанное течение аллоксан-индуцированного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации представляет собой качественно новое состояние, отличающееся в том числе по проявлениям окислительного стресса от изолированных форм патологических состояний.

Концентрация восстановленной формы глутатиона в эритроцитарной взвеси животных основных экспериментальных групп составляла в среднем 1,66–1,69 мкмоль/мл, что было ниже контрольных значений соответствующего показателя на 31–32 % (таблица 2). Активность ферментов системы глутатиона имела тенденцию к увеличению в эритроцитах крыс основных групп. Так активность ГР у животных с аллоксан-индуцированным СД превышала контрольные цифры на 38 %, а у крыс, подвергавшихся хронической алкоголизации в течение 2-х месяцев – на 88 %. В эритроцитарной взвеси животных 4-й

Таблица 2 – Изменения показателей системы глутатиона эритроцитарной взвеси у животных на фоне хронической алкогольной интоксикации и аллоксанового диабета (Ме (Q1/Q3))

Группа, № №	Показатели		
	ГПО, мкмоль/л×мин	ГР, мкмоль/л×мин	GSH, мкмоль/мл
1 (контр.)	330,2 (300,55/358,69)	742,23 (650,30/800,25)	2,44 (2,29/2,62)
2 (СД)	553,30 (502,10/585,96) *	1021,03 (911,80/1131,57) *	1,68 (1,61/1,74) *
3 (А)	496,59 (423,14/507,09) *	1392,1* (1297,9/1411,5)	1,66 (1,51/2,06) *
4 (А+СД)	347,99 (328,69/414,68) ^#	961,9 (889,14/1124,81) *#	1,69 (1,63/2,14) *

Примечание: * – наличие статистически значимых отличий от контрольного показателя ($p < 0,05$); ^ – наличие статистически значимых различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей 2-й и 4-й групп; # – наличие статистически значимых различий ($p < 0,05$) при сравнении показателей 3-й и 4-й групп.

группы активность ГР была увеличена на 30 %. Активность ГПО эритроцитов крыс 2–3-й групп была увеличена примерно в одинаковой степени – на 50–68 %. Сниженные значения активности КАТ и СОД при увеличенных значениях активности ГР и ГПО очевидно свидетельствуют о дисбалансе ферментного звена антиоксидантной системы, а увеличение содержания ТБК-реактивных продуктов – об интенсификации свободнорадикальных повреждений, что в совокупности составляет классические лабораторные признаки окислительного стресса. Однако высокие значения активности ферментов метаболизма глутатиона могут свидетельствовать о наличии компенсаторных явлений, которые вероятнее всего не справляются с интенсификацией продукции АФК. При этом сравнительно низкие значения активности ферментов тиолового гомеостаза у животных 4-й группы относительно параметров 2–3-й групп могут указывать на явления декомпенсации данного звена системы антиоксидантной защиты с дальнейшим прогрессированием окислительных повреждений и развитием осложнений.

Оценка эндогенной интоксикации показала увеличенное количество веществ со средней и низкой молекулярной массой в биожидкостях животных 2–4-й групп. Для животных 2-й группы было характерно увеличенное значение содержания эндотоксинов плазмы крови на 17 % (10,3 (9,8/10,6) усл. ед.) и эритроцитарной взвеси – на 42 % (19,7 (17,8/21,0) усл. ед.). На фоне хронической алкогольной интоксикации уровень плазменной фракции веществ со средней и низкой молекулярной массой превышал контрольные значения на 27 % (10,8 (10,4/11,3) усл. ед.), а уровень эритроцитарной фракции был увеличен в 2,4 раза (24,6 (22,3/27,1) усл. ед.). Содержание субстратов эндотоксикоза в крови крыс 4-й группы представляло собой среднее между значениями показателей групп с изолированным моделированием СД или хронической алкогольной интоксикации. Исследование уровня эндогенной интоксикации показало, что в данном случае ведущее влияние оказывает моделирование хронической алкоголизации. Сам этиловый спирт и его метаболиты являются токсическими субстратами, оказывающими прямое повреждающее действие на структуры печени, что способствует накоплению токсических веществ напрямую и за счет снижения активности системы дезинтоксикации, локализованной также преимущественно в печени.

Уровень интенсивности флуоресценции продуктов гликирования белков был резко увеличен у животных, которым выполняли моделирование аллоксан-индуцированного диабета. Так у животных 2-й группы были определены максимальные значения данного параметра (1,35 (1,23/1,44) усл. ед.), превышающие контрольные цифры на 69 %. У крыс 4-й группы содержание продуктов неферментного гликирования было несколько ниже и достигало значений, превышающих контрольные на 33 % (1,06 (1,00/1,15) усл. ед.). Возможно, что это связано с конкуренцией между процессами гликирования белков на фоне гипергликемического состояния и ацилирования белков с ацетальдегидом – продуктом метаболизма этилового спирта. Обе реакции преимущественно протекают по амидной группе остатков лизина в молекулах белка. Поэтому кажущееся снижение уровня неферментного гликирования белков в данном случае не является доказательством позитивного влияния этилового спирта на формирование поздних осложнений СД и в целом прогноз заболевания.

Содержание остатков битирозина было увеличено на 17–20 % также только у лабораторных животных 2-й и 4-й групп (1,88–1,93 усл. ед.). Было зафиксировано снижение интенсивности собственной флуоресценции триптофанилов белков плазмы крови на 26–31 % у животных 2–4-й групп (18,9–20,0 усл. ед.). В результате проведенной оценки интенсивности флуоресценции АНС было показано снижение данного параметра на фоне хронической алкогольной интоксикации на 11 % относительно нормальных значений, а у животных 4-й группы данный показатель был на 17 % ниже контроля. Нарушение связывания АНС с молекулой белка может быть связано с тем, что все места связывания заняты или эндотоксинами, или вследствие модификаций белка при его гликировании или окислении.

Общим итогом первого раздела исследования является определение ведущего значения моделирования СД в развитии окислительного стресса и ключевой роли хронической алкоголизации животных в развитии эндогенной интоксикации. Экспериментальное моделирование сочетанного патологического процесса, сопровождалось интенсификацией окислительных процессов и эндогенной интоксикации, при этом общая выраженность данных нарушений в целом соответствовала изолированным формам изученных патологий с некоторыми особенностями, определяющими сочетанную форму как качественно новое состояние организма животного или коморбидное состояние. Наложение друг на друга эффектов метаболических нарушений у животных 4-й группы способствовало усилению основных лабораторных проявлений, характеризующих нарушения углеводного обмена и цитолитический синдром при поражении печени.

Исследование эффективности использования серосодержащих препаратов для снижения цитолиза гепатоцитов показало неоднозначные результаты (таблица 3). Введение гептрала животным с моделированием хронической алкогольной интоксикации показало наиболее высокую эффективность, заключающуюся в способности снижать проявления цитолитического синдрома. Активность ЛДГ в плазме крови крыс 5-й группы статистически значимо не отличалась от значения контрольного показателя, активность АЛТ в плазме крови превышала контрольные цифры только на 31 %. На фоне введения метионина активность ЛДГ в плазме

Таблица 3 – Показатели цитолитического синдрома у крыс с хронической алкогольной интоксикацией и коррекцией серосодержащими гепатопротекторами (Ме (Q1/Q3))

Группы, № №	Показатели плазмы крови	
	ЛДГ, ед/л	АЛТ, ед/л
1 (контрольная)	86,4 (77,2/105,8)	23,5 (19,4/24,5)
3 (сравнения)	193,6 (175,5/220,1)*	40,2 (35,8/48,9)*
5	58,0 (52,0/66,7)^	30,8 (26,8/32,0)*^
6	297,4 (250,3/320,8)*^	48,1 (44,6/50,2)*
7	167,3 (152,5/176,5)*	45,2 (42,1/47,5)*
8	142,1 (132,1/158,7)*^	45,2 (42,0/47,0)*
9	144,0 (130,0/151,3)*^	34,4 (31,2/35,8)*^

Примечание: * – наличие статистически значимых отличий от контрольного показателя ($p < 0,05$); ^ – наличие статистически значимых отличий от показателя группы сравнения ($p < 0,05$).

крови достигала средних значений почти 300 ед/л, что было в 1,5 раза выше уровня животных группы сравнения, активность АЛТ также была увеличена и достигала уровня, превышающего значения показателя группы сравнения на 20 %. Введение липоевой кислоты по какой-либо из схем оказывало слабое влияние на маркеры повреждения печени у крыс 7–9 групп. Только у животных 9-й группы активность обоих изученных лабораторных маркеров была ниже значений соответствующих показателей группы сравнения: активность ЛДГ была снижена на 25 %, а активность АЛТ – на 14 %. Дальнейшие исследования нарушений обмена веществ и особенностей изменений окислительного метаболизма были направлены на поиск объяснений результатов оценки влияния серосодержащих соединений на цитолиз гепатоцитов в условиях хронической алкогольной интоксикации.

В результате проведенных исследований влияния серосодержащих соединения на состояние окислительного гомеостаза было установлено, что у животных группы сравнения значение общей АОА плазмы крови было снижено на 23 % относительно показателя контрольной группы (рисунок 1). Проведение коррекции любым из способов способствовало увеличению анализируемого показателя до уровня контрольной группы. При этом наиболее высокие значения общей АОА были определены в крови животных, которым вводили липоевую кислоту по одной из предложенных схем. Очевидно, что не прослеживается связь между антиоксидантным потенциалом плазмы крови и выраженностью поражения печени. Это указывает на небольшие перспективы поиска эффективных гепатопротекторов среди веществ, являющихся по своему механизму прямыми гидрофильными антиоксидантами. Анализ маркеров окислительного стресса показал, что в крови крыс группы сравнения содержание ТБК-реактивных продуктов было увеличено на 34 % (1,31 (1,24/1,43) усл. ед.), диеновых конъюгатов – в 2,1 раза (0,32 (0,26/0,35) усл. ед.), а триеновых конъюгатов – в 4,4 раза (0,40 (0,35/0,43) усл. ед.). На фоне введения адеметионина концентрация ТБК-реактивных продуктов не отличалась от уровня контрольных цифр (1,05 (0,98/1,10) усл. ед.), содержание

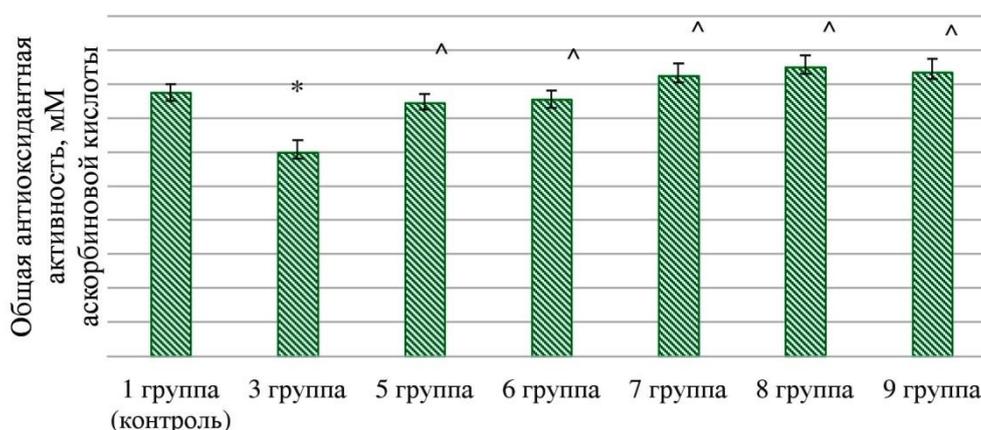


Рисунок 1 – Изменение общей антиоксидантной активности плазмы крови крыс с хронической алкогольной интоксикацией и коррекцией серосодержащими гепатопротекторами (Me (Q1/Q3)).

Примечание: * – наличие статистически значимых отличий от контрольного показателя ($p < 0,05$); ^ – наличие статистически значимых отличий от показателя группы сравнения ($p < 0,05$).

диеновых соответствовало уровню аналогичного показателя группы сравнения, а содержание триеновых конъюгатов было ниже на 40 %. Использование метионина с целью метаболической коррекции способствовало снижению содержания только триеновых конъюгатов на 28 %. Введение липоевой кислоты демонстрировало в целом хороший эффект, направленный на снижение образование продуктов окислительных модификаций биомолекул. Наиболее эффективным оказалось снижение рассматриваемых показателей на фоне введения липоевой кислоты в парентеральной форме животным 8-й и 9-й групп. В данном случае уровень ТБК-реактивных продуктов эритроцитарной массы был снижен до уровня контрольной группы.

Исходно сниженная на 29 % концентрация глутатиона эритроцитарной взвеси животных группы сравнения оставалась на таком же уровне и в условиях проведения коррекции с использованием различных серосодержащих веществ (1,6–1,9 мкмоль/мл). Активность ферментов антиоксидантной защиты изменялась у крыс разных групп на фоне коррекции более сложным образом. Как уже было указано ранее активность КАТ у животных группы сравнения на фоне хронической алкогольной интоксикации была сниженной на 31 %, а активность ГПО эритроцитарной взвеси наоборот была увеличена на 50 % (таблица 2). Проведение метаболической коррекции с использованием S-аденозилметионина в составе гептрала способствовало наиболее выраженным изменениям активности анализируемых ферментов – их активность в эритроцитарной взвеси возвращалась к нормальным значениям. В крови животных 6-й группы, получавших свободный метионин, наблюдалось дальнейшее снижение каталазной активности, которая была ниже контрольного уровня в 2,3 раза (6,9 (6,2/7,6) моль/л×мин), активность ГПО при этом оставалась на уровне значения показателя животных группы сравнения. У животных 8-й и 9-й групп каталазная активность была существенно увеличена и даже превышала уровень контрольных цифр на 20–53 % (19,5–24,8 моль/л×мин). Активность другого фермента – ГПО при этом снижалась относительно соответствующего показателя 3-й группы и достигала в крови крыс 8-й и 9-й групп уровня контрольных значений.

Проведение терапии с использованием серосодержащих средств в разной степени способствовало снижению концентрации веществ со средней и низкой молекулярной массой. Во всех группах животных концентрация субстратов эндотоксикоза в плазме крови снижалась в равной степени и достигала уровня контрольных цифр. В эритроцитарной взвеси резко увеличенное содержание потенциально токсических субстратов на фоне терапии заметно снижалось. На фоне введения метионина данный показатель был снижен на 45 % (20,6 (18,7/22,2) усл. ед.) относительно группы сравнения. Введение аденозилметионина или липоевой кислоты по пероральной схеме способствовало снижению рассматриваемого параметра на 51 % (16,5 (15,7/18,0) усл. ед.). Наиболее высокая эффективность была выявлена при использовании липоевой кислоты у животных 8-й и 9-й групп. Результаты исследований показали возможность снижения уровня эндогенной интоксикации при использовании различных серосодержащих соединений и даже метионина, который демонстрировал отрицательные результаты при оценке цитолиза. Не отличались значения содержания

эндотоксинов в биожидкостях крыс, получавших адеметионин или липоевую кислоту. Вероятно, что уменьшение проявлений эндотоксикоза – важный патогенетический аспект хронической алкогольной интоксикации, но недостаточный для защиты гепатоцитов от повреждений.

Определение показателей окислительного метаболизма в печени показало более значительные отличия между группами животных, получавших аденозилметионин и другие серосодержащие препараты. Исследование общей АОА гомогената печени показало снижение значения данного показателя на 31 % на фоне развития хронической алкогольной интоксикации (рисунок 2). Только введение адеметионина способствовало увеличению уровня общей АОА гомогената печени относительно значения показателя группы сравнения, тогда как в других группах аналогичные показатели оставались такими же низкими, как и в 3-й группе. Учитывая, что уровень общей АОА в плазме крови был увеличен во всех опытных группах, здесь большее значение имеет косвенное влияние адеметионина на систему антиоксидантной защиты через его метаболические эффекты в гепатоцитах.

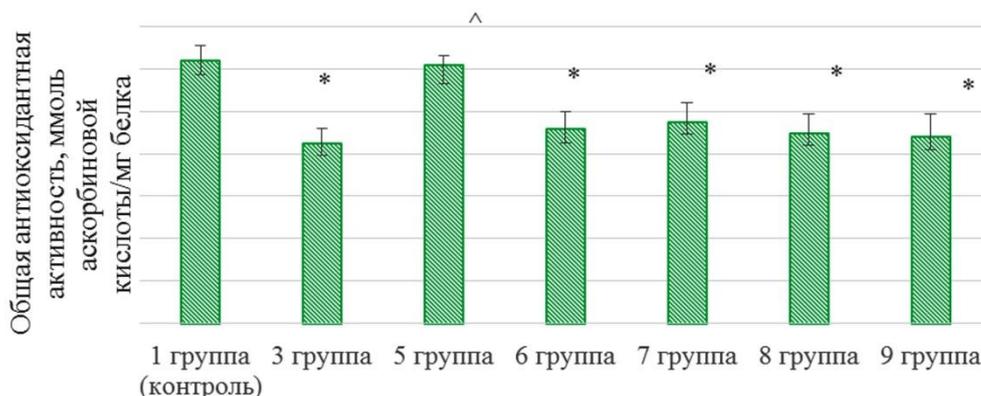


Рисунок 2 – Изменение общей антиоксидантной активности гомогената печени крыс с хронической алкогольной интоксикацией и коррекцией серосодержащими гепатопротекторами (Me (Q1/Q3)).

Примечание: * – наличие статистически значимых отличий от контрольного показателя ($p < 0,05$); ^ – наличие статистически значимых отличий от показателя группы сравнения ($p < 0,05$).

При определении маркеров состояния системы антиоксидантной защиты печени была определена сниженная на 39 % концентрация глутатиона на фоне развития хронической алкогольной интоксикации у крыс (2,0 (1,9/2,1) мкмоль/г ткани). Только коррекция с использованием адеметионина сопровождалась ростом данного показателя на 35 % (2,7 (2,6/2,9) мкмоль/г ткани) относительно группы сравнения. Активность ферментов системы антиоксидантной защиты печени крыс на фоне хронической алкоголизации имела отчетливую тенденцию к увеличению. Так активность ГПО паренхимы печени животных 3-й группы была увеличена в 2,0 раза (20,3 (19,0/21,1) мкмоль/мин×мг белка), а активность КАТ превышала контрольные цифры уже в 3,6 раз (5,1 (4,5/6,2) ммоль/мин×мг белка). На фоне проведения метаболической коррекции активность рассматриваемых ферментов имела тенденцию к снижению. Наиболее существенное

снижение активности ГПО было зафиксировано на фоне введения адеметионина (8,8 (8,4/9,5) мкмоль/мин×мг белка). У животных остальных групп уровень активности ГПО оставался выше контрольных цифр, но все же ниже, чем в группе сравнения. Активность КАТ у животных на фоне проведения терапии также стремилась к снижению в сторону уровня 1-й группы, кроме показателя 7-й группы лабораторных животных. На фоне введения гептрала активность КАТ гомогената печени, как и ГПО, возвращалась к нормальным значениям. У животных 6-й и 9-й групп каталазная активность гомогената печени (2,2–2,4 ммоль/мин×мг белка) была ниже аналогичного показателя группы сравнения в 2,1–2,3 раза, но оставалась выше контрольных цифр в 1,6–1,7 раза.

Основные данные о состоянии энергетического обмена и функционального состояния митохондрий гепатоцитов были получены при исследовании способности изолированных митохондрий печени крыс генерировать мембранный потенциал при внесении в тест-систему сукцината натрия (рисунок 3). Было показано, что митохондрии интактной печени крыс способны генерировать потенциал около 180 мВ (данные получены согласно расчетным теоретическим формулам). На фоне хронической алкогольной интоксикации данный параметр значительно снижался, достигая в среднем 113 мВ. Только введение аденозилметионина было способно обеспечить увеличение анализируемого параметра до уровня 160 мВ, в то время как на фоне введения липоевой кислоты никаких статистически значимых изменений не было выявлено, а введение метионина оказывало негативный эффект на функциональное состояние митохондрий печени – среднее расчетное значение мембранного потенциала было снижено до 67 мВ.

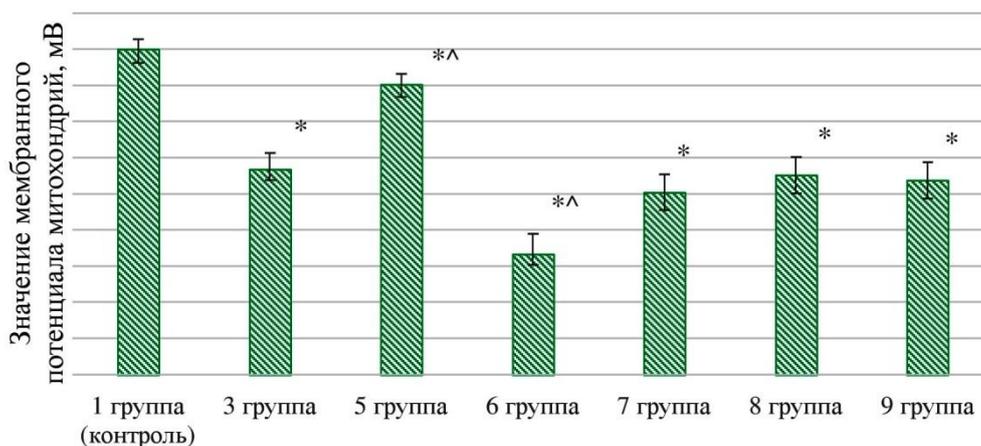


Рисунок 3 – Изменение мембранного потенциала изолированных митохондрий печени крыс с хронической алкогольной интоксикацией и коррекцией серосодержащими гепатопротекторами (Me (Q1/Q3)).

Примечание: * – наличие статистически значимых отличий от контрольного показателя ($p < 0,05$); ^ – наличие статистически значимых отличий от показателя группы сравнения ($p < 0,05$).

Таким образом, было установлено, что липоевая кислота оказывает существенное воздействие на метаболические системы крови, проявляющееся в повышении общей антиоксидантной активности плазмы крови, снижении образования продуктов окислительных модификация биомолекул и частичном восстановлении функциональной активности ферментов антирадикальной защиты. На этом фоне

отмечалось частичное снижение активности ЛДГ и АЛТ – маркеров цитолитического синдрома, отражающих выраженность поражения печени. При этом практически не было выявлено признаков влияния липоевой кислоты на метаболические системы самой печени. Сравнительная оценка разных схем введения этого серосодержащего соединения показала преимущество парентерально введения, что проявлялось в более значительном снижении интенсивности свободнорадикальных процессов и цитолиза гепатоцитов. Однако, одинаковые результаты были получены при изучении эффективности только внутрибрюшинного введения или предварительной терапии парентеральной формой липоевой кислоты в течение недели с последующим переходом на поддерживающую коррекцию с пероральной формой препарата. Похожие по влиянию на состояние антиоксидантной системы результаты были достигнуты не только при использовании вещества с прямой антиоксидантной активностью – липоевой кислоты, но и при введении тиоэфирных соединений – метионина и его активной формы. Однако в остальном эффекты этих веществ имели множество отличий. Аденозилметионин оказался наиболее эффективным цитопротектором, что выражалось в снижении активности АЛТ и ЛДГ практически до уровня нормальных значений. Влияние активной формы метионина на некоторые показатели системы антиоксидантной защиты крови возможно были не такими значительными, как при использовании липоевой кислоты, зато только этот препарат оказывал заметное влияние на метаболические системы печени. Введение же свободного метионина оказывало эффекты ухудшения состояния цитолиза гепатоцитов, не способствовало снижению интенсивности образования продуктов перекисного окисления липидов и усиливало нарушения функционального состояния митохондрий печени. Такая разница в использовании метионина и его активной формы может быть обусловлена тем, что на фоне хронической алкогольной интоксикации нарушения энергообмена – гипоэнергетическое состояние, подтвержденное нарушением способности митохондрий печени генерировать мембранный потенциал, затрудняет образование S-аденозилметионина, требующего для этого молекулы АТФ и всех ее остатков фосфорной кислоты. При этом перегрузка печени метионином в таких условиях может не только не способствовать усилению детоксицирующей функции, но и в некоторой степени поддерживать радикально-цепные реакции. Мы предполагаем, что в данном случае так и может происходить при накоплении метионина в печени и трудности вовлечения его в трансметилирование на фоне гипоэнергетических состояний. Введение же сразу активной формы S-аденозилметионина лишено этого недостатка и позволяет в полной мере раскрыться гепатопротективному потенциалу этого соединения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспериментальное моделирование аллоксанового диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации у крыс, сопровождалось интенсификацией окислительных процессов и эндогенной интоксикации, при этом общая выраженность данных нарушений в целом соответствовала изолированным формам изученных патологий с некоторыми особенностями, определяющими сочетан-

ную форму как качественно новое состояние организма животного или коморбидное состояние. Было показано, что в данных условиях ведущее значение в развитии окислительного стресса играет формирование сахарного диабета, а в развитии эндогенной интоксикации ключевое значение имеет хроническая алкоголизация животных. Наложение друг на друга эффектов метаболических нарушений у животных с сочетанной формой патологии способствовало усилению основных лабораторных проявлений, характеризующих нарушения углеводного обмена и цитолитический синдром при поражении печени.

Результаты проведенных исследований также подтвердили возможность коррекции метаболических нарушений и повреждения печени в условиях хронической алкогольной интоксикации с использованием различных серосодержащих средств. Наиболее высокую эффективность, особенно в области решения основной задачи – гепатопротекции, продемонстрировал аденозилметионин. Использование метионина в целом показало противоположные результаты, а введение липоевой кислоты по одной из исследуемых схем в основном оказывало действие, направленное на поддержку функциональной активности антиоксидантной системы крови, но не способствовало усилению данного звена системы неспецифической резистентности печени. Сравнительная оценка разных схем введения липоевой кислоты показала преимущество парентерально введения, что проявлялось в более значительном снижении интенсивности свободнорадикальных процессов и цитолиза гепатоцитов. Однако, одинаковые результаты были получены при изучении эффективности только внутрибрюшинного введения или предварительной терапии парентеральной формой липоевой кислоты в течение недели с последующим переходом на поддерживающую коррекцию с пероральной формой препарата.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментальное моделирование сахарного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации у крыс сопровождается усилением повреждения печени и нарушений углеводного обмена. Это подтверждено превышением активности ЛДГ и АЛТ в плазме крови крыс с сочетанной формой патологического процесса на 48 % и 26 % соответственно при сравнении с показателями животных с хронической алкогольной интоксикацией, а также увеличенным содержанием глюкозы плазмы крови на 21 % относительно значения соответствующего показателя крыс с аллоксановым диабетом.

2. Изменения липидного профиля и нарушения окислительного метаболизма в условиях сочетанного моделирования хронической алкогольной интоксикации и аллоксан-индуцированного диабета в основном связаны с развитием сахарного диабета, тогда как алкоголизация животных оказывает основное влияние на развитие эндогенной интоксикации. При этом общая выраженность данных нарушений в целом соответствовала изолированным формам изученных патологий с некоторыми особенностями, определяющими сочетанную форму как качественно новое состояние организма животного. Сочетание метаболических эффектов алкоголизации и сахарного диабета способствует усиле-

нию основных лабораторных проявлений, характеризующих нарушения углеводного обмена и цитолитический синдром.

3. Введение S-аденозилметионина животным с хронической алкогольной интоксикацией показало выраженные цитопротективные способности, что выразалось в снижении активности АЛТ и ЛДГ практически до уровня нормальных значений. Это в основном было связано с влиянием на метаболические системы печени, поскольку использование только этого препарата сопровождалось повышением общей антиоксидантной активности на 43 %, увеличением концентрации глутатиона на 35 %, восстановлением функционального состояния ферментов антирадикальной защиты и нормализацией энергетического метаболизма в гепатоцитах.

4. Введение свободного метионина оказывало в основном негативные эффекты, связанные с дополнительным усилением цитолиза гепатоцитов и увеличением активности ЛДГ и АЛТ на 54 % и 20 % соответственно, не способствовало снижению интенсивности образования продуктов перекисного окисления липидов и усиливало нарушения функционального состояния митохондрий печени. Это может быть связано с нарушением активации метионина, требующим затраты АТФ на фоне гипозэнергетического состояния, подтверждающегося снижением на 63 % способности митохондрий генерировать мембранный потенциал.

5. Использование липоевой кислоты оказывает существенное воздействие на метаболические системы крови, проявляющиеся в повышении общей антиоксидантной активности плазмы крови на 42 %, снижении образования продуктов окислительных модификация биомолекул на 27–50 % и восстановлении функциональной активности ферментов антирадикальной защиты. Тем не менее этого было недостаточно для реализации цитопротективных свойств, характерных для тиоэфирного соединения – S-аденозилметионина. Для разработки эффективных способов гепатопротекции более перспективным направлением является поиск соединений, обладающих не только прямой антиоксидантной активностью, но и обеспечивающих усиление детоксикационной функции печени.

6. Сравнительная оценка разных схем введения липоевой кислоты показала преимущество парентерально введения, что проявлялось в значительном снижении интенсивности свободнорадикальных процессов и цитолиза гепатоцитов. Однако, одинаковые результаты были получены при изучении эффективности только внутрибрюшинного введения или предварительной терапии парентеральной формой липоевой кислоты в течение недели с последующим переходом на поддерживающую коррекцию с пероральной формой препарата, что позволяет обосновано рекомендовать эту схему терапии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для коррекции нарушений антиоксидантного статуса крови при хронической алкогольной интоксикации можно использовать липоевую кислоту, которую на начальном этапе (в течение недели) необходимо вводить в парентеральной форме с дальнейшим переходом на поддерживающую терапию в пероральной форме этого препарата. При этом целесообразно дополнять такую схе-

му терапии средствами с доказанной гепатопротекторной направленностью действия.

2. С целью коррекции повреждений печени, развивающихся на фоне хронической алкогольной интоксикации целесообразно использовать активную форму метионина – аденозилметионин, который направленно действует на метаболические системы печени. При этом свободный метионин вводить не рекомендуется, так как он только усиливает повреждение гепатоцитов, что подтверждается увеличением маркеров цитолитического синдрома.

3. При сочетанном течении сахарного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации для повышения информативности оценки метаболических нарушений и прогнозирования течения заболевания следует учитывать изменения маркеров окислительного стресса (содержание ТБК-реактивных продуктов, активность КАТ и СОД в эритроцитах, уровень тиоловых групп и битиروزина в плазме крови), основной вклад в которые вносит сахарный диабет, и эндогенной интоксикации (ВСиНММ плазмы крови и эритроцитов, флуоресценция 1,8-АНС в плазме крови), ведущее значение в изменении которых имеет алкоголизация.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе была разработана экспериментальная модель сочетанного развития сахарного диабета на фоне хронической алкогольной интоксикации, что приближает течение патологического процесса к реальным клиническим ситуациям. Это позволит в перспективе детальнее и точнее исследовать патобиохимические процессы, характерные для выбранных нозологических форм, а также проводить более объективную оценку способов метаболической коррекции. Проведенный сравнительный анализ эффективности некоторых серосодержащих веществ в терапии алкогольного поражения печени позволил сформулировать несколько выводов о связи антиоксидантной активности, детоксицирующей функции и гепатопротективной активности соединений. Развитием этого направления может являться сравнительное исследование изученных соединений с другими гепатопротекторами разного механизма действия, расширение спектра серосодержащих соединений, например, за счет таурина, тиосудьфата натрия, тиотриазолина и др. Это может позволить обосновать механизмы метаболической защиты печени, а также принципы разработки новых гепатопротекторов.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Особенности чувствительности тиоловых групп белков плазмы крови к окислительным модификациям / И.М. Быков, И.А. Егорова, **Х.П. Бербериди** [и др.] // Аллергология и иммунология. Материалы XXIV Всемирного конгресса по клинической медицине и иммунореабилитации. Дубай, ОАЭ, 1–7 февраля 2017 г. – Т. 18. – № 4. – С. 232–233.

2. The peculiarities in sensibility of the protein thiol groups in the blood plasma to oxidative modification / I.M. Bykov, I.A. Egorova, **Kh.P. Berberidi** [et al.] // International Journal on Immunorehabilitation. XII World congress on COPD, asthma and respiratory allergy. Dubai, UAE, February 2–5, 2018. – Vol. 20. – № 1. – P. 38–39.

***3. Thiol groups of proteins of the blood plasma as the state indices for the non-specific resistance system of an organism / I. Bykov, I. Egorova, Ch. Berberidi [et al.] // Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: innovative technologies, Filodiritto International Proceedings, Bologna, Italy. – 2018. – Vol. 10. – P. 291–296.**

4. Особенности окислительных нарушений при ишемии–реперфузии печени у крыс / И.М. Быков, К.А. Попов, **Х.П. Бербериди** [и др.] // Аллергология и иммунология. Материалы XXV Всемирного конгресса по реабилитации в медицине и иммунореабилитации. Барселона, Испания 19–25 апреля 2018 г. – Т. 19. – № 1. – С. 55–56.

***5. Characterization of the metabolic disorders in rats with alloxan-induced diabetes and chronic alcoholic intoxication / I.M. Bykov, K.A. Popov, H.P. Berberidi [et al.] // Medical News of North Caucasus. – 2018. – Vol. 13. – Iss. 3. – С. 511–515.**

6. Метаболические нарушения у крыс с хронической алкогольной интоксикацией и возможности их коррекции / **Х.П. Бербериди**, И.М. Быков, И.Ю. Цымбалюк, К.А. Попов // Acta Naturae. – 2019. – СПЕЦВЫПУСК. – Том 2. – С. 211.

***7. Comparison of the effectiveness of various sulphur-containing hepatoprotectors against chronic alcoholization / I.M. Bykov, H.P. Berberidi, K.A. Popov [et al.] // Medical News of North Caucasus. – 2019. – Vol. 14 (3). – P. 523–527.**

***8. Особенности изменений биохимических показателей у крыс с алкогольной интоксикацией на фоне коррекции с использованием липоевой кислоты / Х.П. Бербериди, К.А. Попов, И.М. Быков [и др.] // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2019. – Т. 9. – № 3. – С. 13–18.**

9. Особенности лабораторной оценки повреждения печени крыс в эксперименте / И.Ю. Цымбалюк, И.М. Быков, **Х.П. Бербериди** [и др.] // Аллергология и иммунология. Материалы XIII Всемирного конгресса по астме, аллергии и иммунопатологии, III Международного конгресса по молекулярной аллергологии. Москва, 22–24 октября 2020 г. – Т. 21. – № 1. – С. 52–53.

***10. Laboratory assessment of rat liver damage in an experiment / I.Yu. Tsymbalyuk, E. Ustinova, H. Berberidi [et al.] // Allergy, Asthma, COPD, Immunophysiology & Immunorehabilitology: innovative technologies, Filodiritto International Proceedings, Bologna, Italy. – 2021. – P. 173–177.**

* – работа опубликована в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛТ	– аланинаминотрансфераза
АНС	– 1-анилинонафталин-8-сульфонат
АОА	– антиоксидантная активность
АСТ	– аспаргатаминотрансфераза
АФК	– активные формы кислорода
ГПО	– глутатионпероксидаза
ГР	– глутатионредуктаза
КАТ	– каталаза
ЛДГ	– лактатдегидрогеназа
ХС ЛПВП	– холестерол липопротеинов высокой плотности
ХС ЛПНП	– холестерол липопротеинов низкой плотности
ОХС	– общий холестерол
СД	– сахарный диабет
СОД	– супероксиддисмутаза
ТБК	– тиобарбитуровая кислота
GSH	– восстановленный глутатион