

УДК 577.1: 612.396.22

В. Войтенко, асп., І. Степанець, асп., В. Конопельнюк, канд. біол. наук,
О. Савчук, д-р біол. наук, Л. Остапченко, проф.**ОЦІНКА РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ**

Проведено аналіз основних біохімічних показників сироватки крові щурів за умов моделювання хронічної алкогольної інтоксикації. Встановлено зміни досліджуваних показників сироватки крові, що вказує на суттєві порушення функціонування різних органів та систем організму.

Ключові слова: алкогольна інтоксикація, етанол, сироватка крові.

Проведен анализ основных биохимических показателей сыворотки крови крыс в условиях моделирования хронической алкогольной интоксикации. Установлены изменения исследуемых показателей сыворотки крови, что указывает на существенные нарушения функционирования различных органов и систем организма.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, этанол, сыворотка крови.

The analysis of basic biochemical parameters of blood serum of rats modeling chronic alcohol intoxication. Some changes were studied parameters of serum, indicating significant dysfunction of various organs and body systems.

Keywords: alcohol intoxication, ethanol, serum blood.

Вступ. Алкогольна залежність є хронічним розладом, що викликається рядом генетичних, соціально-психологічних та екзогенних факторів. Медико-соціальне значення проблеми визначається перш за все значною розповсюдженістю вживання алкоголю, що призводить до шкідливих наслідків для здоров'я населення в цілому. Виявлено, що в останні сто років зростання зловживання спиртними напоями випереджає приріст населення [1]. За останніми даними ВОЗ, алкоголізмом уражені від 1 до 10% дорослого населення та летальність у зв'язку з вживанням алкоголю становить 30 % у чоловіків та 17 % у жінок. Зловживання алкоголем, як відомо, сприяє розвитку соматичних і психічних захворювань і прямо або побічно є однією з найважливіших причин смертності населення [2]. Алкоголізм є причиною смерті в стані сп'яніння при захворюваннях серцево-судинної, травної систем, печінки, нирок, при венеричних захворюваннях, травматизмі. Етанол уражає всі органи і тканини організму і викликає розвиток в них патологічних процесів, ускладнює перебіг багатьох захворювань [3]. Отримані за останні роки результати наукових досліджень щодо впливу алкоголю на організм людини та експериментальних тварин, а також продовження роботи у цьому напрямку поповняють і поглиблюють сучасні уявлення про особливості дії етанолу в організмі.

Метою нашої роботи була оцінка розвитку хронічної алкогольної інтоксикації у щурів на основі дослідження ключових маркерів розвитку даної патології.

Матеріали і методи досліджень. Досліди проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 160-200 г з дотриманням нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 року, Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі. Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації у піддослідних

тварин відтворювали за методом [4] шляхом внутрішньошлункового введення 30% етилового спирту з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини. Контрольну групу складали щури, яким у тому ж віці внутрішньошлунково вводили воду, яку використовували для розведення етанолу. Концентрацію глюкози встановлювали за допомогою приладу "ГЛЮКОФОР-II" (Україна) згідно інструкції. Біохімічний аналіз крові (вміст загального білірубину, креатиніну, сечовини, ліпопротеїдів низької щільності (ЛНЩ), ліпопротеїдів високої щільності (ЛВЩ), активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ), аланінаміно-трансферази (АЛТ), аспартатаміно-трансферази (АСТ), α -амілази) проводили за допомогою напіваавтоматичного біохімічного аналізатора Microlab 300 (Vital Scientific, Нідерланди). Тварини були розділені на 2 групи: 1 – контрольна група щурів; 2 – група щурів, яким вводили розчин етанолу протягом 11 діб. Для аналізу біохімічних показників відбирали тварин на 1, 3, 7 та 11 доби введення спиртового розчину та на 21 добу від початку введення етанолу. Статистичний аналіз здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу Microsoft Excel. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний критерій Стюдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Лабораторні тести дозволяють об'єктивізувати клінічні дані. Біологічні маркери допомагають отримати додаткову інформацію, необхідну для підтвердження епізоду недавнього вживання алкоголю, хронічної алкогольної інтоксикації, рецидиву алкоголізму [5]. У таблиці наведені основні показники біохімічного аналізу сироватки крові щурів, за якими можна характеризувати функціональний стан організму, та оцінити глибину метаболічних порушень та розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації.

Таблиця. Показники біохімічного аналізу сироватки крові щурів за умов розвитку експериментальної алкогольної інтоксикації ($M \pm m$, $n=8$)

	Контроль	1 Доба	3 Доба	7 Доба	11 Доба	21 Доба
Білірубін загальний, мкмоль/л	1,2 $\pm$ 0,26	1,8 $\pm$ 0,43	2,5 $\pm$ 0,18*	2,0 $\pm$ 0,54	2,4 $\pm$ 0,25*	2,8 $\pm$ 0,86*
АЛТ, од/л	27,1 $\pm$ 5,08	55,5 $\pm$ 10,18*	68,9 $\pm$ 9,83*	66,2 $\pm$ 10,43*	71,5 $\pm$ 8,34*	58,9 $\pm$ 2,20*
АСТ, од/л	154,4 $\pm$ 11,67	205,5 $\pm$ 14,02*	198,3 $\pm$ 17,62*	203,6 $\pm$ 8,94*	209,2 $\pm$ 10,01*	169,7 $\pm$ 25,43
ГГТ, од/л	2,7 $\pm$ 0,57	2,8 $\pm$ 0,50	2,4 $\pm$ 0,54	4,0 $\pm$ 0,58*	4,9 $\pm$ 0,99*	3,3 $\pm$ 0,54
α -амілаза, од/л	513,6 $\pm$ 87,73	755,8 $\pm$ 65,37*	746,6 $\pm$ 76,78*	735,6 $\pm$ 96,50*	792,7 $\pm$ 63,01*	553,6 $\pm$ 80,38
Креатинін, мкмоль/л	55,6 $\pm$ 4,01	52,4 $\pm$ 6,33	51,8 $\pm$ 6,27	61,1 $\pm$ 4,56	71,1 $\pm$ 5,94*	54,7 $\pm$ 7,73
Сечовина, ммоль/л	4,12 $\pm$ 0,34	6,00 $\pm$ 0,64*	6,40 $\pm$ 0,33*	6,30 $\pm$ 0,86*	7,32 $\pm$ 0,54*	8,40 $\pm$ 1,08*
ЛВЩ, ммоль/л	0,463 $\pm$ 0,054	0,620 $\pm$ 0,074*	0,710 $\pm$ 0,116*	0,703 $\pm$ 0,023*	0,752 $\pm$ 0,035*	0,596 $\pm$ 0,026
ЛНЩ, ммоль/л	0,170 $\pm$ 0,01	0,102 $\pm$ 0,03*	0,162 $\pm$ 0,02	0,217 $\pm$ 0,01*	0,221 $\pm$ 0,02*	0,228 $\pm$ 0,02*

* – $p < 0,05$ порівняно з контрольною групою

В клінічній практиці, як маркер алкоголізму, найчастіше використовується активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТ – мікросомальний фермент, який бере участь в обміні амінокислот, каталізує перенесення гамма-глутамілового залишку з пептиду або пептидоподібної речовини, що містить кінцевий глутаматний залишок, на амінокислоту, інший пептид, або іншу субстратну молекулу) [6]. В результаті проведених досліджень нами було показано підвищення рівня ГГТ на 1, 3, 7 та 11 добу та зниження в період абстинентного синдрому. Припускають, що алкоголь є прямим індуктором синтезу ГГТ. Активність ГГТ не підвищується при епізодичному вживанні алкоголю [7]. За даними літератури, зростання рівня ГГТ спостерігається при довгостроковому щоденному вживанні алкоголю [8]. Таким чином, активність ГГТ є маркером систематичного вживання алкоголю, а ізольоване підвищення рівня цього ферменту служить маркером хронічної алкогольної інтоксикації. Зниження рівня ГГТ під час періоду абстинентного синдрому є одним із найбільш специфічних маркерів алкогольної етіології хвороби. Ферменти аспартатамінотрансфераза та аланінамінотрансфераза найчастіше використовуються в діагностиці захворювань печінки [9]. Аспартатамінотрансфераза (АСТ) – фермент із групи трансаміназ, який здійснює перенесення амінокислоти аспартата з однієї біологічної молекули на іншу. Показано зростання активності АСТ під час всього періоду введення спиртового розчину щурів в порівнянні з контрольною групою тварин. Існує цілий ряд патологічних станів, при яких спостерігається підвищення активності даного ферменту, одним із таких станів є алкоголізм. В результаті досліджень за умов експериментальної алкогольної інтоксикації спостерігається підвищення рівня АЛТ на 1, 3, 7 та 11 добу введення спиртового розчину порівняно з контрольною групою щурів. На відміну від АСТ АЛТ у великій кількості міститься в печінці, тому підвищення активності АЛТ з

більшою достовірністю підтверджує пошкодження гепатоцитів. Чутливість амінотрансферазного методу при встановленні факту зловживання алкоголем становить 35% [10]. Спостерігається підвищення вмісту ЛВЩ в сироватці крові щурів з алкогольною інтоксикацією протягом всього експерименту порівняно із контрольними показниками. Такі зміни вмісту даного показника є відповіддю гепатоцитів на дію алкоголю, в результаті якої посилюється етерифікація жирних кислот. Також показано підвищення вмісту ЛНЩ на більш пізні терміни введення 30% етанолу в сироватці крові щурів.

Окрім гострого та хронічного панкреатиту, наявності пухлин чи каміння в підшлунковій залозі, гострій вірусній інфекції гіперамілаземія виявляється при алкогольній інтоксикації. В ході досліджень нами відмічено підвищення α -амілази на 1, 3, 7 та 11 добу введення спиртового розчину, що підтверджує розвиток інтоксикації організму за умов введення етанолу порівняно з контрольними показниками. Також у ході досліджень показано зниження креатиніну та сечовини протягом 11 діб введення розчину етанолу в щурів з експериментальною алкогольною інтоксикацією порівняно з контрольними показниками.

Хронічна алкогольна інтоксикація може спричинити розвиток гіпоглікемічного або гіперглікемічного стану. Порушення толерантності до глюкози пояснюють зниженням поглинання глюкози в печінці, зумовленим її ураженням; відносною функціональною недостатністю β -клітин; зміною чутливості до інсуліну на рівні рецепторів тканин-мішеней. У ході досліджень нами встановлено, що концентрація глюкози в крові тварин контрольної групи коливалася в межах 4,2-6,8 ммоль/л. Показано, що розвиток хронічної алкогольної інтоксикації супроводжувався підвищенням вмісту глюкози в крові щурів натще (рис. 1). Спостерігається зростання вмісту глюкози на 3, 7 та 11 добу в 1,2, 1,6, та 1,3 рази при введенні спиртового розчину в порівнянні з контрольною групою тварин.

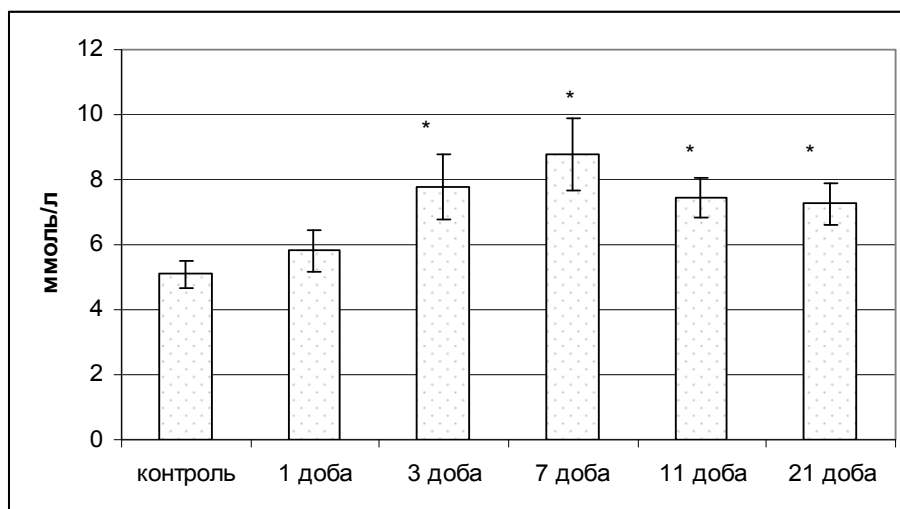


Рис. 1. Концентрація глюкози у сироватці крові контрольних щурів та тварин з експериментальною алкогольною інтоксикацією ($M \pm m$; $n = 8$)

* – $p < 0,05$ різниці достовірні по відношенню до контролю

Таким чином, нами встановлено розвиток гіперглікемії легкої (на 1, 3 добу) та середньої (на 3-11 добу) важкості в тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією. Оскільки стан гіперглікемії характерний для розвитку цукрового діабету 2 типу, то доцільним є встановлення основних показників розвитку даної патології за умов експериментальної хронічної алкогольної інтоксикації.

Висновки. Таким чином, встановлені зміни біохімічних показників сироватки крові можуть бути додатковим доказом формування хронічної алкогольної інтоксикації у дослідних тварин. У щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією спостерігається розвиток гіперглікемії, що дає підстави для подальших досліджень маркерів розвитку цукрового діабету 2 типу.

Список використаної літератури. 1. Aparajita Dey, Arthur I. Alcohol and oxidative liver injury // Cederbaum Hepatology. – 2006. – V. 43. – P. 63–74. 2. Лінський І. В., Мінко О. І., Первомайський Е. Б. і др., Прогнозування епідемії залежності від психоактивних речовин в Україні засобами популяційної екології // Новини української психіатрії. – Харків. – 2006. – №3. – 46 с. 3. Дереча Л. М. Алкоголь та його дія на організм: огляд літератури // Вісник Харківського національного університету. – 2007. – Вип. 6. – №788. – С. 7–16. 4. Халилов М. Х., Закиходжаев Ш. Я. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // Вопросы клиники алкоголизма: Сб. науч. тр., Ташкент. – 1983. – С. 38–41. 5. Hannuksela, M. L., Lisananti, M. K., Nissinen, A. E., & Savolainen, M. J // Biochemical markers of alcoholism. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. – 2007. Vol. 45, P. 953–961. 6. Горюшкин И.И. Алкоголизм: механизмы изменения активности гамма-глутамилтранс-

феразы и аспаратаминотрансферазы и возможность предотвращения жировой инфильтрации печени // Вопр наркол 2001; 1: 60–66. 7. King G.L., Loeken M.R. Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications // Histochem. Cell Biol. – 2004. – Vol. 122, № 4. – P. 333–338. 8. Hemmings S.J., Spafford D. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors // Int. J. Biochem. Cell Biol. – 2000. – Vol. 32. – P.905–919. 9. Niemelä O., Alatalo P. // Biomarkers of alcohol consumption and related liver disease. Scand J Clin Lab Invest. – 2010 – Vol. 70. (5):305–12. 10. Сирото Т.В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы // Вопросы мед. клин. – 1999. – № 3.

Надійшла до редколегії 01.10.12

УДК 574:64

Б. Серебрянников, студ., В. Гандзюра, д-р біол. наук, М. Алексієнко, інж.

СУМІСНИЙ ВПЛИВ КАДМІЮ І КОЛИВАНЬ СОЛОНОСТІ НА МОЛОДЬ ГУПИ

Встановлено пригнічення ростових і продукційних процесів, а також взаємодії між особинами мальків гупи за сумісного впливу іонів кадмію і коливань солоності. Коливання солоності частково перешкоджають накопиченню кадмію в тілі. Обидва фактори характеризуються доповнюючим впливом на ростові та продукційні показники.

Ключові слова: іони кадмію, коливання солоності, продукційні процеси.

Установлено угнетение ростовых и продуктивных процессов, а также взаимодействия между особями мальков гупы в условиях совместного влияния ионов кадмия и колебаний солёности. Колебания солёности частично препятствуют накоплению кадмия в организме. Оба фактора характеризуются дополняющим влиянием на ростовые и производственные показатели.

Ключевые слова: ионы кадмия, колебания солёности, продукционные процессы.

Depression of growth and production processes, as well as of social interactions in guppy fry under the combined influence of salinity oscillations and cadmium ions was observed. Salinity oscillations partially inhibit cadmium accumulation within the body. Both factors affect growth and production indices additively.

Keywords: cadmium ions, salinity fluctuations, production processes.

Вступ. Відомо, що для організму можна виділити оптимальне значення чинника навколишнього середовища, за якого життєдіяльність особини протікає найкращим чином, а також значення, за яких життєдіяльність поступово згасає в міру віддалення від оптимуму. Крайні значення фактора в такому разі обмежують т. з. діапазон толерантності даного виду до даного фактора [6]. Втім, очевидно, що не дивлячись на вірогідну справедливості закономірностей розвитку організмів за постійних значень факторів середовища, нормою існування більшості видів гідробіонтів є коливання значень цих факторів. Через це залежності стану організму від сталих значень факторів, строго кажучи, неможливо застосувати для оцінки його стану в реальних умовах змінного середовища, за винятком тих організмів, які живуть за відносно постійних чи таких, що повільно змінюються, умов [9].

Ще у 30-40-х рр. XX ст. було відомо, що обмін речовин і активність гідробіонтів підлягає добовим коливанням [4]. Подальші дослідження, які тривають і до теперішнього часу, розширюють коло знань з даної проблеми. Завдяки працям наукових шкіл О.С. Константинова та його послідовників – В.А. Кузнецова і В.Б. Вербицького – класичні уявлення були доповнені концепцією астатичного оптимуму, згідно якої оптимум – не стаціонарний стан середовища, а різноманіття в межах екологічної валентності виду. Вірогідно, перебудова метаболізму і надкомпенсація витрат на адаптацію призводять до надлишкового анаболізму, і, як наслідок, до прискорення росту та розвитку, до оптимізації життєдіяльності організму в цілому [9, 10].

Проблемі впливу коливань факторів зовнішнього середовища з періодом від кількох годин до кількох діб присвячені переважно дослідження, пов'язані із вивченням динаміки популяцій у середовищах, в яких спостерігаються такі коливання [4]. Це приливно-відпливні літоральні зони, естуарії та "вологі території" (wetlands) – марші, мангрові болота тощо. В таких екосистемах амплітуда коливань факторів середовища зазвичай значно перевищує оптимальний діапазон для

організмів, а тому і результати досліджень відображають динаміку популяцій організмів в умовах коливань, загалом несприятливих для розвитку. Відповідні експерименти з поміщення дослідних тварин в умови змінних значень показників навколишнього середовища констатували, що змінний режим є менш оптимальним для організму, аніж постійні значення зовнішніх чинників. Навіть беручи до уваги, що організми в результаті природного добору набули деякої відповідності коливанням в навколишньому середовищі, така відповідність все ж вважається компромісом між пристосованістю і здатністю виживати [6].

Важливо, що дослідження впливу факторів зовнішнього середовища на організм і його стресових станів проводять головним чином за впливу одного чинника. В літературі практично відсутні відомості щодо оцінки функціонального стану організму за сумісної дії кількох чинників зовнішнього середовища. Що стосується сумісного впливу коливань різних чинників, то, за певними даними (Константинов, усне повідомлення), такі експерименти проводилися, але їх результати не отримали коректної інтерпретації і тому не були опубліковані.

Оскільки важкі метали, зокрема кадмій, залишаються одними із найпоширеніших забруднювачів у водних екосистемах, надзвичайно важливо з'ясувати їхній вплив на живі організми у взаємодії з іншими факторами середовища.

Метою роботи було оцінити показники продукції і взаємодії між особинами мальків гупи за впливу іонів кадмію, коливань солоності та за сумісного впливу цих чинників.

Матеріали і методи. В дослідженні було використано 120 мальків гупи *Poecilia reticulata* Peters 1-2 місячного віку, одержаних з одного потомства. Риб було розподілено на 4 групи. В першій – контрольній – риб утримували у прісній воді без додавання кадмію. У другій групі солоність змінювали кожні 3 доби шляхом повної заміни води із солоністю, що становила 0‰ та 5‰ NaCl поперемінно. У воду, в якій утримували риб третьої групи, додавали 0,01 мг/л (2 ГДК_{пр}) Cd²⁺, пригото-