

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «ВОЛГОГРАДСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНИСТЕРСТВА
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Осадченко Назар Андреевич

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ
(АДЕМЕТИОНИНА, АЦЕТИЛЦИСТЕИНА, ТАУРИНА) И ИХ
КОМБИНАЦИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ИНТОКСИКАЦИЙ РАЗЛИЧНОГО
ГЕНЕЗА (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

3.3.6 – Фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
академик РАН,
доктор медицинских наук,
профессор
Петров Владимир Иванович

Волгоград – 2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	14
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	33
2.1 Материалы исследования	33
2.1.1 Животные	33
2.1.2 Исследуемые соединения	33
2.2 Дизайн исследования	34
2.2.1 Острая интоксикация этанолом	34
2.2.2 Влияние хронической интоксикации на активность S9 <i>in vitro</i>	40
2.2.3 Влияние ацетилцистеина на биохимические показатели <i>ex vivo</i> у крыс после острой алкоголизации	41
2.2.4 Хроническая интоксикация этанолом	43
2.2.5 Сахарный диабет смешанного типа.....	48
2.2.6 Эффективность комбинации ацетилцистеина и других лекарственных средств 50	
2.2.7 Статистическая обработка результатов исследований.....	52
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА, АДЕМЕТИОНИНА И ТАУРИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ «ПОХМЕЛЬНОГО СИНДРОМА», ВОЗНИКШЕГО ПОСЛЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ	53
3.1 Результаты оценки психоневрологического дефицита	53
3.2 Результаты оценки зоосоциального взаимодействия	60
3.3 Биохимическая оценка механизма действия	74
3.4 Заключение.....	82
ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА <i>EX VIVO</i>	85
4.1 Биохимическая оценка механизма действия (острая алкоголизация)	85
4.2 Влияние на активность фракции S9 (хроническая алкоголизация)	91
4.3 Заключение.....	92
ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА, АДЕМЕТИОНИНА И ТАУРИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОПАТИИ, ВОЗНИКШЕЙ НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИЕМА ЭТАНОЛА.....	94

5.1	Масса тела	94	
5.2	Результаты оценки выраженности неврологического дефицита и нейропатии.....	95	
5.3	Биохимическая оценка механизма действия	103	
5.4	Заключение.....	110	
ГЛАВА 6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА, АДЕМЕТИОНИНА И ТАУРИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОПАТИИ, ВОЗНИКШЕЙ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА СМЕШАННОГО ТИПА			112
6.1	Валидация.....	112	
6.2	Оценка выраженности нейропатии	115	
6.3	Биохимическая оценка механизма действия	121	
6.4	Заключение.....	129	
ГЛАВА 7. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ КОМБИНАЦИИ			132
7.1	Валидация.....	132	
7.2	Поведенческие тесты	133	
7.3	Биохимическая оценка механизма действия	137	
7.4	Заключение.....	144	
ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....			145
ВЫВОДЫ			160
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ			162
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....			163
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....			164

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Употребление алкоголя в современном обществе очень распространено ввиду увеличения стрессогенной нагрузки и доступности алкоголя. Похмельный синдром – частое нежелательное явление, сопровождающее прием алкогольных напитков, который, несмотря на распространенность, редко входит в круг интересов медицинской науки. Похмельный синдром имеет экономические последствия, возникающие из-за снижения эффективности работы и обучения [167, 175].

Постинтоксикационное состояние является первичной медицинской проблемой для лиц, употребляющих алкоголь в небольших и умеренных количествах (до 100 г чистого алкоголя в день). Похмельный синдром также выступает частой причиной профессионального и бытового травматизма в результате замедления моторики и снижения внимания [219].

Несмотря на то, что за последние 2 декады ежегодный прирост количества алкоголиков снизился в 4 раза, а их количество – в 2 раза, проблема алкоголизма в России не решена. В 2022 г. больных с впервые в жизни установленным диагнозом взято под диспансерное наблюдение 54,2 тыс. человек (37,0 на 100 тыс. населения). Суммарно больных, стоящих на учете в лечебно-профилактических организациях по поводу алкоголизма или алкогольного психоза на конец 2022 г. – 1051400 человек (717,9 на 100 тыс. населения) [11]. Считают, что количество указанных лиц составляет от 5 до 20% от общего числа населения Российской Федерации, страдающего от алкоголизма, однако точное значение распространенности заболевания, а тем более злоупотребления алкоголем рассчитать крайне трудно [14]. Хроническое употребление алкоголя, в том числе в силу алкогольной зависимости, сопровождается развитием психических и неврологических нарушений, вызванных непосредственным нейротоксическим действием этанола и его метаболитов. Довольно частым осложнением бывает

состояние, известное как алкогольная нейропатия – неврологическое расстройство, вызванное поражением периферического отдела нервной системы. Настоящая распространенность алкогольной полинейропатии в общей популяции неизвестна и может обнаруживаться у 25–66% больных хроническим алкоголизмом [10].

Кроме того, полинейропатия является одним из наиболее частых осложнений сахарного диабета. Данное состояние приводит к снижению качества жизни и инвалидизации больных [3]. При длительности сахарного диабета более 20 лет диабетическая полинейропатия развивается более чем у 50% пациентов [85].

Все описанные состояния являются частными случаями интоксикаций, которые сопровождаются снижением запасов глутатиона и токсическим повреждением печени, приводящим к неврологическим нарушениям. Применение серосодержащих аминокислот, являющихся участниками метаболизма глутатиона, может стать эффективным способом лечения этих состояний.

Перепрофилирование известных и изученных лекарственных средств для новых показаний – перспективный способ поиска решений для лечения распространенных патологий.

Например, у ацетилсалициловой кислоты, изначально разработанной как противовоспалительный препарат [88, 123, 133, 237], позже обнаружили антиагрегантную активность [109, 165, 180] и теперь она используется для лечения и профилактики сердечно-сосудистых [70, 81, 233] и цереброваскулярных патологий [97, 188, 235].

Пирацетам был изначально разработан в качестве ноотропа и использовался для улучшения памяти и когнитивных функций [172, 201] у пациентов с деменцией [130, 201] и болезнью Альцгеймера [171, 189]. При этом, в недавних исследованиях пирацетама обнаружили его эффективность в лечении головной боли [78], депрессии и тревожности у пациентов с неврологическими заболеваниями [64], в том числе заболеваниями эпилептического спектра [168].

Следовательно, поиск новых фармакологических свойств изученных лекарственных препаратов, таких как ацетилцистеин (АЦЦ[®]), адеметионин (Аметрал[®], Гептор[®]) и таурин (Тауфон[®], Дибикор[®]), может привести к открытию новых прикладных точек для этих препаратов и улучшить эффективность лечения различных заболеваний при их применении.

Степень научной разработанности проблемы

В России для терапии похмельного синдрома применяют препараты и биологически активные добавки на основе ацетилсалициловой и/или янтарной кислот (Антипохмелин, Алька-Прим, Алка-Зельтцер, Зорекс Утро, Алкомед, Бизон, Лимонтар), сорбенты, которые необходимо применять во время приема алкоголя для предупреждения похмельного синдрома (Полисорб[®], Медихронал[®]-Дарница, Фильтрум[®], Сорбекс, Энтеросгель) и препараты симптоматического лечения не относящиеся к названным выше – препараты глутамата аргинина (Алкоклин), растительные препараты (ДринкOFF). В научной литературе опубликованы результаты отдельных клинических исследований по оценке эффективности различных лекарственных средств для лечения похмельного синдрома. В рандомизированном исследовании Coppersmith et al. (2021) изучили эффективность применения ацетилцистеина для лечения похмельного синдрома. Авторы не обнаружили влияния ацетилцистеина на популяцию в целом, однако у женщин, принявших участие в исследовании, существенно уменьшились показатели выраженности похмельного синдрома после приема ацетилцистеина, чего не наблюдали у мужчин [224]. По данным метаанализа Jayawardena et al. (2017) среди множества исследований по оценке эффективности различных методов лечения похмельного синдрома, относительную эффективность наблюдали в исследованиях, в которых применяли сок груши и препарат женьшеня до начала приема алкоголя. В обоих случаях наблюдали существенное снижение концентрации этанола и ацетальдегида в крови [120, 231].

Лечение алкогольной нейропатии на сегодняшний день осложнено недостаточностью данных о точном патогенетическом механизме этого

нарушения. С одной стороны, алкоголизм приводит к недостаточности тиамин, поэтому тиамин и другие препараты, содержащие витамины группы В, назначают для лечения алкогольной нейропатии [20]. Также не исключают токсическую роль самого этанола и его метаболитов. Этанол и ацетальдегид, влияя на метаболизм нейронов, индуцируя глутаматную токсичность, перекисное окисление липидов (ПОЛ) и продукцию провоспалительных цитокинов, а также нарушая нормальную конфигурацию белков цитоскелета нервного волокна и замедляя аксиальный транспорт, препятствуют нормальной работе нейронов [76, 150]. Из-за большого количества механизмов развития алкогольной полинейропатии для ее лечения средства широко используют, обладающие метаболическим и нейротрофическим действием и способные улучшать регионарную микроциркуляцию [19, 76, 150].

На сегодняшний день лечение диабетической нейропатии имеет два направления. Компенсация сахарного диабета существенно снижает вероятность возникновения полинейропатии [5], однако даже при компенсированном углеводном обмене у некоторых пациентов может развиваться полинейропатия, что указывает на необходимость дополнительной терапии. Патогенетическая терапия диабетической полинейропатии направлена на снижение действия продуктов окислительного стресса. Ликвидация окислительного стресса у больных сахарным диабетом и применение антиоксидантов сопровождается повышением уровня NO в сыворотке крови, снижением степени выраженности клинических симптомов, обусловленных дисфункцией эндотелия. Именно поэтому одним из основных направлений лечения диабетической полиневропатии является назначение антиоксидантов – витаминов С, Е, А, липоевой кислоты. Тиоктовая (α -липоевая) кислота в течение нескольких десятилетий используется для лечения диабетической нейропатии [48, 49, 72, 227]. Положительное влияние этого лекарственного средства на метаболизм осуществляется посредством нескольких механизмов: ингибирование образования продуктов конечного гликозилирования, улучшение эндоневрального кровотока, восстановление пула других антиоксидантов в организме [4, 161]. Тиоктовая кислота занимает важное

место в повышении энергетической продукции клеток, участвуя в митохондриальной цепи переноса электронов (восполняет дефицит восстановленного никотинамиддинуклиотида [НАДН]) [161, 227].

Цель исследования

Сравнить нейро- и гепатопротекторную активность ацетилцистеина, адеметионина и таурина в условиях моделирования постинтоксикационного состояния как результата острого отравления этанолом, алкоголизма (длительная интоксикация этанолом) и сахарного диабета смешанного типа для оценки возможности их применения в качестве базисных молекул при создании комбинированного препарата для лечения патологий, сопровождающихся снижением запасов глутатиона в печени.

Задачи исследования

1. Изучить биохимический механизм нейро- и гепатопротекторного действия ацетилцистеина, адеметионина и таурина на моделях интоксикаций различного генеза, включающих острое отравление этанолом, хроническое отравление этанолом и сахарный диабет смешанного типа;
2. Определить уровень биохимических маркеров токсического повреждения печени в перфузате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации и определить *in vitro* активность фракции S9, полученной из печени крыс, подвергнутых хронической алкоголизации;
3. Сравнить влияние ацетилцистеина, адеметионина и таурина на показатели психоневрологического дефицита и биохимические показатели, отражающие состояние печени у крыс, подвергнутых острой алкоголизации;
4. Сравнить влияние ацетилцистеина, адеметионина и таурина на степень развития нейропатии, развивающейся у крыс при хронической алкоголизации, с использованием методов по оценке психоневрологического дефицита, нейропатии и определения биохимических маркеров повреждения печени;
5. Сравнить влияние ацетилцистеина, адеметионина и таурина на течение нейропатии, развивающейся у крыс при моделировании сахарного диабета, с

использованием методов по оценке психоневрологического дефицита, нейропатии и определения биохимических маркеров повреждения печени;

6. Провести изучение детоксикационного и антиоксидантного действия комбинации на основе изученных лекарственных средств при лечении постинтоксикационного у крыс после острого отравления этанолом.

Научная новизна работы

Все три изученные аминокислоты – адеметионин, ацетилцистеин и таурин – в той или иной мере применяются для лечения заболеваний и состояний, сопровождающихся истощением запасов глутатиона в печени. Впервые проведено комплексное изучение эффективности и механизма действия адеметионина, таурина и ацетилцистеина для лечения нейропатии, возникшей после острого отравления этанолом, на фоне длительного употребления этанола или как результата развития сахарного диабета. Проведена оценка эффективности при лечении нейропатии, возникшей после острого отравления этанолом предложенной комбинации ацетилцистеина и таурина с метаболическими лекарственными средствами.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные в ходе работы результаты позволили расширить знания о серосодержащих аминокислотах. Они могут служить основой для продолжения направленного поиска новых соединений для лечения похмельного синдрома и нейропатий или поиска данной фармакологической активности у известных лекарственных средств. Полученные данные о свойстве адеметионина и ацетилцистеина снижать неврологический дефицит после острой интоксикации этанолом и препятствовать развитию нейропатии в условиях хронической алкогольной интоксикации или гипергликемии свидетельствуют о целесообразности дальнейшего углубленного изучения терапевтического потенциала данных веществ с целью разработки новых лекарственных препаратов для лечения похмелья и предупреждения развития нейропатии или ухудшения

состояния больного при нейропатии, возникшей на фоне алкоголизма и/или сахарного диабета.

Методология и методы диссертационного исследования

Проведено несколько серий экспериментов, целью которых являлась оценка влияния серосодержащих аминокислот на поведенческий и биохимический компоненты нейропатии, возникающей при состояниях, сопровождающихся снижением запасов глутатиона.

Были проведены следующие экспериментальные серии:

1. Изучение влияния острого отравления этанолом на биохимические показатели в печени (валидация моделирования постинтоксикационного состояния); изучение влияния хронического отравления этанолом на активность микросомальной фракции S9 (валидация моделирования хронической алкоголизации);
2. Исследование эффективности серосодержащих аминокислот у крыс при нейропатии, развившейся после острого отравления этанолом (постинтоксикационное состояние);
3. Исследование эффективности серосодержащих аминокислот у крыс при нейропатии, развившейся на фоне длительного приема этанола (хроническая алкоголизация);
4. Исследование эффективности серосодержащих аминокислот у крыс при нейропатии, развившейся на фоне экспериментального сахарного диабета смешанного типа;
5. Исследование эффективности комбинации ацетилцистеина и таурина с метаболическими лекарственными средствами при нейропатии, развившейся после острого отравления этанолом (постинтоксикационное состояние).

Подбор методик для экспериментов был выполнен с целью максимальной и разносторонней оценки эффективности ацетилцистеина, адеметионина и таурина. Исследования выполнены в соответствии с «Руководством по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [21]. В ходе проведения экспериментов соблюдали этические нормы работы с модельными организмами, в

соответствии с принципом «3R» выбирали валидные экспериментальные модели, минимально возможное количество животных. Более подробные описания экспериментов представлены в основном содержании работы. Интерпретацию полученных результатов осуществляли с учетом имеющихся литературных данных для формирования заключений и выводов.

Реализация результатов исследования

Полученные при проведении диссертационного исследования результаты позволили разработать и предложить программу по целенаправленному поиску у представленных в продаже и новых лекарственных средств активности при лечении похмельного синдрома, алкоголизма и нейропатии при сахарном диабете.

Положения, выносимые на защиту

1. Для исследуемых аминокислот, в том числе для ацетилцистеина, установлена фармакологическая активность, заключающаяся в способности препятствовать развитию алкогольной и диабетической нейропатии, а также снижать степень выраженности неврологического дефицита, возникающего при острой интоксикации этанолом. Это делает перспективным поиск этой фармакологической активности у серосодержащих соединений;
2. Среди изученных соединений, адеметионин оказывал наиболее выраженное защитное действие в отношении нейропатии, возникшей при моделировании хронических интоксикаций, сопровождаемых снижением запасов глутатиона в печени крыс;
3. Полученные данные позволяют предположить, что в механизме защитного действия ацетилцистеина большую роль играет его способность восстанавливать истощенные запасы глутатиона. Несмотря на то что предположительный механизм защитного действия адеметионина также связан с его свойством способствовать восполнять запасы глутатиона, выраженное прямое увеличение концентрации последнего наблюдали только при использовании ацетилцистеина.

Степень достоверности и апробация результатов

Степень достоверности полученных результатов подтверждается достаточным количеством экспериментов *in vivo* и *in vitro*, выполненных на необходимом количестве модельных организмов (крысах-самцах), а также применением валидных и общепринятых методов исследования и статистического анализа, соблюдением рекомендаций по доклиническому изучению лекарственных средств. При выполнении работы применяли современные методы, оборудование; обязательным было применение Стандартных операционных процедур.

Личный вклад автора

Автор проанализировал отечественные и зарубежные источники по изучаемой проблеме, планировал и проводил эксперименты, анализировал, интерпретировал и оформлял результаты, писал статьи и курировал их публикации в научных журналах. Автор принимал ключевое участие в реализации всех этапов – от постановки задач и разработки протоколов исследования, выполнения экспериментальных работ, анализа и интерпретации полученных данных до их представления в виде научных отчетов, публичных выступлений с докладами и публикаций в рецензируемых изданиях.

Публикации

Апробация результатов работы проведена на конференциях: XXIV региональная конференция молодых ученых и исследователей Волгоградской области; XXII региональная конференция молодых исследователей Волгоградской области; 75-ая открытая научно-практическая конференция молодых ученых и студентов ВолгГМУ с международным участием «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины»; Международная научная конференция «Наука. Исследования. Практика»; Съезд Евразийской коллегии нейропсихофармакологии (European College of Neuropsychopharmacology, ECNP).

По материалам работы опубликовано 18 печатных работ, 6 из которых размещены в изданиях перечня рецензируемых ВАК Министерства образования и науки РФ.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 192 страницах машинописного текста и включает следующие разделы: введение, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, 5 глав собственных исследований, обсуждение результатов, выводы, научно-практические рекомендации, список литературы, содержащий 237 источников из них 35 отечественных и 202 зарубежных. Диссертация иллюстрирована 77 рисунками и содержит 11 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Похмельный синдром

Похмельный синдром определяют как «совокупность психических и физиологических симптомов, которые человек испытывает после однократного эпизода употребления алкоголя в большом количестве, развивающихся на фоне отсутствия этанола в крови» [84]. По данным отчета ВОЗ о глобальном статусе потребления этанола на 2018 г. 18,2% населения мира потребляет алкоголь в количестве, достаточном для развития похмельного синдрома [110]. Похмельный синдром провоцирует нейрокогнитивные нарушения. Так, по данным систематического обзора Gunn et al. (2018), при похмельном синдроме у людей проходящих обучение снижается средний балл в тестах на краткосрочную и долгосрочную память, концентрацию внимания и скорость психодвигательной реакции [38]. Позже данный результат подтвердили Terpstra et al. (2020) в исследовании с участием социально пьющих студентов и с использованием электронной версии теста для оценки работы памяти и других когнитивных функций [176].

Алкогольное похмелье является потенциально опасным состоянием, увеличивающим риск травматизации при управлении автомобилем или другим сложным механизмом. Люди, употреблявшие этанол перед тестовым заездом на велосипеде, показывали результаты, сопоставимые с людьми, концентрация алкоголя в крови которых составляла 0,3 г/кг [217]. В исследовании Alford et al. (2020) изучали различные характеристики у водителей в состоянии похмельного синдрома на фантоме автомобиля. По ряду показателей вождения, включавших: распределение внимания, нарушение правил дорожного движения и объем переносимой рабочей нагрузки, водители в состоянии похмельного синдрома показывали результаты существенно худшие, чем не принимавшие алкоголь накануне теста. Наблюдаемые изменения были схожи у участников в состоянии

алкогольного опьянения и добровольцев, принимавших алкоголь за день до теста и характеризующих свое состояние как похмелье [219].

Алкогольный похмельный синдром также оказывает влияние на качество сна, недостаток которого также усиливает неврологический и когнитивный дефицит. Так, в исследовании Devenney et al. (2019) с участием социально пьющих добровольцев, подтвердили ранее полученные данные о том, что употребление алкоголя само по себе ухудшает качество сна, но также обнаружили, что в дни тяжелого похмельного синдрома (дни, следующие за употреблением алкоголя в большом количестве), качество сна также существенно снижалось при сравнении с показателями, полученными в дни без употребления алкоголя и без похмельного синдрома [193].

Таким образом, алкогольный похмельный синдром, это состояние, требующее изучения и разработки терапии, так как он является широко распространенным состоянием, снижающим некоторые аспекты качества жизни и создающим риск травм как у человека, испытывающего его, так и у окружающих его людей.

По данным Penning et al. (2012) состояние алкогольного похмельного синдрома у человека характеризуется возможным наличием 47 симптомов [167, 221], поэтому при моделировании алкогольного похмельного синдрома у животных для последующей оценки влияния лекарственных средств на данное состояние следует использовать большое количество поведенческих тестов, в которых оцениваются различные аспекты двигательной, эмоциональной и когнитивной сфер психики [176]. Так как в первую очередь постинтоксикационное состояние у животных характеризуется нарушением двигательной сферы [125, 234], в качестве валидационного метода следует использовать шкалы неврологического дефицита Combs and D'Alecy [32, 80] и модифицированную шкалу неврологического дефицита (modified Neurological Severity Scores, mNSS) [18, 22, 121]. Для оценки влияния похмельного синдрома и его терапии на когнитивные функции (мнестическая, исследовательская

активность) подходят тесты «водный лабиринт Морриса» [142] и «открытое поле». Тест «открытое поле» также направлен на изучение тревожной активности [128], то есть для оценки эмоциональной сферы психики, которую также затрагивает похмельный синдром. С целью оценки тревожного поведения помимо теста «открытое поле» используют тест условной реакции пассивного избегания [105] и адгезивный тест [216].

Окисление этанола под действием алкогольдегидрогеназы приводит к образованию ацетальдегида, который превращается в ацетат; эти реакции уменьшают запасы никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и увеличивают концентрацию НАДН, снижая количество восстановленного глутатиона (GSH) [71]. Повышение концентрации НАДН вызывает ряд метаболических нарушений, включая гиперлактацидемию, которая способствует ацидозу и снижает экскрецию мочевой кислоты с мочой. Это приводит к вторичной гиперурикемии, которая усугубляется вызванным алкоголем кетозом и усиливает ацетат-опосредованный распад аденозинтрифосфата (АТФ). НАДН также препятствует глюконеогенезу, тем самым способствуя гипогликемии, повышает уровень α -глицерофосфата, ингибирует цикл Кребса и окисление жирных кислот. Ингибирование окисления жирных кислот способствует стеатозу и гиперлипидемии с участием всех классов липидов. Ацетальдегид оказывает прямое токсическое действие на клетку и ее органеллы, препятствует восстановлению алкилированных нуклеопротеинов, снижает активность ключевых ферментов и заметно снижает эффективность метаболизма кислорода в митохондриях. Кроме того, ацетальдегид способствует гибели клеток, истощая уровень GSH, вызывая ПОЛ и увеличение токсического эффекта свободных радикалов кислорода. Связываясь с тубулином микротрубочек, ацетальдегид блокирует секрецию белков. Увеличение количества белка, липидов, воды и электролитов вызывает увеличение размеров гепатоцитов. Ацетальдегид-белковые аддукты способствуют производству коллагена и могут действовать как неоантигены, которые стимулируют иммунный ответ. Этанол подавляет синтез GSH, потеря этого соединения в

митохондриях печени способствует повреждению органелл гепатоцитов и снижению их эффективности в отношении утилизации ксенобиотиков [71, 183].

Алкоголизм

Алкоголь представляет собой психоактивное вещество с выраженным аддиктивным потенциалом, употребление которого может приводить к социально значимым последствиям как для экономики, так и для здравоохранения [1]. Несмотря на то, что за последние 2 декады ежегодный прирост количества алкоголиков снизился в 4 раза, а их количество – в 2 раза, проблема алоголизма в России не решена. В 2021 г. больных с впервые в жизни установленным диагнозом взято под диспансерное наблюдение 53,3 тыс. человек (36,6 на 100 тыс. населения). Суммарно больных, стоящих на учете в лечебно-профилактических организациях по поводу алкоголизма или алкогольного психоза на конец 2021 г. – 1077700 человек (740,4 на 100 тыс. населения) [11]. Считают, что количество указанных лиц составляет от 5 до 20% от общего числа населения Российской Федерации страдающего от алкоголизма, однако точное значение распространенности заболевания, а тем более злоупотребления алкоголем рассчитать крайне трудно. Алкогольная болезнь печени развивается у 60–100% лиц, злоупотребляющих алкоголем, и практически у каждого больного, страдающего алкоголизмом [14]. По данным Всемирной организации здравоохранения на долю смертности от цирроза печени приходится около 1,8% случаев в европейских странах, что составляет 170000 человек в год. Самыми распространенными причинами формирования цирроза являются хронический гепатит С и алкогольная болезнь печени [15].

Хроническое употребление алкоголя, в том числе в силу алкогольной зависимости, сопровождается развитием психических и неврологических нарушений, вызванных непосредственным нейротоксическим действием этанола и его метаболитов. Довольно частым осложнением бывает состояние, известное как алкогольная нейропатия – неврологическое расстройство, вызванное поражением периферического отдела нервной системы. Настоящая

распространенность алкогольной полинейропатии в общей популяции неизвестна и может обнаруживаться у 25–66% больных хроническим алкоголизмом [10]. Как правило, развитие данного состояния связывают с алиментарным дефицитом тиамина, возникающим в силу изменения пищевых привычек и образа жизни больного по мере прогрессирования алкогольной зависимости, однако нельзя исключать и истощение систем, метаболизирующих этанол, ведущее к активизации свободнорадикальных процессов – это сближает алкогольную нейропатию с диабетической нейропатией и позволяет рассматривать подобные расстройства как частные проявления состояний, сопровождающихся эндогенной интоксикацией [223].

В ряде работ, выполненных в Волгоградском государственном медицинском университете, была подчеркнута комплексность психических, неврологических и метаболических расстройств, возникающих у крыс с экспериментальной хронической интоксикацией, обусловленной хроническим пероральным употреблением 15% раствора этанола, предоставляемого животным в качестве единственного источника жидкости. Возникающие нарушения затрагивали не только поведение животных, функционирование печени и антиоксидантных систем, но и состояние микробиоценоза кишечника, ведущее к изменению липидного и углеводного обмена [9, 12, 13, 18, 23]. В то же время, несмотря на проводившуюся оценку выраженности признаков неврологического дефицита у животных, прогрессирование алкогольной нейропатии в перечисленных исследованиях не изучали. С другой стороны, в более новых работах рассматривали влияние ацетилцистеина на течение последствий острой алкогольной интоксикации у крыс, которая близка по характеристикам к похмельному синдрому, возникающему у человека. Как профилактическое, так и терапевтическое введение данного лекарственного средства оказалось способным ускорять восстановление животных после интоксикации [6, 16, 17, 82, 147]. Более того, у ацетилцистеина отметились способность снижать подкрепляющие свойства этанола, что может быть немаловажным при лечении алкогольной зависимости у

человека [146]. Таким образом, результаты описанных исследований позволяют предполагать наличие у серосодержащих аминокислот и их производных востребованных фармакологических эффектов, способных потенциально облегчать течение и улучшать прогноз состояний, возникающих вследствие алкоголизации.

Хроническое употребление алкоголя, в том числе в силу алкогольной зависимости, сопровождается развитием психических и неврологических нарушений, вызванных непосредственным нейротоксическим действием этанола и его метаболитов. Довольно частым осложнением бывает состояние, известное как алкогольная нейропатия – неврологическое расстройство, вызванное поражением периферического отдела нервной системы. Настоящая распространенность алкогольной полинейропатии в общей популяции неизвестна и может обнаруживаться у 25–66% больных хроническим алкоголизмом [10]. Как правило, развитие данного состояния связывают с алиментарным дефицитом тиамина, возникающим в силу изменения пищевых привычек и образа жизни больного по мере прогрессирования алкогольной зависимости, однако нельзя исключать и истощение систем, метаболизирующих этанол, ведущее к активизации свободнорадикальных процессов – это сближает алкогольную нейропатию с диабетической нейропатией и позволяет рассматривать подобные расстройства как частные проявления состояний, сопровождающихся истощением запасов глутатиона [223].

Ацетальдегид является центральным фактором развития и прогрессирования кардиотоксических свойств этанола, что связано с высоким уровнем супероксида ($O_2^{\cdot-}$), снижением митохондриальной поляризации и высокой активности никотинамидадениндинуклеотитфосфат-оксидазы [218]. Эндотелий сосудов является основной структурой, функция которой может быть нарушена вследствие окислительного стресса и альдегидов. Ацетилцистеин снижает выраженность эндотелиальной дисфункции, вызванной дисфункцией альдегиддегидрогеназы 2 (АЛДГ-2; основного фермента, метаболизирующего

ацетальдегид) [45]. Ацетальдегид также увеличивает проницаемость микрососудов для белков плазмы [148]. Регулярное употребление алкоголя или эпизодический прием его больших количеств приводит к нарушению функций эндотелия в сочетании со сниженной биодоступностью NO, в том числе и за счет образования асимметричного диметиларгинина (эндогенного ингибитора NOS), который снижает синтез оксида азота [69, 77]. Эндотелий головного мозга – ключевая структура, формирующая ГЭБ, дисфункция которого, наблюдающаяся при злоупотреблении алкоголем, связана с окислительным стрессом, возникающим в результате метаболизма этанола и токсического действия метаболитов (ацетальдегида) в эндотелиоцитах. Этанол усиливает каталитическую активность и экспрессию ферментов, участвующих в его метаболизме, что параллельно увеличивает образование активных форм кислорода (АФК), при этом возникает дефицит антиоксидантов. Окислительный стресс приводит к активации киназы легкой цепи миозина и к снижению целостности ГЭБ, а также к повышению его проницаемости для моноцитов [44]. Следовательно, этанол и его токсичные метаболиты негативно влияют на функцию эндотелия.

Таким образом, ацетилцистеин может применяться для предупреждения или купирования похмельного синдрома и эндотелиальной дисфункции в сосудах мозга. Он облегчает метаболизм ксенобиотиков в печени и может оказывать протективное действие в отношении эндотелиоцитов, сохраняя локальную активность альдегиддегидрогеназы 2 на высоком уровне, облегчая и ускоряя метаболизм ацетальдегида. Профилактическое введение ацетилцистеина очевидно способствует более быстрому метаболизму алкоголя и его метаболитов, ослаблению их общетоксического действия, в том числе в отношении эндотелиоцитов, поскольку их вазодилатирующая функция снижалась в меньшей степени.

Сахарный диабет

Одним из наиболее частых осложнений сахарного диабета (СД) является диабетическая полинейропатия, приводящая к снижению качества жизни и инвалидизации больных [3]. При длительности сахарного диабета более 20 лет диабетическая полинейропатия развивается более чем у 50% пациентов. Распространенность данного осложнения среди пациентов с СД колеблется от 28 до 60% и зависит от исследуемой выборки и методов диагностики. Установлено, что ведущим фактором патогенеза сосудистых осложнений диабета является хроническая гипергликемия [85].

Диабетическая нейропатия является следствием распространенного поражения нейронов и их отростков в центральной и периферической нервной системе. Прогрессирующая гибель нейронов часто необратима в силу нарушения процессов регенерации при сахарном диабете. К факторам риска развития диабетической полинейропатии исследование DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) относит длительность заболевания, степень гипергликемии, возраст пациента, мужской пол, высокий рост [149]. Исследования DCCT и UKPDS (UK Prospective Diabetes Study) показали, что имеется четкая корреляция между гипергликемией и диабетическими осложнениями [149, 232]. Частота поражений нервной системы при СД коррелирует с длительностью и степенью тяжести заболевания, возрастом больных. Примерно 60–70% пациентов имеют различной тяжести поражения нервной системы, включающие в себя:

- нарушения тактильной и болевой чувствительности нижних и верхних конечностей;
- замедленную эвакуацию пищи из желудка;
- карпальный туннельный синдром и другое.

Гипергликемия или прямая глюкозотоксичность – пусковой механизм, активирующий фермент протеинкиназу С (ПК-С). Последний в норме регулирует сосудистую проницаемость, процессы пролиферации клеток, синтез веществ базальной мембраной сосудов, активность тканевых факторов роста.

Гиперактивация ПК-С повышает тонус сосудистой стенки, агрегацию форменных элементов крови, вызывает активацию тканевых факторов роста, утолщает базальную мембрану сосудов. Токсические эффекты высоких концентраций глюкозы способствуют образованию кетоальдегидов свободных радикалов, что при повышенной скорости их образования приводит к развитию окислительного или метаболического стресса [3]. При окислительном стрессе в организме нарушается баланс между прооксидантами и компонентами системы антиоксидантной защиты, что сопровождается дефицитом инсулина и/или инсулинорезистентностью различной степени выраженности. В основе подобных изменений лежат следующие процессы [85]:

- снижение активности антиоксидантной системы, представленной глутатионом, глутатионпероксидазой, каталазой, супероксиддисмутазой (СОД), витаминами К, Е, С, α -липоевой кислотой и др. (таурин, каротин, мочева кислота и коэнзим Q10);
- повышенное образование реактивных оксидантов за счет окисления углеводов, углеводно-белковых комплексов, а также жирных кислот, возникающих в результате аутоокисления;
- нарушение ферментов полиолового обмена глюкозы, митохондриального окисления, обмена простагландинов и лейкотриенов;
- нарушение концентрации или обмена ионов некоторых металлов.

Недостаточная активность антиоксидантных ферментов при СД определяется генетическими факторами, что доказано изучением полиморфизма генов таких ферментов антиоксидантной системы организма, как каталаза (при диабетической ретинопатии) и СОД (при диабетической полинейропатии) [3].

В последние годы среди механизмов развития поздних сосудистых осложнений диабета особое значение придается окислительному стрессу [4, 161]. Окислительный стресс и активирование процессов ПОЛ, в т. ч. и в липопротеидах низкой плотности, сопровождается ингибированием синтеза эндотелиального оксида азота и активацией ядерного фактора (NF- κ B), инициирующего выделение

субстанций, которые ухудшают кровоток, например эндотелина-1 [4, 5]. В настоящее время роль оксидантного стресса в развитии диабетической полинейропатии считается одной из ведущих. Поэтому логичным является применение препаратов, обладающих антиоксидантным действием.

Интоксикации, сопровождающиеся снижением запасов глутатиона

Все описанные состояния схожи в своем патогенезе. Неврологический дефицит, возникающий как клиническое проявление похмельного синдрома, то есть наступающий после острой интоксикации этанолом, связан со снижением активности гепатоцитов и резким увеличением нагрузки на антиоксидантную систему и, как следствие, – окислительному стрессу. Снижение активности гепатоцитов характерно и для хронического отравления этанолом. Оно характеризуется отложенными последствиями, такими как нейропатия, механизм возникновения которой у алкоголиков схож с диабетической нейропатией.

Нейропатия является характерным, встречающимся у многих диабетиков осложнением. Наступление диабетической нейропатии имеет сложный патогенетический характер. В частности, одной из причин развития данного состояния является окислительный стресс, возникающий на фоне снижения активности гепатоцитов из-за повышения нагрузки на метаболизм, возникающей при гипергликемии. Таким образом, снижение активности гепатоцитов, вследствие снижения активности антиоксидантной системы, характеризуемого снижением запасов глутатиона, приводит к токсической нейропатии и поражению печени при однократном и хроническом отравлении этанолом или при гипергликемии [59].

Активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) использовали в качестве критерия токсического поражения печени, так как оба фермента являются внутриклеточными и преимущественно содержатся в печени из чего следует, что повышение их активности в крови является специфическим критерием цитолиза печени. При токсическом гепатите и обострении хронического гепатита в лабораторной практике часто выявляют

высокие значение ферментативной активности данных трансаминаз. При поражении печени, вызванном лекарственными средствами, как и при ишемическом гепатите и хроническом гепатите, возникшем на фоне алкоголизма, выявляют умеренную гиперферментемию. Увеличение активности АЛТ и АСТ может быть связано с употреблением лекарственных препаратов, оказывающих слабовыраженное гепатотоксическое действие. При алкогольном гепатите у человека активность АСТ может превышать АЛТ, но через 2 недели воздержания от принятия алкоголя приводит к выраженному снижению активности АСТ. У человека прием алкоголя в дозах 1 г/кг массы тела вызывает значительное увеличение активности АСТ в сыворотке крови уже через 24 ч [42]. Таким образом, увеличение активности трансаминаз после алкогольной интоксикации является интегральным показателем повреждения печени. В качестве дополнительного критерия токсического повреждения печени использовали содержание триглицеридов (ТГ) в ткани, отражающих тяжесть дистрофических изменений в печени. Активность СОД отражала степень выраженности реакции печени на интоксикацию. В качестве маркера оксидативного стресса использовали концентрацию малонового диальдегида (МДА). Так как гипотеза заключалась в наличии способности ацетилцистеина и других аминокислот увеличивать запасы глутатиона в печени, его концентрация также измерялась.

Серосодержащие аминокислоты

Доступные литературные данные свидетельствуют о том, что средства метаболической терапии, обладающие антиоксидантными, гепато- и нейропротекторными свойствами, могут корректировать течение токсических нейропатий [55, 117]. К подобным лекарственным средствам относятся серосодержащие аминокислоты и их производные – ацетилцистеин, таурин и адеметионин, однако на сегодняшний день экспериментальные данные об их сравнительной эффективности при алкогольной нейропатии отсутствуют (Рисунок 1).

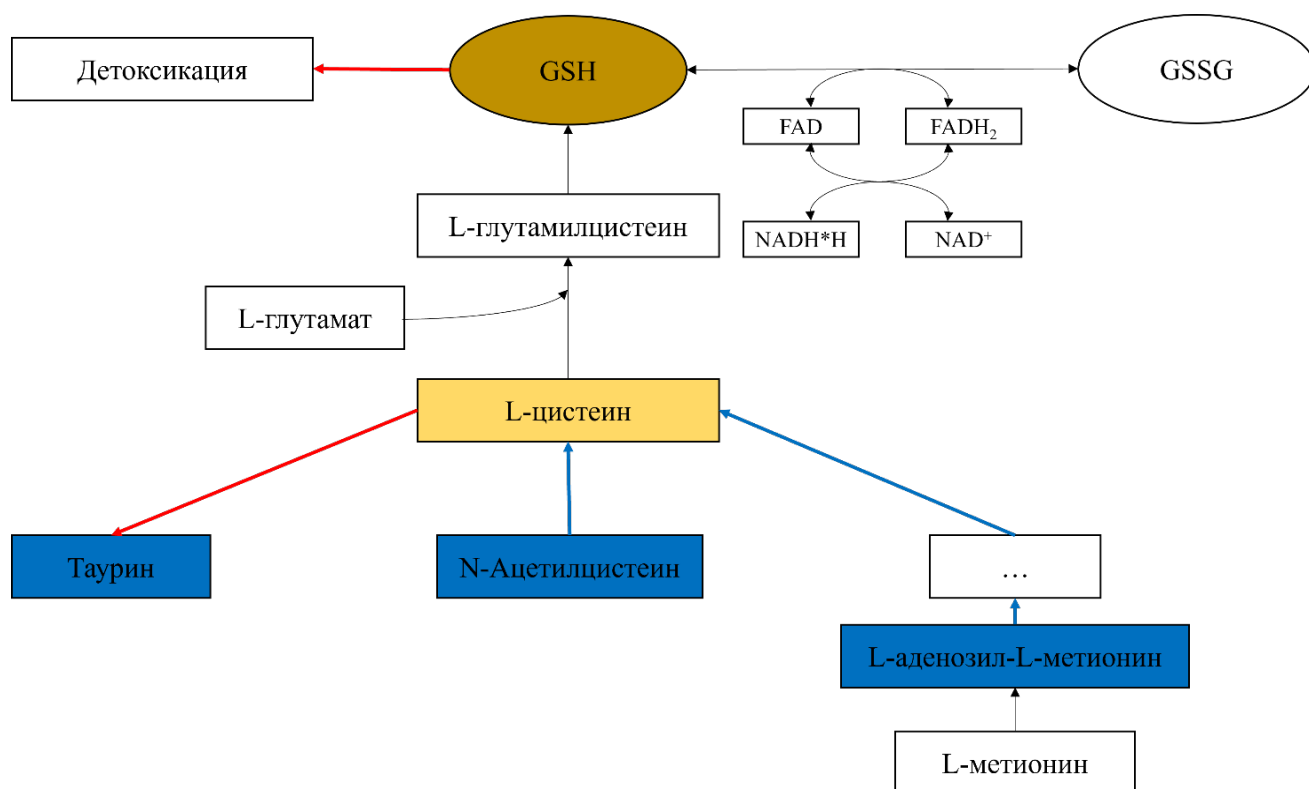


Рисунок 1. Источники восстановленного глутатиона

Ацетилцистеин был первоначально запатентован в 1960 году и лицензирован для использования в 1968 году. Он включен в Список основных лекарственных средств ВОЗ, наиболее эффективных и безопасных лекарств, необходимых в системе здравоохранения в качестве препарата применяемого при передозировке парацетамола и для проведения муколитической терапии [92]. Ацетилцистеин – производное L-цистеина, являющееся прекурсором антиоксидантного трипептида глутатиона. Основой муколитического действия ацетилцистеина является способность разряжать дисульфидные связи мукопротеинов, что приводит к разжижению мокроты. Существуют основания полагать, что за счет антиоксидантных свойств ацетилцистеин может обладать антиапоптогенным эффектом [93, 99, 199]. В клинической практике ацетилцистеин преимущественно используют в качестве муколитического средства при инфекционных и аутоиммунных легочных заболеваниях, а также в качестве гепатопротекторного агента и антидота при передозировке парацетамола. Наибольшую эффективность при терапии передозировки

парацетамолом отмечали при введении ацетилцистеина в течение 8–10 ч от момента передозировки [39].

Основываясь на данных, полученных в доклинических и ограниченных клинических исследованиях, можно предположить, что ацетилцистеин, по-видимому, нормализует нейротрансмиссию глутамата в прилежащее ядро и другие структуры мозга, частично за счет усиления экспрессии возбуждающего переносчика аминокислот 2, известного как переносчик глутамата 1 у лиц с зависимостью. У взрослых людей с кокаиновой зависимостью ацетилцистеин модулирует нейротрансмиссию глутамата, чего не наблюдается у людей без зависимости [116]. Это исследование, в совокупности с представленными данными, позволяет предположить, что применение ацетилцистеина с целью улучшения самочувствия при похмелье может оказывать двойное действие, с одной стороны облегчая метаболизм ксенобиотиков в печени, а с другой оказывая нейропротекторное и активирующее действие, способствуя снижению тяги к алкоголю. Ацетилцистеин, действующий как модулятор нейротрансмиссии глутамата и дофамина, обладающий выраженным антиоксидантным эффектом, представляет собой перспективное соединение для дальнейшей разработки лекарственных средств, предназначенных для коррекции постинтоксикационного состояния, вызванного употреблением высоких доз этанола.

Эффекты ацетилцистеина при лечении неврологических нарушений обобщены в Таблице 1.

Таблица 1.

Механизмы терапевтического действия ацетилцистеина при неврологических нарушениях

Заболевание	Действие
Нейродегенеративные заболевания: дегенерация спинного мозга, поздняя	Антиоксидантный эффект за препятствования образованию

Заболевание	Действие
дискинезия, миоклоническая эпилпсия, болезнь Унферрихта-Лундборга	свободных радикалов и повышения уровня глутатиона [57, 200]
Синдром Дауна	Повышение активности супероксиддисмутазы [60, 181]
Рассеянный склероз	Поглощение свободных радикалов и подавление активности фактора некроза опухоли [56, 140]
Болезнь Альцгеймера	Увеличение концентрации глутатиона [46, 170, 173]
Очаговая ишемия головного мозга	Подавление активности NO-синтазы, регенерация эндотелиального фактора релаксации, увеличение концентрации глутатиона, улучшение микроциркуляторного кровотока и оксигенации [62, 144]
Субарахноидальное кровоотечение	Поглощение свободных радикалов, подавление апоптоза эндотелиальных клеток, подавление ПОЛ, увеличение концентрации глутатиона и активности супероксиддисмутазы, защита целостности эндотелия [58]
Травматическое повреждение мозга	Улучшение состояния митохондриальной дисфункции, повышение уровня глутатиона, подавление активности фактора некроза опухоли и ядерного фактора κВ [51, 129, 135]

Из-за наличия способности ацетилцистеина увеличивать запасы глутатиона, можно предположить, что его терапевтическое действие не будет ограничено моделью острой алкогольной интоксикации с последующим «похмельным синдромом», но и окажет положительное влияние на другие состояния, сопровождающиеся снижением запасов глутатиона из-за окислительного стресса.

Таурин – 2-аминосульфоновая кислота – сульфокислота (которую иногда относят к серосодержащим аминокислотам), широко распространенная в живых организмах и участвующая во множестве метаболических процессов. Большинство млекопитающих, включая взрослых людей, способно к самостоятельному синтезу таурина. Они получают его непосредственно с пищей животного происхождения в количествах, достаточных для обеспечения метаболических потребностей [113, 115, 203].

Таурин входит в состав пищевых продуктов (включая энергетические напитки), ряда биологически активных добавок к пище, средств для парентерального питания, а также ряда лекарственных средств, предназначенных для лечения метаболических и сердечно-сосудистых заболеваний [115, 113, 202, 203].

Таурин синтезируется в организме млекопитающих из L-метионина и/или L-цистеина. Предшественник L-метионина превращается в L-цистеин, причем данный процесс происходит в 4 этапа с формированием промежуточных метаболитов: S-аденозилметионина, S-аденозингомоцистеина, гомоцистеина и цистатионина [107].

Таурин, как правило, не включается в полипептиды и белки. В тканях млекопитающих концентрация таурина наиболее высока в миокарде, сетчатке, скелетных мышцах, ткани мозга и лейкоцитах [190, 203]. Таурин участвует в ряде физиологических процессов, включая конъюгацию желчных кислот, осморегуляцию, возбудимость нейронов, воспалительные реакции и метаболизм глюкозы. Кроме того, таурин участвует в пре- и постнатальном развитии центральной нервной и зрительной систем млекопитающих, а его дефицит у

кошек может приводить к таким нарушениям, как центральная дегенерация сетчатки и дилатационная кардиомиопатия [203].

Дефицит таурина наблюдается при различных заболеваниях, в особенности – при сахарном диабете и сердечно-сосудистых заболеваниях [2, 29, 35]. Таурин снижает содержание сорбитола в условиях гипергликемии за счет антиоксидантного и осморегулирующего действия [2, 65], и тем самым способствует профилактике прогрессированию осложнений сахарного диабета [2, 27, 65, 122, 222]. На фоне введения таурина животным с экспериментальным сахарным диабетом отмечено увеличение содержания гликогена в печени и повышение утилизации глюкозы мышцами [33, 65]. Кроме того, таурин в составе таурохолевых желчных кислот принимает активное участие в выведении холестерина [2, 26]. Помимо того, таурин способен связывать липидные гидроперекиси, нарушающие целостность сосудистого эндотелия и таким образом предотвращать апоптоз клеток, а также развитие эндотелиальной дисфункции [2].

Шумянцева В. В. и соавт. (2014) изучили активность раствора таурина в различных концентрациях в качестве модулятора каталитической активности и стабилизатора изофермента цитохрома P450 (cytochrome P450, CYP) 3A4. Анализ каталитической активности проводили электрохимическими методами с циклической и квадратно-волновой вольтамперометрией. По результатам исследования выявили, что таурин в диапазоне концентраций 10–70 мкмоль/л стимулировал восстановление CYP 3A4. Максимальный эффект (восстановление $115 \pm 3\%$ CYP 3A4) отметили при использовании таурина в концентрации 50 мкмоль/л. Кроме того, таурин вызывал уменьшение ингибирования итраконазолом CYP 3A4. Также таурин оказывал защитное действие на гемопротейны, стабилизируя данные белки во время проведения электролиза при контролируемом напряжении в присутствии субстрата (эритромицина), что проявлялось возрастанием «остаточной» восстановленной формы гемопротейна [31].

Таурин значительно увеличивал восстановление функций и уменьшил накопление глиального фибриллярного кислого белка и содержание воды в пенумбральной области после индуцированной травматической черепно-мозговой травмы у крыс. Введение таурина эффективно уменьшало тяжесть травмы мозга при черепно-мозговой травме за счет уменьшения отека мозга, повышения активности астроцитов и провоспалительных цитокинов [208].

На модели синдрома Ангельмана таурин (1 г/кг, перорально) проявлял нейропротекторную активность у Ube3a-дефицитных мышей: введение таурина способствовало улучшению моторных и когнитивных функций, восстановлению уровня постсинаптической плотности белка PSD-95 и фосфорилирования ERK [204].

Таурин облегчал повреждение тканей, вызванное воспалением, и защищал мозг от инсульта в эксперименте. Sun et al. (2012) провели исследование на крысах, у которых моделировали ишемию, а через 1 ч после окончания ишемического воздействия животным внутривенно вводили таурин в дозе 50 мг/кг. Введение таурина существенно уменьшило неврологический дефицит, выраженность отека мозга, препятствовало гибели клеток и уменьшило объем зоны ишемии. Обнаружили повышение уровня PARP и ядерного фактора κB и белка p65 в клеточных фракциях ишемической пенумбры. Таурин выраженно снижал уровни фактора некроза опухоли, интерлейкина 1β, индуцибельной NO-синтазы и молекулы внутриклеточной адгезии-1, снижал активность миелопероксидазы и ослаблял инфильтрацию нейтрофилов в ишемической пенумбре через 22 ч после реперфузии [52].

Таурин оказывал положительное влияние на течение экспериментальных неврологических дефицитов вызванных отравлением [37, 215], ишемией [151, 197, 179, 220, 225, 236], черепно-мозговой травмой [103, 207] и кровоизлияниями [230]. Роль таурина в течении неврологического дефицита подтверждена в клинических исследованиях [73, 106].

S-аденозилметионин, промежуточный продукт синтеза таурина, выполняет в организме роль переносчика метильных групп, что позволяет использовать его в качестве лекарственного средства, известного как адеметионин, для лечения как расстройств гепатобилиарной системы, так и некоторых видов депрессий [43, 61, 94, 98, 154, 157, 158]. Цистатионин образуется путем соединения гомоцистеина и L-серина под действием фермента цистатионин β-синтазы, следовательно, уровень серина теоретически может регулировать биосинтез таурина. Из цистатионина образуется L-цистеин под действием 2 ферментов: γ-цистатионазы и цистеиндесульфуразы. L-цистеин, образовавшийся из L-метионина или поступивший в организм с пищей, под действием цистеиндиоксигеназы трансформируется в цистеинсульфоновую кислоту, из которой образуется гипотаурин (катализатором данного процесса является цистеинсульфоновая декарбоксилаза). Концентрации этих ферментов в тканях являются лимитирующим фактором биосинтеза таурина. Пиридоксаль-5'-фосфат (витамин В₆) является кофактором 3 ферментов, участвующих в биосинтезе таурина: цистатионсинтазы, γ-цистатионазы и цистеинсульфоновой декарбоксилазы.

Адеметионин оказывает различные фармакологические эффекты в центральной нервной системе (ЦНС), в частности он влияет на метаболизм моноаминовых нейромедиаторов и рецепторные системы [96, 131, 134, 160]. Адеметионин обладает антидепрессивными свойствами, а в некоторых исследованиях установили, что он может улучшать когнитивные функции у пациентов с деменцией [79, 182, 184]. Лечение адеметионином способствует ремиелинизации у пациентов с врожденными нарушениями фолатного метаболизма и метаболизма одноуглеродных фрагментов [83, 198, 228].

Таким образом, выбор лекарственных средств для изучения был обусловлен наличием атома серы в молекуле адеметионина, ацетилцистеина и таурина и их способностью образовывать дисульфидные связи.

Заключение

Последствия острого отравления этанолом, клинически характеризуемого неврологическим дефицитом, и повреждение эндотелия сосудов, возникающее на фоне длительного употребления алкоголя или на фоне постоянной гипергликемии, в механизме своего образования имеют общие звенья. Снижение функциональной активности гепатоцитов, наблюдаемое при метаболической нагрузке, связанной с употреблением этанола или на фоне постоянного образования кетоальдегидов из-за гипергликемии, приводит к окислительному стрессу, имеющему системное влияние. Помимо оказываемого со стороны ацетальдегида или кетоальдегидов токсического действия на нервную систему, к патогенезу присоединяется эндотелиальная дисфункция, отложенным эффектом которой является нейропатия и, как следствие, – неврологический дефицит. Метаболизм многих серосодержащих аминокислот включает образование глутатиона, недостаточность которого является центральным звеном описанной патогенетической цепи. Исходя из этого, можно предположить, что введение серосодержащих аминокислот будет препятствовать истощению глутатиона и облегчит течение окислительного стресса, приводящего к ослаблению метаболической активности печени и нарушению функционирования нейронов.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Материалы исследования

2.1.1 Животные

В рамках данной научной работы провели несколько этапов экспериментов. Моделирование постинтоксикационного состояния как результата острого отравления этанолом осуществляли на крысах линии Вистар (масса тела 300–450 г). Моделирование развития алкогольной нейропатии в условиях хронического употребления алкоголя проводили на самцах крыс линии Вистар (масса тела на момент начала экспериментов 280–350 г). Моделирование сахарного диабета смешанного типа, вызванного введением стрептозотоцина с предварительным введением никотинамида проводили на крысах линии Вистар с массой тела 200–300 г в возрасте 7 недель на начало экспериментов. Все животные были получены из питомника Рапполово. Животных содержали в стандартных условиях вивария (при температуре 20 ± 2 °С, влажности 40–60%, сменяющемся цикле день/ночь по 12 ч и с неограниченным доступом к корму и воде) в течение 14 дней до начала экспериментов. Эксперименты провели суммарно на 352 особях крыс.

Исследования выполнены в соответствии с законодательством Российской Федерации и техническими стандартами Евразийского экономического союза по надлежащей лабораторной практике (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011). Протокол исследования одобрен Региональным независимым этическим комитетом, регистрационный номер: ИРБ 00005839 IORG 0004900 (ONHP), выписка из протокола №132 от 20 мая 2019 г.

2.1.2 Исследуемые соединения

Выбор исследуемых лекарственных средств был обусловлен наличием атома серы в составе молекулы и их способностью образовывать дисульфидные связи. В работе были использованы следующие лекарственные средства в виде порошков: Флуимуцил® (ацетилцистеин, Замбон С.п.А., Италия) Гептор®

(адеметионина бутандисульфат, ООО «ВЕРОФАРМ», Россия); Таурин (Supprtrue Taurine, Россия). В дополнительном эксперименте использовали следующие лекарственные средства: кофеин (OstroVit Caffeine, Польша); янтарная кислота («Хуанлонг Фуд Эдитивес», Китай); Тиоктовая кислота (α -липоевая кислота, ЗАО «Бинергия», Россия); Пиридоксин (пиридоксин, ООО ХФК «МИР», Россия).

2.2 Дизайн исследования

2.2.1 Острая интоксикация этанолом

Проведено 2 серии экспериментов на самцах крыс линии Вистар (масса тела 300–450 г), которых содержали в стандартных условиях вивария. В обеих сериях экспериментов проводили сравнение показателей, отражающих неврологический дефицит при острой интоксикации этанолом при последующем введении ацетилцистеина, адеметионина или таурина (через 30 минут после пробуждения).

В первой серии экспериментов для оценки выраженности неврологического дефицита использовали оценку по шкале Combs and D'Alecy (1987), тест «открытое поле» и тест «приподнятый крестообразный лабиринт». Во второй серии анализировали зоосоциальное поведение. Описания методик указанных тестов представлены в Разделе «Методы оценки психоневрологического дефицита».

Поведенческие тесты

Животным вводили алкоголь (20% водного раствора этанола, 3 г/кг, в/б), что приводило к их засыпанию, а сразу после пробуждения им вводили одно из трех лекарственных средств: ацетилцистеин (1 г/кг, внутривентрикулярно), адеметионин (100 мг/кг) или таурин (40 мг/кг). Животным из группы отрицательного контроля вместо этанола вводили воду для инъекций в соответствующем объеме. Животным из группы положительного контроля после острой алкоголизации внутривентрикулярно вводили воду для инъекций в соответствующем объеме. В каждую группу включили по 8 животных.

Через 30 мин после введения животных тестировали с использованием шкалы Combs and D'Alecy, теста «открытое поле» и теста «приподнятый крестообразный лабиринт» по стандартным методикам.

Методы оценки психоневрологического дефицита

Оценка по шкале психоневрологического дефицита Combs and D'Alecy

Неврологический дефицит у животных оценивали по шкале Combs and D'Alecy (1987), включающей в себя оценку мышечной силы, цепкости и равновесия животных (от 1 до 3 баллов в каждом из тестов). Меньший суммарный балл соответствовал более выраженным неврологическим нарушениям у крыс [80]. Поскольку до начала серии экспериментов животные были интактными и физически здоровыми, оценку их состояния перед введением этанола или физиологического раствора не проводили. После оценки состояния животных по перечисленным шкалам их поведение изучали в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт».

Открытое поле

Тест «открытое поле» проводили в установке с квадратным основанием (90*90 см), разделенным на 25 квадратов. Животное помещали в центр установки, затем его поведение оценивали в течение 3 мин, регистрируя общую продолжительность исследовательской активности (суммарная продолжительность всех движений, за исключением груминга), количество пересеченных квадратов и время, проведенное в центральной зоне установки (9 квадратов в центре) [30].

Приподнятый крестообразный лабиринт

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» проводили в соответствующей установке, имеющей 2 темных и 2 светлых рукава. Животное помещали в центр установки, затем его поведение оценивали в течение 3 мин, регистрируя суммарную длительность нахождения в темном рукаве установки.

Зоосоциальное поведение

Оценку зоосоциального поведения по модифицированной методике Петрова В.И. [25] начинали через 30 мин после введения исследуемых лекарственных средств. Каждому животному из опытной или контрольной группы соответствовало сопоставимое по массе тела интактное животное.

Установка для проведения теста представляла собой квадратное открытое поле без норок, находящееся в темном помещении и освещаемое красным светом. Пару животных – сначала интактное, затем животное из эксперимента – по очереди помещали в центр установки и наблюдали в течение 10 мин.

Оценивали следующие компоненты поведения подвергнутого воздействию животного: тревожность, коммуникативность, негативность, исследовательская активность, агрессивность. Тревожность оценивали по количеству актов замирания и количеству актов короткого груминга. Коммуникативность оценивали по длительности следования за интактным животным, количеству актов обнюхивания (переда, бока, хвоста и ануса) и количеству актов алло- и аутогруминга. Негативность поведения оценивали по количеству актов избегания. Исследовательское поведение оценивали по количеству вертикальных стоек без и с опорой на стену. Агрессивность оценивали по количеству актов приближения с боку.

Методы определения биохимических показателей

Через 24 ч после начала серии экспериментов [6] животных из всех групп подвергали эвтаназии, после чего отбирали образцы печени. Печень предварительно перфузировали раствором Рингера [24], после чего гомогенизировали. Перфузию печени проводили с помощью стандартной методики. Животных наркотизировали при помощи внутрибрюшинной инъекции хлоралгидрата в дозе 400 мг/кг, после чего проводили лапаротомию и выделяли воротную вену и нижнюю полую вену, которые фиксировали канюлями 14 Fr. Изолированную печень подключали к перфузионной установке в следующем порядке: воротная вена, нижняя полая вена. Базовый раствор для перфузии содержал NaCl 120 ммоль/л, K_2HPO_4 1,2 ммоль/л, MgSO_4 1,2 ммоль/л, CaCl_2 2,6

ммоль/л, NaHCO_3 25 ммоль/л. Водородный показатель (pH) раствора составил 7,4. Раствор при 37 °С обогащали газовой смесью, содержащей 95% O_2 и 5% CO_2 [24]. После перфузии печень извлекали и гомогенизировали в автоматическом гомогенизаторе.

Измерение биохимических показателей в крови проводили аналогичными указанным ниже методами. Все реакции проводили в трипликатах.

Измерение концентрации малонового диальдегида

Концентрацию МДА определяли при помощи реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК) [155, 192]. Готовили 1,4% раствор ортофосфорной кислоты и 0,6% раствор ТБК. После центрифугирования образцов гомогената печени отбирали супернатант и готовили опытные и контрольные пробы с супернатантом и H_2O вместо него.

Пробы центрифугировали, отбирали супернатант и измеряли оптическую плотность растворов при $\lambda = 535$ нм и $\lambda = 570$ нм. Содержание ТБК в пробе рассчитывали по формуле

$$\left[\text{Концентрация} = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} * 16, \right. \quad (1)$$

где D_{535} – оптическая плотность $\lambda = 535$ нм;

D_{570} – $\lambda = 570$ нм;

0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса МДА-ТБК;

16 – коэффициент разведения пробы.

Измерение концентрации глутатиона

Концентрацию GSH в образцах определяли в реакции восстановления 5,5-дителиобис-(2-нитробензойной кислоты) (ДТНБ) [191]. К 0,2 мл 30% раствора трихлоруксусной кислоты добавляли 100 мкл гомогената печени. Пробы центрифугировали при температуре +2 °С в течение 10 мин при 3000 об/мин, после чего отбирали супернатант (по 0,8 мл) и переносили в пробирки, содержащие 200 мкл 0,3М буфера Трис-НСl (pH = 8,8). К полученной смеси добавляли 4 мкл 10 ммоль/л раствора ДТНБ в метаноле. После инкубации до появления желтой окраски (10–15 мин) пробы фотометрировали на длине волны

412 нм в кювете с длиной оптического пути 10 мм против дистиллированной воды на спектрофотометре. Для построения калибровочных кривых использовали растворы глутатиона в концентрации 0,125–2 ммоль/л. По калибровочной кривой проводили расчет содержания GSH, показатель выражали в мг/г ткани.

Измерение активности аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы

Через 24 ч после начала серии экспериментов [6] животных из всех групп подвергали эвтаназии, после чего отбирали образцы крови. Активность АСТ и АЛТ в плазме крови животных определяли при помощи соответствующих реагентов.

Активность АСТ и АЛТ в перфузате определяли при помощи соответствующих реагентов. Для определения АСТ проводили следующие манипуляции. В опытную, холостую и контрольную пробы добавили по 0,25 мл смеси субстратно-буферного раствора (рН 7,4), содержащего калий фосфорнокислый однозамещенный, (100 ммоль/л), L-аспартат в концентрации 200 ммоль/л, α -кетоглутарат в концентрации 2 ммоль/л, динатриевую соль этилендиамина тетрауксусной кислоты (ЭДТА) в количестве 5 ммоль/л и азид натрия (0,095%). Пробирки инкубировали при температуре 37 °С в течение 5 мин, после чего в опытную пробирку добавляли 0,05 мл сыворотки, а в холостую – 0,05 мл дистиллированной воды, перемешивали и инкубировали в течение 30 мин при 37 °С. По окончании инкубации в опытную, холостую и контрольную пробы добавляли по 0,25 мл смеси 2,4-динитрофенилгидразина (1 ммоль/л) и соляной кислоты (1 моль/л). Проводили инкубацию при температуре 20 °С в течение 20 мин, после чего добавляли по 2,5 мл 0,4 моль/л раствора гидроксида натрия и выдерживали пробы при комнатной температуре в течение 5 мин. Определяли оптическую плотность опытной и контрольной проб против холостой при $\lambda = 560$ нм. Для расчета активности АСТ использовали разность оптических плотностей опытной и контрольной проб.

Измерение концентрации триглицеридов

Содержание триглицеридов в перфузате определяли после экстракции гептаном и изопропанолом с последующим фракционированием алкоголятом натрия фотометрически (после инкубации с 2,4-пентандионом при длине волны 410 нм) [66, 90].

Измерение активности супероксиддисмутазы

Активность СОД определяли фотометрическим методом, основанным на оценке степени ингибирования реакции окисления эpineфрина [139, 192]. Методика определения активности СОД основана на определении количества продукта окисления эpineфрина, с поглощением в области 347 нм, образование которого происходит в отсутствие дополнительных источников генерации O_2^- и чувствительно к СОД. Гомогенат тканей готовили в среде выделения, содержащей 0,25 М сахарозы и 1 ммоль/л ЭДТА в соотношении 1:9. После центрифугирования (6000 g, 15 мин.) отбирали супернатант для дальнейшего исследования. К 2 мл 0,2 моль/л карбонатного буфера (pH = 10,65) добавляли 100 мкл 0,1% раствора адреналина, быстро перемешивали и измеряли величину оптической плотности ($\lambda = 347$ нм) через каждые 30 с в течение 5 мин. В кювету к 2 мл буфера добавляли 10 мкл супернатанта и 100 мкл 0,1% адреналина, перемешивали и измеряли нарастание оптической плотности, как описано выше. В пробу, против которой проводили измерение, не вносили адреналин. О величине активности СОД в пробе судили по степени ингибирования им скорости аутоокисления адреналина. Процент ингибирования вычисляли по формуле

$$\% \text{ ингибирования} = \left[1 - \left(\frac{\Delta D_{\text{опыт}}}{\Delta D_{\text{контроль}}} \right) \right] * 100\%, \quad (2)$$

где $\Delta D_{\text{опыт}}$ – скорость реакции аутоокисления адреналина в присутствии супернатанта;

$\Delta D_{\text{контроль}}$ – скорость реакции аутоокисления адреналина в отсутствие супернатанта;

результат выражали в ед на 1 мг белка.

О скорости окисления адреналина судили по изменению оптической плотности. Все реакции проводили в трипликатах.

2.2.2 Влияние хронической интоксикации на активность S9 *in vitro*

Моделирование

Серию экспериментов провели на 36 самцах крыс линии Вистар (масса тела 280–350 г), которых разделили на 3 группы: группу отрицательного контроля, группу положительного контроля и опытную группу ($n = 12$ в каждой группе). У всех животных, кроме интактных, в качестве единственного источника жидкости использовали 15% раствор этанола. В течение 1 недели животные получали стандартное питание и раствор этанола (положительный контроль, опыт) или обычную питьевую воду (отрицательный контроль). Начиная со 2 недели экспериментального этапа животным из опытной группы ежедневно начинали внутривенно вводить ацетилцистеин в дозе 500 мг/кг/сут в течение 1 недели. Животным из обеих контрольных групп вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Метод определения активности микросомальной фракции S9

Для отбора образцов печени, животных наркотизировали однократным внутривенным введением хлоралгидрата в дозе 400 мг/кг, после чего брюшную полость вскрывали, портальную вену изолировали и катетеризировали для подключения перфузионной системы, состоящей из перистальтического насоса, емкости с перфузионным раствором, который представлял собой 0,1 М PBS ($\text{pH} = 7,4$). Об эффективности перфузии судили по изменению окраски и консистенции печени. По окончании перфузии животных подвергали эвтаназии, печень извлекали, измельчали и гомогенизировали в PBS (1:4), после чего полученные гомогенаты центрифугировали при 9000 g в течение 20 минут. Определение активности ферментативных систем проводили в 96-луночных планшетах, в лунки которых вносили по 50 мкл супернатанта и 200 мкл среды RPMI, содержащей феноловый красный в качестве кислотно-основного индикатора. В качестве негативного контроля использовали супернатант, прокипяченный при 100 °C в течение 20 минут [63]. Планшеты помещали в

шейкер-инкубатор (500 об/мин, 37 °С) на 30 минут, затем определяли абсорбцию образцов при 415 нм, что близко к максимуму поглощения кислотной формы фенолового красного.

2.2.3 Влияние ацетилцистеина на биохимические показатели *ex vivo* у крыс после острой алкоголизации

Моделирование

Провели серию экспериментов на самцах крыс линии Вистар (масса тела 300–350 г), полученных из питомника Рапполово, которых содержали в стандартных условиях вивария (при температуре 20 ± 2 °С, влажности 40–60%, сменяющемся цикле день/ночь по 12 ч и с неограниченным доступом к корму и воде) в течение 14 дней до начала серии экспериментов. Исследование выполнено в соответствии с законодательством Российской Федерации и техническими стандартами Евразийского экономического союза по надлежащей лабораторной практике (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011). Протокол исследования одобрен Региональным независимым этическим комитетом, регистрационный номер: ИРБ 00005839 IORG 0004900 (OHRP), выписка из протокола №132 от 20 мая 2019 г.

Индукция алкогольной интоксикации всем исследуемым животным и последующее введение ацетилцистеина в опытной группе осуществляли по методике, описанной в Разделе 2.2.1 (введение сразу после пробуждения). Животных подвергали эвтаназии через 24 ч после индукции интоксикации, по 6 животных в каждой группе.

Проводили перфузию печени с помощью стандартной методики. Животных наркотизировали при помощи внутрибрюшинной инъекции хлоралгидрата в дозе 400 мг/кг, после чего проводили лапаротомию и выделяли воротную вену и нижнюю полую вену, которые фиксировали канюлями 14 Fr. На протяжении перфузии из перфузионного контура выполняли отбор проб перфузата для общего и биохимического анализа. Изолированную печень подключали к перфузионной установке в порядке – воротная вена, нижняя полая вена. Базовый раствор для

перфузии содержал NaCl 120 ммоль/л, KH_2PO_4 1,2 ммоль/л, MgSO_4 1,2 ммоль/л, CaCl_2 2,6 ммоль/л, NaHCO_3 25 ммоль/л. Водородный показатель (pH) раствора составил 7,4, раствор при 37 °С обогащали газовой смесью, содержащей 95% O_2 и 5% CO_2 [24].

Методы оценки биохимических показателей

С помощью методик, описанных в Разделе 2.2.1 (Методы определения биохимических показателей) в перфузате определяли концентрацию глутатиона, СОД, малонового диальдегида, активность АСТ и АЛТ, а также концентрацию триглицеридов.

Диеновые конъюгаты

Концентрацию диеновых конъюгатов в плазме крови определяли спектрофотометрическим методом [194]. Принцип метода основан на определении содержания первичных продуктов ПОЛ в экстракте липидов, полученного из плазмы крови, по показателю поглощения светового потока в ультрафиолетовой части спектра при длине волны 233 нм. С этой целью использовали спектрофотометр ПЭ-5400УФ (ООО «Экротхим»).

К 0,2 мл перфузата добавляли 4 мл смеси экстракта гептан:изопропанол (1:1). Полученный раствор размешивали с помощью шейкера-ротатора Bio RS-24 в течение 15 минут. После смешивания в пробирку добавляли 1 мл раствора HCl с pH = 2 и 2 мл гептана. Получившийся раствор снова размешивали с помощью шейкера-ротатора в течение 10 минут. Затем раствор отстаивали до разделения на фазы (требовалось 20–25 минут) и отбирали супернатант (гептановый слой). В супернатанте определяли концентрацию ацилгидроксиперекисей по поглощению при $\lambda = 233$ нм. Измерение проводили против пробы с 0,2 мл воды вместо перфузата, которую подвергали всем вышеперечисленным манипуляциям.

Расчет содержания первичных продуктов перекисного окисления липидов производили в относительных единицах по формуле

$$C_{A233} = \frac{D_{233} \times VE}{V_{sp}}, \quad (3)$$

где C_{A233} – концентрация первичных продуктов окисления липидов, мкмоль/мл;

D_{233} – оптическая плотность при измерении при длине волны 233 нм;

V_E – объем экстракта;

V_{sp} – объем образца.

2.2.4 Хроническая интоксикация этанолом

Моделирование

Экспериментальную часть работы выполнили в лаборатории нейрорепродуктивных средств отдела персонализированной медицины и клинической фармакологии Научного центра инновационных лекарственных средств Волгоградского государственного медицинского университета (зав. лаб. – к.м.н., доцент Морковин Е. И.). Эксперименты проводили на самцах крыс линии Вистар (исходная масса тела 280–350 г), которых содержали в стандартных условиях вивария. Животных распределили на 5 групп по 10 особей; крысам из 4 групп в качестве единственного источника жидкости предоставляли 15% раствор этанола в воде для моделирования хронической алкоголизации [18], в то время как крысы из оставшейся группы оставались интактными до конца серии экспериментов. Выбранная модель алкоголизации, ранее применявшаяся в отечественных научных исследованиях [8], отличается от моделей, распространенных в зарубежной литературе, поскольку в последних, как правило, для алкоголизации используют специально разработанную жидкую диету, содержащую 6,5% алкоголя [100, 101, 102, 104, 177, 226]. В то же время, поскольку уровни потребления жидкости и корма у взрослых крыс сопоставимы (в среднем 30 мл против 30 г при массе животного около 425 г) [118], модель алкоголизации водным раствором этанола представляется более подходящей ввиду более высокой экспозиции этанола. Помимо этого, с учетом того, что на фоне алкоголизации предпочтение этанола повышается из-за возникающей полидипсии и подкрепляющих свойств этанола [18, 23, 146], подобная модель может обладать большей конструктивной валидностью и позволяет отследить изменение питьевого поведения животных.

Через 4 недели животным, получавшим этанол, начинали ежедневно внутривенно вводить ацетилцистеин (500 мг/кг/сут), адметионин (50 мг/кг/сут), таурин (20 мг/кг/сут) или носитель – изотонический раствор натрия хлорида (5 мл/кг/сут). Данный этап длился 4 недели; спустя 24 ч после окончания введения исследуемых лекарственных средств всех животных подвергали эвтаназии путем декапитации под эфирным наркозом для отбора образцов крови и тканей печени для последующего анализа. Таким образом, общая продолжительность экспериментального этапа составила 8 недель. План-график представлен в Таблице 2.

Таблица 2.

План-график серии экспериментов

Проводимые процедуры	Неделя экспериментальной серии								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Измерение массы тела	●		●		●		●		●
Оценка неврологического дефицита	●		●		●		●		●
Оценка координации движений	●		●		●		●		●
Оценка температурной гипералгезии	●		●		●		●		●
Оценка температурной аллодинии	●		●		●		●		●
Оценка механической аллодинии	●		●		●		●		●
Алкоголизация		●	●	●	●	●	●	●	●
Введение исследуемых лекарственных средств						●	●	●	●
Оценка предпочтения этанола					●				●
Эвтаназия									●
Отбор биологического материала									●
Оценка биохимических показателей									●

Каждые две недели с животными из всех групп проводили следующие процедуры:

- Измерение массы тела;

- Оценку координации движений в тесте удержания на вращающемся стержне;
- Оценку температурной гипералгезии;
- Оценку температурной аллодинии;
- Оценку механической аллодинии;
- Оценку неврологического дефицита.

Методы оценки психоневрологического дефицита и нейропатии

Ротарод

Тест удержания на вращающемся стержне проводили с использованием аппаратно-программного комплекса Ротарод (ООО «Нейроботикс», Россия), настроенного для вращения с возрастающим ускорением. Животных помещали на стержень (по 3–4 особи одновременно) и регистрировали время (в секундах), в течение которого они могли удержаться на движущемся стержне до падения [22]. Если животное удерживалось на стержне в течение 1 мин, тест считали успешно пройденным, а само животное возвращали в домашнюю клетку.

Температурная гипералгезия

Оценку температурной гипералгезии проводили в двух тестах. Для определения чувствительности к повышенным температурам проводили тест «горячая пластина»: животных помещали на металлическую пластину, соединенную с нагревательным элементом, нагретую до 55 ± 1 °С, и регистрировали латентный период (ЛП) до начала проявления ноцицептивного поведения (вокализаций и/или вылизывания лап) [21]. Для определения чувствительности к пониженным температурам животных помещали в устройство, ограничивающее их движения, а кончик хвоста погружали на глубину 1 см в емкость с холодной водой со льдом (2 ± 1 °С), регистрируя ЛП до отдергивания хвоста. Если ноцицептивное поведение не возникало в течение 20 с, животное возвращали в домашнюю клетку [101, 177].

Температурная аллодиния

Оценку температурной аллодинии, то есть возникновения болевой реакции на стимулы, которые в норме не вызывают болевых ощущений, проводили в двух тестах. Для определения аллодинии при воздействии повышенной температуры проводили модифицированный тест «горячая пластина»: животных помещали на металлическую пластину, соединенную с нагревательным элементом, нагретую до 45 ± 1 °С, и регистрировали ЛП до начала проявления ноцицептивного поведения (вокализаций и/или вылизывания лап) в течение 30 с наблюдения, после чего животное возвращали в домашнюю клетку. Для оценки холодовой аллодинии на плантарную поверхность задней лапы крысы распыляли 100 мкл ацетона, испарение которого при комнатной температуре оказывает охлаждающее действие. Аллодинию в данном случае оценивали в течение 20 с по совокупной длительности реакций, проявляющихся вылизыванием, подергиванием или вычесыванием лапы, на которую наносили ацетон [101, 177].

Механическая аллодиния

Оценку механической аллодинии производили при помощи набора филаментов фон Фрея (0,07, 0,16, 0,4, 0,6, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 и 10,0 г). Тестирование начинали с использованием филамента 1,0 г, которым нажимали на плантарную поверхность задней лапы до легкого сгибания филамента в течение 3–4 с. При отсутствии реакции, проявляющейся отдергиванием лапы, тестирование повторяли с более толстым филаментом, при наличии реакции – с менее толстым, что было необходимо для определения минимального усилия, вызывавшего болевую реакцию [21, 100].

Модифицированная шкала неврологического дефицита

Наличие симптомов поражения нервной системы оценивали, используя mNSS, включающую проверку рефлексов, двигательной активности и координации. Проводимые тесты в соответствии с методикой оценки включали подвешивание за хвост, хождение по горизонтальной перекладине, оценку активности в домашней клетке, сенсорно-моторных функций и основных

рефлексов (Таблица 3) [18, 22, 23]. В использованной версии шкалы 1–6 баллов соответствовали легкому, 7–12 – умеренному, 13–18 – тяжелому неврологическому дефициту.

Таблица 3.

Модифицированная шкала тяжести неврологической симптоматики (58)

Тест	Баллы	Проявления	Баллы
Подвешивание за хвост	0 – 3	Подгибание передней конечности	1
		Подгибание задней конечности	1
		Смещение головы $> 10^\circ$ от вертикальной оси в течение 30 секунд	1
Двигательная активность	0 – 3	Без особенностей	0
		Невозможность движения по прямой	1
		Манежность	2
		Падение на одну из сторон	3
Сенсорные тесты	0 – 2	Тест постановки передней конечности	1
		Сопrotивление пассивному сгибанию конечности в голеностопном суставе	1
Хождение по перекладине	0 – 6	Устойчивая поза	0
		Зажимание одной из сторон перекладины	1
		Обхватывание перекладины с соскальзыванием одной из конечностей	2
		Обхватывание перекладины с соскальзыванием двух конечностей или вращение на перекладине (> 60 с)	3
		Безуспешная попытка удержаться на перекладине, падение (> 40 с)	4
		Безуспешная попытка удержаться на перекладине, падение (> 20 с)	5

Тест	Баллы	Проявления	Баллы
		Падение без попыток повиснуть или удержаться на балке (< 20 с)	6
Выпадение рефлексов, специфические движения	0 – 4	Рефлекс наружного слухового прохода	1
		Роговичный рефлекс	1
		Стартл-рефлекс	1
		Судороги, миоклонусы, мышечная дистония	1

Тест предпочтения этанола

Через 4 недели после начала серии экспериментов для подтверждения возникновения алкогольной зависимости у животных выполняли тест предпочтения этанола: крыс помещали в индивидуальные клетки на 2,5 ч без доступа к пище и воде, а через 2 ч предоставляли доступ к двум поилкам, содержащим питьевую воду и 15% раствор этанола соответственно. В течение 30 мин подсчитывали время, проведенное в контакте с каждой из поилок, а в конце периода наблюдения определяли объем жидкости, употребленной животным. После измерения объема выпитой жидкости высчитывали коэффициент предпочтения алкоголя (D): $D (\%) = 100 * V_{\text{алк}} / V_{\text{общ}}$, где $V_{\text{алк}}$ – объем этанола, $V_{\text{общ}}$ – общий объем выпитой жидкости [18, 23]. В конце серии экспериментов тестирование проводили повторно.

Методы оценки биохимических показателей

В конце исследования животных подвергали эвтаназии, отбирали образцы крови и печени и проводили анализ согласно описанным в Разделе 2.1.1 (Методы определения биохимических показателей). Все реакции проводили в трипликатах.

2.2.5 Сахарный диабет смешанного типа

Моделирование

Провели серию экспериментов с использованием крыс линии Вистар (масса тела 280–350 г, возраст 7 недель, $n = 10$ в каждой группе). Для индукции сахарного диабета выбрали модель стрептозотоцин-никотинамидного сахарного диабета. При экспериментальной модели стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета с предварительным введением никотинамида повышается устойчивость β -клеток островков Лангерганса к повреждающему действию стрептозотоцина, что позволяет воспроизводить состояние в значительной степени близкое диабету типа 2, проявляющемуся в умеренной и стабильной гипергликемии, присутствии глюкозы в моче, без явлений ацидоза [34].

Моделирование проводили следующим образом: животным внутрибрюшинно вводили никотинамид в дозе 230 мг/кг, а через 15 минут – стрептозотоцин в дозе 65 мг/кг [34]. Животных разделили на 5 экспериментальных групп: в группу отрицательного контроля (интакт) включили животных, которым не проводили моделирование сахарного диабета смешанного типа; животным из опытных групп через 4 недели после индукции сахарного диабета начинали ежедневно внутривенно вводить ацетилцистеин (500 мг/кг/сут), адеметионин (50 мг/кг/сут) или таурин (20 мг/кг/сут) в течение 4 недель (до 8 недели); в группу положительного контроля (диабет) включили животных, которым индуцировали сахарный диабет, а вместо лекарственных средств вводили физиологический раствор в соответствующем объеме.

Валидация

Каждые 2 недели у животных измеряли массу тела и уровень глюкозы в крови.

Оценка нейропатии

Оценку выраженности нейропатии проводили на каждой четной неделе экспериментальной серии от момента индукции сахарного диабета (0 неделя) до момента окончания введения лекарственных средств (8 неделя).

Оценку температурной гипералгезии, аллодинии и механической аллодинии проводили с помощью методов, описанных выше в Разделе 2.2.4 (Методы оценки психоневрологического дефицита и нейропатии).

Методы оценки биохимических показателей

На 8 неделе экспериментов после финального введения лекарственных средств животных подвергали эвтаназии и отбирали у них образцы крови для определения активности АСТ, АЛТ и концентрацию общего белка. У животных также отбирали образцы печени и в их гомогенатах определяли содержание триглицеридов, СОД, GSH и МДА. Соответствующие методы описаны в Разделе 2.2.1.

2.2.6 Эффективность комбинации ацетилцистеина и других лекарственных средств

Моделирование

Исследование выполнено с использованием крыс-самцов линии Вистар (300–350 г). За 48 часов до алкогольной интоксикации все крысы были обучены с помощью теста УРПИ, с проверкой выработанного навыка в течение 24 часов. Сформировали 9 групп животных (n = 10):

1. Интактная группа – физиологический раствор (15 мл/кг внутривентриально и 5 мл/кг перорально)
2. Этанол (3 г/кг) + физ. р-р (5 мл/кг; плацебо);
3. Этанол (3 г/кг) + ацетилцистеин (1 г/кг);
4. Этанол (3 г/кг) + таурин (20 мг/кг);
5. Этанол (3 г/кг) + кофеин (20 мг/кг);
6. Этанол (3 г/кг) + янтарная кислота (100 мг/кг);
7. Этанол (3 г/кг) + липоевая кислота (100 мг/кг);
8. Этанол (3 г/кг) + пиридоксин (400 мг/кг);
9. Этанол (3 г/кг) + композиция.

Состав композиции был следующим: ацетилцистеин (500 мг/кг) + таурин (20 мг/кг) + кофеин (10 мг/ кг) + янтарная кислота (50 мг/кг) + липоевая кислота (50 мг/кг) + пиридоксин (200 мг/кг).

Животные из интактной группы получали физиологический раствор внутрибрюшинно и перорально. Крысы остальных групп получали водный 20% раствор этилового спирта внутрибрюшинно (3 г/кг). После пробуждения и оценки уровня неврологического дефицита однократно получали физиологический раствор, вещества или их композицию в обозначенных дозах. Объем вводимой жидкости составил 15 мл/кг при внутрибрюшинном и 5 мл/кг при пероральном введении.

После пробуждения у них определяли уровень психоневрологического дефицита с использованием шкалы Combs and D'Alecy и тестов «Адгезивный тест» (время обнаружения и избавления от пластыря 5×5 мм на ладонной поверхности передних лап за 180 секунд) и «открытое поле» (фиксировалась «двигательная активность» – число пересеченных за 3 минуты квадратов и «исследовательская активность» – сумма числа обследованных отверстий и числа вставаний на задние лапы) [22]. После чего животным вводили физиологический раствор, одно из указанных выше веществ или их комбинацию в 2 раза уменьшенной дозе (за исключением таурина, который в составе комбинации вводился в аналогичной дозе для сохранения его потенциального кардиопротективного эффекта, отмеченного в ряде исследований) [89]. Двукратное уменьшение доз в составе комбинаций проводилось для выявления эффекта потенцирования вследствие взаимного дополнения действий веществ, входящих в состав комбинации.

Методы оценки поведения и биохимических показателей

Спустя 3 часа поведенческие тесты повторяли. Эвтаназию (обескровливание) проводили под наркозом тилетамин + золазепам (Zoletil® 100, Valdepharm, France) в дозе 20 мг/кг + ксилазин в дозе 8 мг/кг (Xyla, Interchemie, Netherlands). После эвтаназии осуществляли отбор образцов тканей печени для

последующего биохимического анализа. Методы определения биохимических показателей в крови и гомогенатах печени представлены в Разделе 2.2.1. Важно отметить, что измерения концентрации всех исследуемых соединений проводили в гомогенатах, а не в образцах крови.

2.2.7 Статистическая обработка результатов исследований

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики с использованием программного обеспечения Microsoft Office Excel и GraphPad Prism 5.0. Распределение количественных показателей оценивали с использованием критериев Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Межгрупповые различия оценивали при помощи однофакторного и двухфакторного (при измерении в различные промежутки времени) дисперсионного анализа с пост-тестом Ньюмена-Кеулса, а цифровые значения представляли в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего арифметического при нормальном распределении показателей или в виде медианы и интерквартильного размаха в случае, если распределение показателей отличалось от нормального. При проверке статистической значимости межгрупповых различий уровень значимости принимали за $p < 0,05$ (независимо от расчетного значения, если оно было меньше указанного порога).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА, АДЕМЕТИОНИНА И ТАУРИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ «ПОХМЕЛЬНОГО СИНДРОМА», ВОЗНИКШЕГО ПОСЛЕ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

3.1 Результаты оценки психоневрологического дефицита

Итоговые результаты оценки психоневрологического дефицита обобщены в Таблице 4.

Таблица 4.

Результаты измерения основных показателей психоневрологического дефицита

Компонент поведения	Отрицательный контроль	Положительный контроль	АЦЦ	Адеметионин	Таурин
Локомоция	Средний балл по шкале Combs and D'Alecy				
	6,625 ± 1,408	4,125 ± 1,126 (-37,74%)*	5,25 ± 1,488 (-20,75%)	5,75 ± 1,832 (-13,21%)	5,5 ± 1,414 (-16,98%)
	Двигательная активность в тесте «открытое поле», количество пересеченных квадратов				
	18,13 ± 10,3	7,625 ± 9,501 (-57,94%)	9,75 ± 7,186 (-46,22%)	10,5 ± 5,237 (-42,08%)	9,5 ± 5,127 (-47,60%)
Исследовательская активность	Количество заглядываний в норки				
	7,125 ± 1,885	3,375 ± 1,408 (-52,63%)*	3,875 ± 1,356 (-45,61%)*	5,375 ± 2,066 (-24,56%)*	3,75 ± 1,282 (-47,37%)*
	Количество вертикализаций				
	24 ± 8,816	15,13 ± 3,227 (-36,96%)*	6,75 ± 3,919 (-71,88%)* [#]	14,38 ± 5,37 (-40,08%)*	11,88 ± 3,643 (-50,5%)*
Тревожность	Время в центре открытого поля, с				
	9,333 ± 5,046	3,167 ± 1,169 (-66,07%)*	4,833 ± 2,714 (-48,22%)*	10,67 ± 3,327 (+14,33%)* ^{##}	2,5 ± 1,049 (-73,21%)*
	Время в темном рукаве приподнятого крестообразного лабиринта, с				
	87,5 ± 22,65	149,3 ± 19,68 (+70,63%)*	114 ± 33,83 (+30,29%)*	102,6 ± 37,61 (+17,26%)*	91 ± 16,75 (+4,00%)* ^{###}

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; ** – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; *** – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; # – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ## – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ### – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения (процентное снижение).

Оценка по шкале психоневрологического дефицита Combs and D'Alecy

У крыс, которым вводили только физиологический раствор, оценка по шкале Combs and D'Alecy (Рисунок 2) составила $6,625 \pm 1,408$ баллов, что соответствует показателям здоровых животных [18, 23, 32]. В группе положительного контроля выраженность неврологического дефицита была существенно выше, чем у интактных животных: это проявлялось более низкой оценкой по шкале Combs and D'Alecy, достигавшей $4,125 \pm 1,126$ баллов ($p < 0,05$).

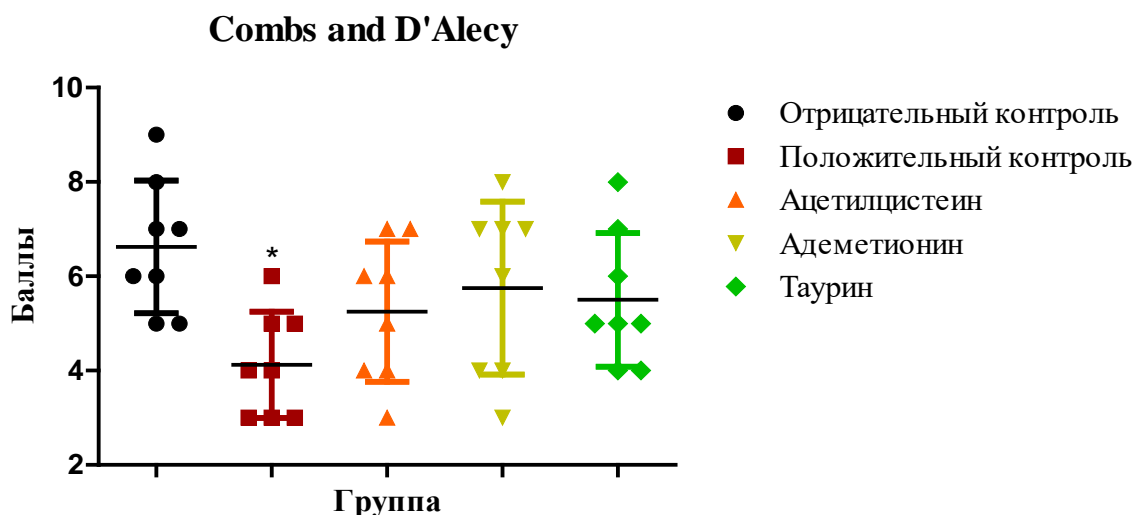


Рисунок 2. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на показатели неврологического дефицита по шкале Combs and D'Alecy у крыс, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: * – статистически значимое отличие при сравнении с показателем в группе отрицательного контроля при $p < 0,05$; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

Представленные результаты позволили заключить, что ацетилцистеин, адеметионин и таурин способны снижать тяжесть постинтоксикационного состояния, вызванного у крыс введением высоких доз этанола, что проявляется уменьшением выраженности неврологического дефицита на 20,75%, 13,21% и 16,98% соответственно.

Открытое поле

У животных, получавших этанол перед введением ацетилцистеина или физиологического раствора, двигательная активность, выраженная в числе пересеченных квадратов в тесте «открытое поле» (Рисунок 3), была ниже показателя, зарегистрированного у интактных крыс: медианное количество пересеченных квадратов у интактных крыс составило $18,13 \pm 10,3$. Количество квадратов, пересеченных животными из группы положительного контроля, составило $7,63 \pm 9,5$. Несмотря на столь существенную разницу, показатели не отличались статистически значимо, что предположительно связано с высокой вариабельностью показателя.

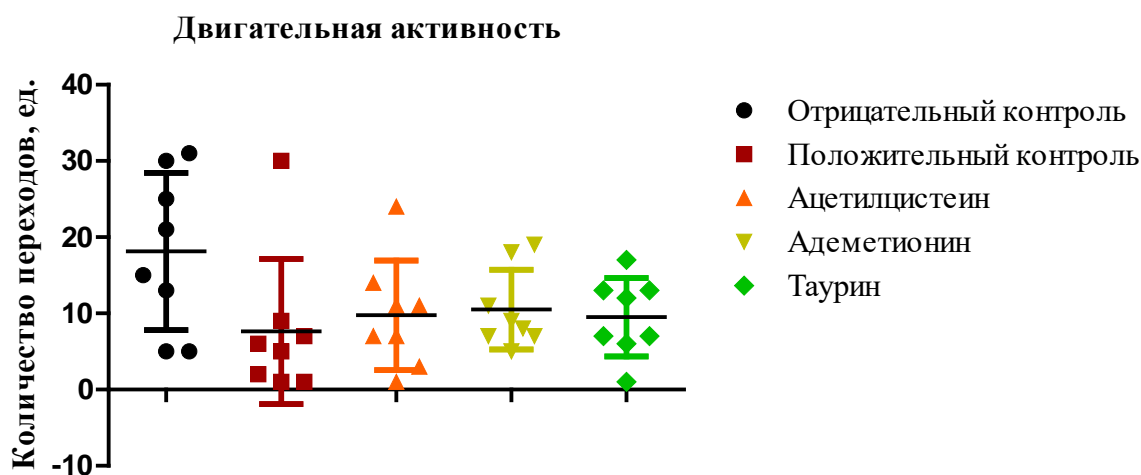


Рисунок 3. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на двигательную активность в тесте открытое поле у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Исследовательская активность (Рисунки 4, 5) в тесте «открытое поле» после введения этанола существенно снижалась: у животных из группы положительного контроля количество заглядываний в норки было статистически значимо ниже, чем у крыс из группы отрицательного контроля ($3,38 \pm 1,41$ против $7,13 \pm 1,89$ актов; $p < 0,001$). У животных, которым вводили ацетилцистеин, адеметионин и таурин, показатель составил $3,88 \pm 1,36$ ($p < 0,001$), $5,38 \pm 2,066$ ($p < 0,05$) и $3,75 \pm 1,28$ ($p < 0,01$) актов соответственно, что было ниже, чем у интактных крыс, но выше, чем у крыс из контрольной группы ($p > 0,05$). Количество вертикализаций у животных из группы положительного контроля статистически значимо снижалось и составило $15,13 \pm 3,23$ против $24 \pm 8,82$ в группе положительного контроля ($p < 0,01$). У животных из группы ацетилцистеина, адеметионина и таурина среднее количество вертикализаций составило $6,75 \pm 3,92$ ($p < 0,001$), $14,38 \pm 5,37$ ($p < 0,01$) и $11,88 \pm 3,64$ ($p < 0,001$) соответственно. При этом количество вертикализаций у животных из группы ацетилцистеина было статистически значимо ниже показателя у животных из группы положительного контроля и группы адеметионина ($p < 0,05$ в обоих случаях).

Таким образом, введение адеметионина и таурина повышало исследовательскую активность крыс в постинтоксикационном состоянии, но эффект не был статистически значимым, а ацетилцистеин снижал количество вертикализаций, таким образом усугубляя этот поведенческий компонент.

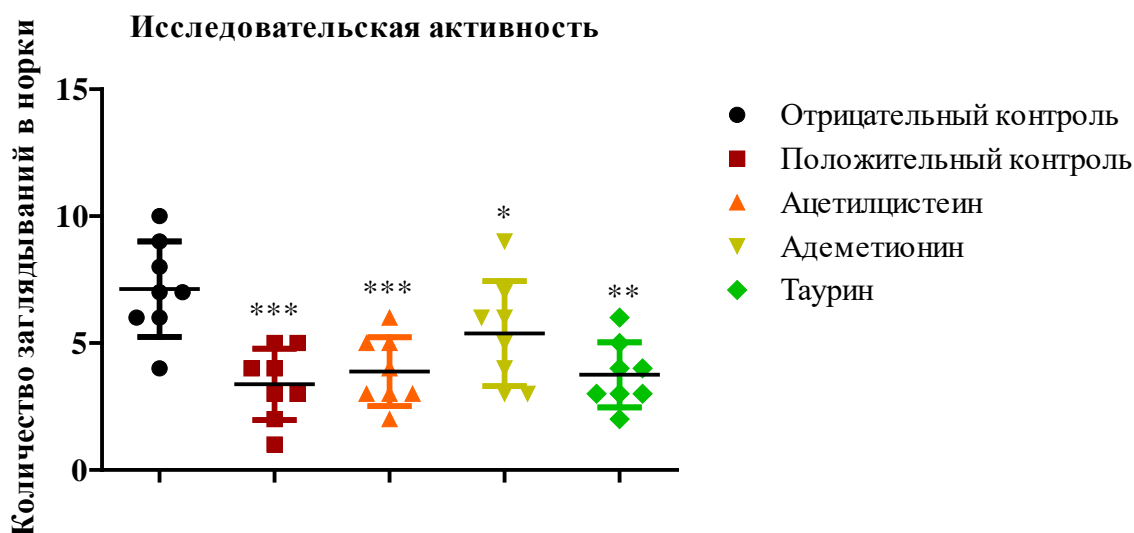


Рисунок 4. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество заглядываний в норки в тесте «открытое поле» у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: АЦЦ – ацетилцистеин; * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

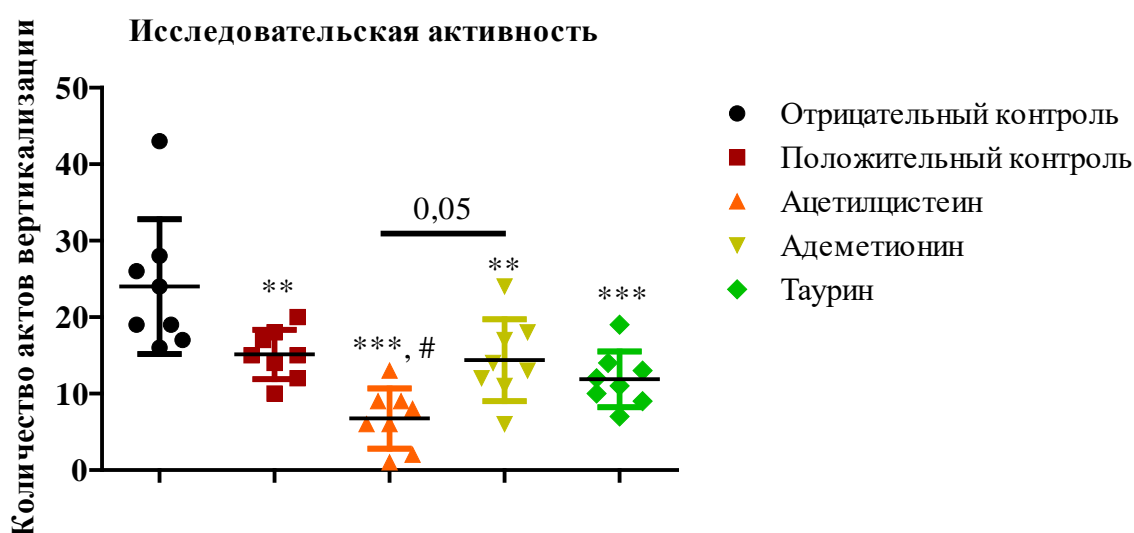


Рисунок 5. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество вертикализаций в тесте «открытое поле» у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

На Рисунке 6 представлены результаты оценки тревожности. Среднее время, проведенное в центре установки «открытое поле» в группах отрицательного и положительного контроля составили $9,33 \pm 5,05$ и $3,17 \pm 1,17$ с ($p < 0,01$). В группах ацетилцистеина, адеметионина и таурина этот показатель составил $4,83 \pm 2,71$, $10,67 \pm 3,33$ и $2,5 \pm 1,05$ с соответственно. Показатель у животных в группе адеметионина статистически значимо не отличался от показателя у животных из группы отрицательного контроля и был статистически значимо ($p < 0,01$) выше у животных из групп положительного контроля, ацетилцистеина и таурина. Таким образом, адеметионин оказывал выраженное анксиолитическое действие в условиях описанного эксперимента.

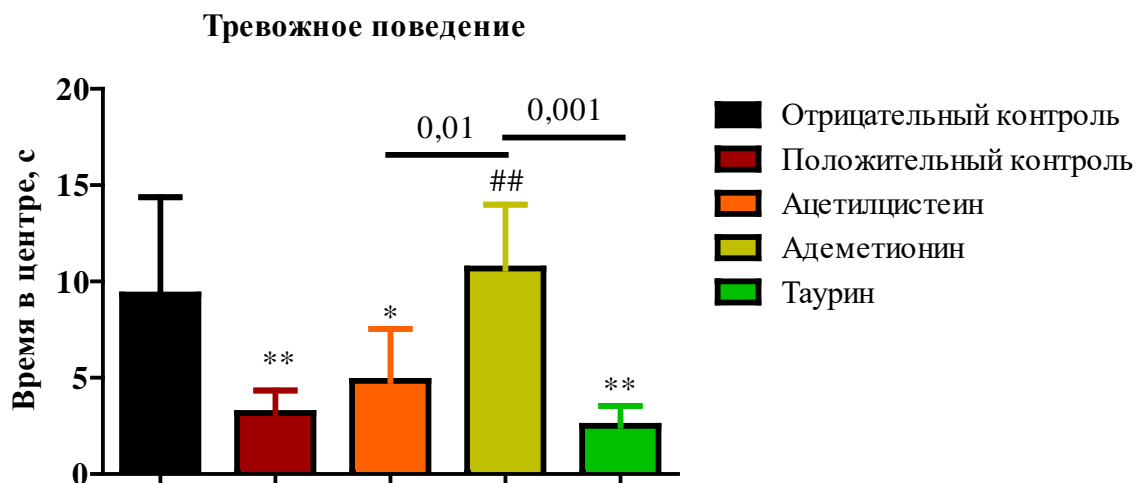


Рисунок 6. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на время, проведенное в центре установки «открытое поле» у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; ## – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; сравниваемые группы обозначены горизонтальной линией; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

Приподнятый крестообразный лабиринт

Для оценки тревожности также использовали установку «приподнятый крестообразный лабиринт», в качестве критерия тревожности использовали время, проведенное в темном рукаве установки (Рисунок 7). Животные из группы отрицательного и положительного контроля в среднем провели $87,5 \pm 22,65$ и $149,3 \pm 19,68$ с соответственно в темном отсеке лабиринта ($p < 0,001$). У животных из групп ацетилцистеина, адеметионина и таурина показатели не отличались статистически значимо от показателя у животных из группы отрицательного контроля и составили $114 \pm 33,83$, $102,6 \pm 37,61$ и $91 \pm 16,75$ с соответственно ($p < 0,05$ во всех случаях при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля).

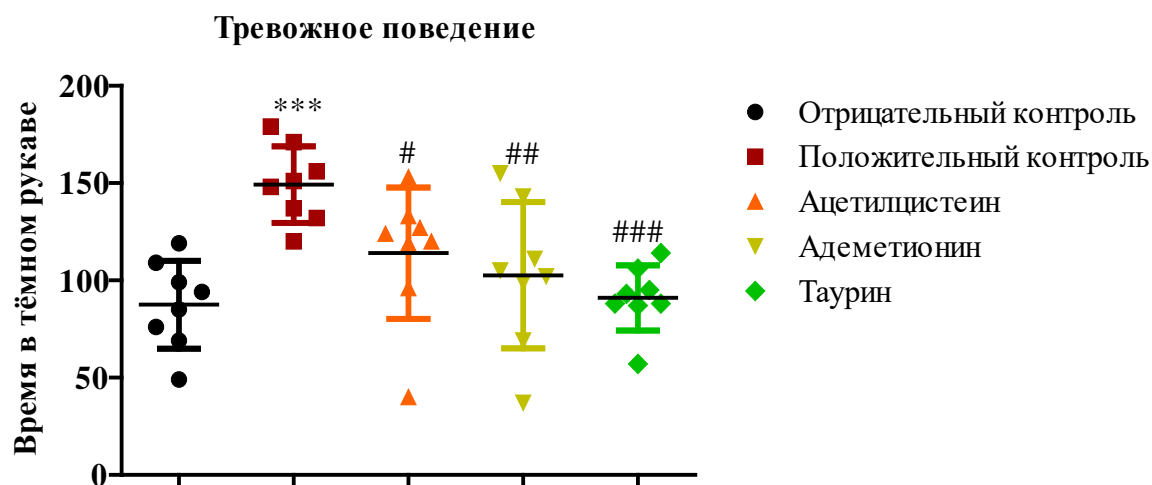


Рисунок 7. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на время нахождения в темном отсеке установки «приподнятый крестообразный лабиринт» у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ## – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; ### – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Применение адеметионина, таурина и ацетилцистеина у крыс, перенесших острую алкогольную интоксикацию, частично корректировало поведенческие нарушения. Наиболее выраженный эффект оказал адеметионин, повышая средний балл Combs and D'Alecy на 40% относительно показателя в группе положительного контроля (против 33% в группе таурина и 27% в группе ацетилцистеина). Двигательная активность в тесте «открытое поле» среди алкоголизированных животных также была наиболее высокой в группе адеметионина (прирост 37% относительно показателя у нелеченых животных против 27% в группе ацетилцистеина и 25% в группе таурина). Важно отметить, что показатели исследовательской активности оказались противоречивыми: введение адеметионина, ацетилцистеина и таурина увеличивало количество заглядываний в норки на 59, 15 и 11% соответственно. При этом количество вертикализаций у животных из групп лечения было ниже, чем у животных из обеих контрольных групп. Предположительно, это связано с большим объемом внутрижелудочного введения. Введение всех трех исследуемых лекарственных средств подавляло тревожное поведение, приближая время, проведенное в темном отсеке приподнятого крестообразного лабиринта к уровням интактных животных.

3.2 Результаты оценки зоосоциального взаимодействия

Итоговые результаты оценки зоосоциального поведения обобщены в Таблице 5.

Таблица 5.

Результаты измерения показателей поведения, отражающих неврологический дефицит и нарушение зоосоциального взаимодействия

Компонент поведения	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Ацетилцистеин	Адеметионин	Таурин
Тревожность	Количество актов замиранья				
	13,75 ± 2,964	22,50 ± 5,210	6,375 ± 3,159 (-	12,75 ± 9,588	10,38 ± 7,110 (-

Компонент поведения	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Ацетилцистеин	Адеметионин	Таурин
		(+63,64%)**	53,64%)###	(-7,27%)##	24,51%)##
	Количество актов короткого груминга				
	4,375 ± 2,066	7,875 ± 4,190 (+80%)	2,625 ± 2,134 (-40%)*	3,875 ± 2,850 (-11,43%)	5,500 ± 4,928 (+25,71%)
Коммуникативность	Длительность следования, с				
	18,38 ± 3,752	8,046 ± 4,696 (-56,22%)*	9,548 ± 5,536 (-48,05%)	14,47 ± 7,715 (-21,27%)	11,06 ± 9,771 (-39,83%)
	Количество актов приближения спереди				
	11,50 ± 8,635	6,625 ± 2,825 (-42,39)	2,250 ± 1,753 (-80,43)**	5,375 ± 4,47 (-53,26)	5,375 ± 4,34 (-53,26)
	Количество актов обнюхивания спереди				
	17,88 ± 7,661	11,75 ± 3,412 (-34,28%)*	8,125 ± 4,051 (-54,56%)**	11,50 ± 4,243 (-35,68%)*	10,38 ± 3,503 (-41,95%)*
	Количество актов обнюхивания сбоку				
	7,875 ± 2,357	6,000 ± 1,604 (-23,81%)	6,875 ± 2,031 (-12,70%)	6,250 ± 3,196 (-20,63%)	9,250 ± 2,550 (+17,46%)
	Количество актов обнюхивания ануса				
	10,63 ± 6,391	6,375 ± 3,815 (-40,03%)	4,125 ± 1,458 (-61,19%)	5,750 ± 4,950 (-45,91%)	6,625 ± 4,838 (-37,68%)
	Количество актов обнюхивания хвоста				
	10,38 ± 8,535	10,13 ± 4,998 (-2,41%)	4,250 ± 3,370 (-59,06%)	7,625 ± 4,470 (-26,54%)	6,750 ± 3,576 (-34,97%)
	Количество актов аллогруминга				

Компонент поведения	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Ацетилцистеин	Адеметионин	Таурин
	1,000 ± 0,5345	0,3750 ± 0,7440 (-62,5%)	0,8750 ± 0,8345 (-12,5%)	0,6250 ± 0,7440 (-37,5%)	0,6250 ± 0,9161 (-37,5%)
	Количество актов аутогруминга				
	3,750 ± 2,493	1,750 ± 1,389 (-53,33%)	3,875 ± 2,031 (+3,33%)	3,250 ± 1,982 (-13,33%)	5,250 ± 5,392 (+40%)
Негативность	Количество актов избегания				
	2,500 ± 1,195	4,125 ± 1,553 (+65%)*	1,250 ± 1,035 (-50%)###	3,250 ± 1,488 (+30%)	2,250 ± 1,165 (-10%)#
Исследовательское поведение	Количество вертикальных стоек у стенки				
	28,50 ± 6,655	27,63 ± 9,211 (-3,05%)	17,13 ± 7,180 (-39,89%)	23,38 ± 8,959 (-17,96%)	24,63 ± 9,380 (-13,58%)
	Количество вертикальных стоек без опоры				
	27,00 ± 8,401	9,375 ± 4,749 (-65,28%)*	10,00 ± 8,089 (-62,96%)*	16,63 ± 9,724 (-38,41%)*	17,25 ± 8,172 (-36,11%)*
Агрессивность	Количество актов приближения сбоку				
	3,125 ± 1,808	1,125 ± 0,991 (-64%)	2,375 ± 1,685 (-24%)	2,375 ± 1,598 (-24%)	1,500 ± 1,309 (-52%)

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; ** – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; *** – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; # – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ## – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ### – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения (процентное снижение).

Результаты оценки тревожности

Количество актов замирания (Рисунок 8) у животных из группы отрицательного и положительного контроля составили $13,75 \pm 2,96$ и $22,5 \pm 5,21$ ($p < 0,01$) актов. У животных, которым после алкоголизации вводили ацетилцистеин, адеметионин или таурин, эти показатели составили $6,38 \pm 3,16$, $12,75 \pm 9,59$ и $10,38 \pm 7,11$ ($p < 0,01$ во всех случаях при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля) актов.

Количество актов короткого груминга у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $4,38 \pm 2,07$ и $7,88 \pm 4,19$ соответственно ($p > 0,05$). Таким образом, алкоголизация не оказывала статистически значимого влияния на количество актов короткого груминга. У животных из групп ацетилцистеина, адеметионина и таурина этот показатель составил $2,63 \pm 2,13$, $3,86 \pm 2,85$ и $5,5 \pm 4,93$ соответственно. Показатель у животных из группы ацетилцистеина был статистически значимо ниже, чем у животных из группы положительного контроля ($p < 0,05$). Поскольку оценка этого компонента поведения не прошла валидацию (отрицательный и положительный контроли не отличались), интерпретировать действие ацетилцистеина как анксиолитическое нельзя.

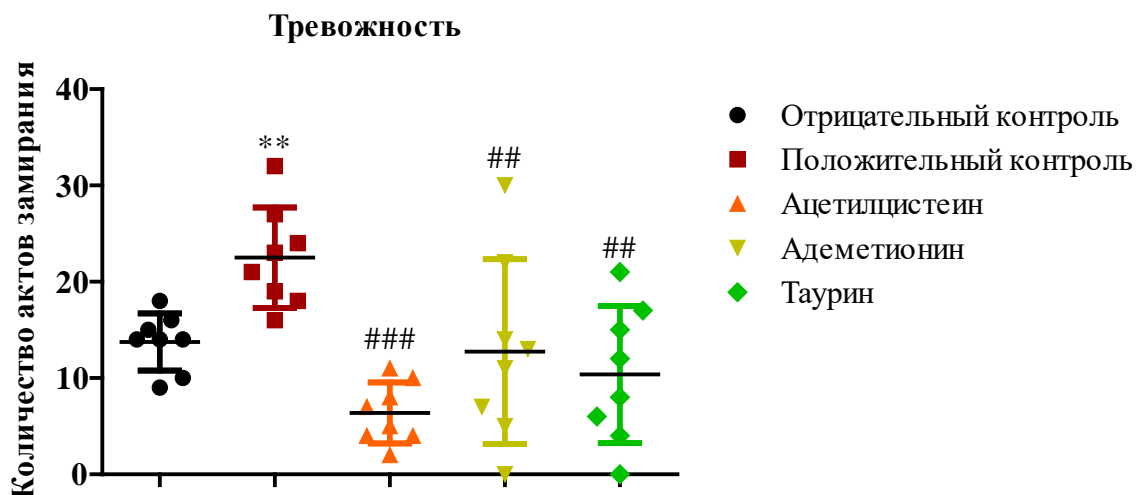


Рисунок 8. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов замирания при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; ## – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; ### – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

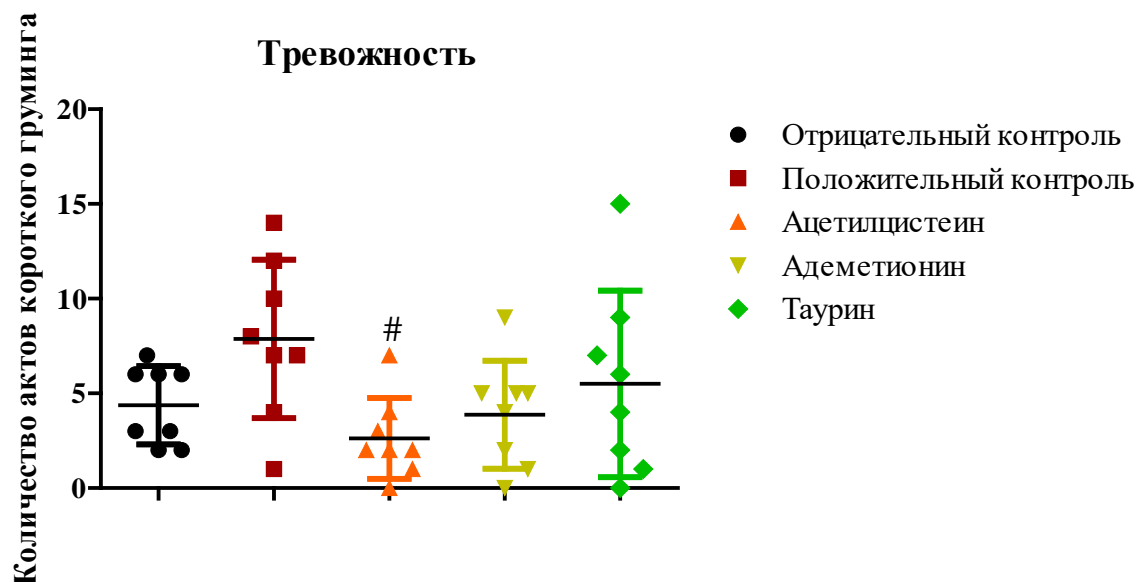


Рисунок 9. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов короткого груминга при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Результаты оценки коммуникативности

Средняя длительность следования за резидентом (Рисунок 10) у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $18,38 \pm 3,75$ и $8,05 \pm 4,7$ с соответственно ($p < 0,05$). Показатель у животных из группы ацетилцистеина, адеметионина и таурина статистически значимо не отличались от показателей у животных из контрольных групп и занимали промежуточные значения: $9,55 \pm 5,54$, $14,47 \pm 7,72$ и $11,06 \pm 9,77$ с соответственно.

Количество актов приближения спереди у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $11,5 \pm 8,64$ и $6,63 \pm 2,83$ соответственно ($p > 0,05$). Таким образом, алкоголизация не оказывала

существенного или статистически значимого влияния на приближение спереди. Показатель у животных из группы ацетилцистеина оказался еще ниже, чем у животных из группы положительного контроля, и составил $2,25 \pm 1,75$ ($p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля). При этом количество актов обнюхивания спереди как оценка тревожности прошла валидацию (Рисунок 12). Показатели у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $17,88 \pm 7,66$ и $11,75 \pm 3,41$ актов ($p < 0,05$). Показатели у животных из опытных групп были сопоставимы со средним показателем у животных из группы положительного контроля и составили $8,13 \pm 4,05$ ($p < 0,01$ при сравнении с интактными животными), $11,5 \pm 4,24$ и $10,38 \pm 3,5$ ($p < 0,05$ при сравнении с интактными животными в обоих случаях) актов для ацетилцистеина, адеметионина и таурина соответственно.

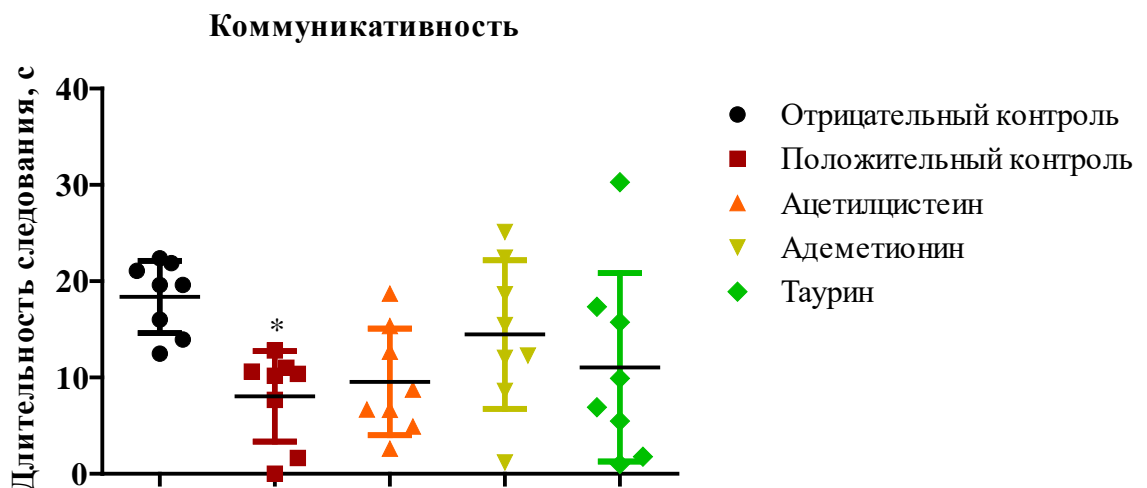


Рисунок 10. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на длительность следования при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

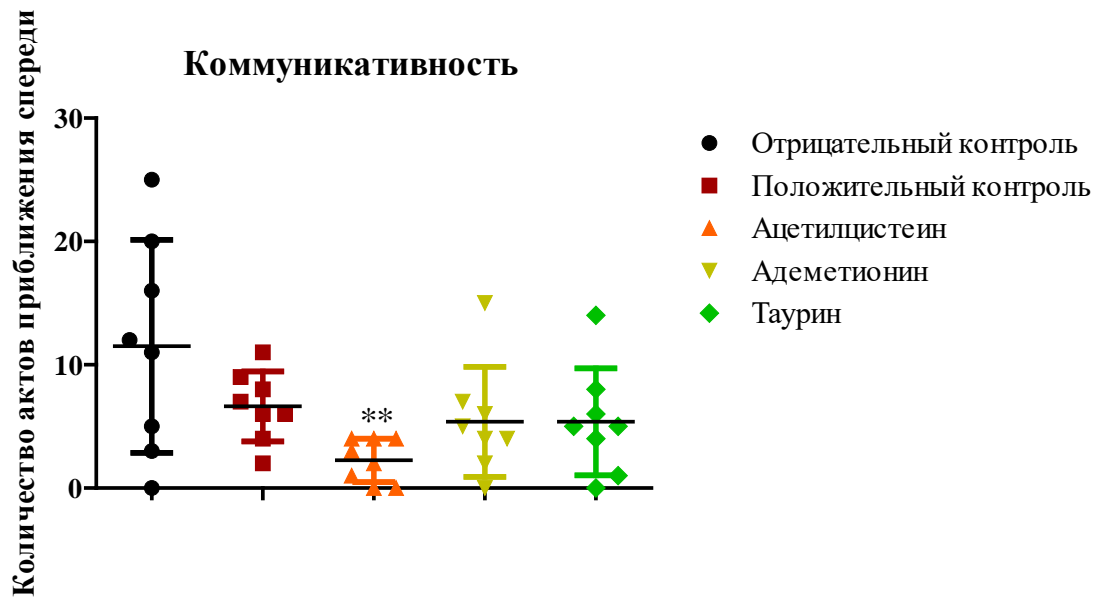


Рисунок 11. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов приближения спереди при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

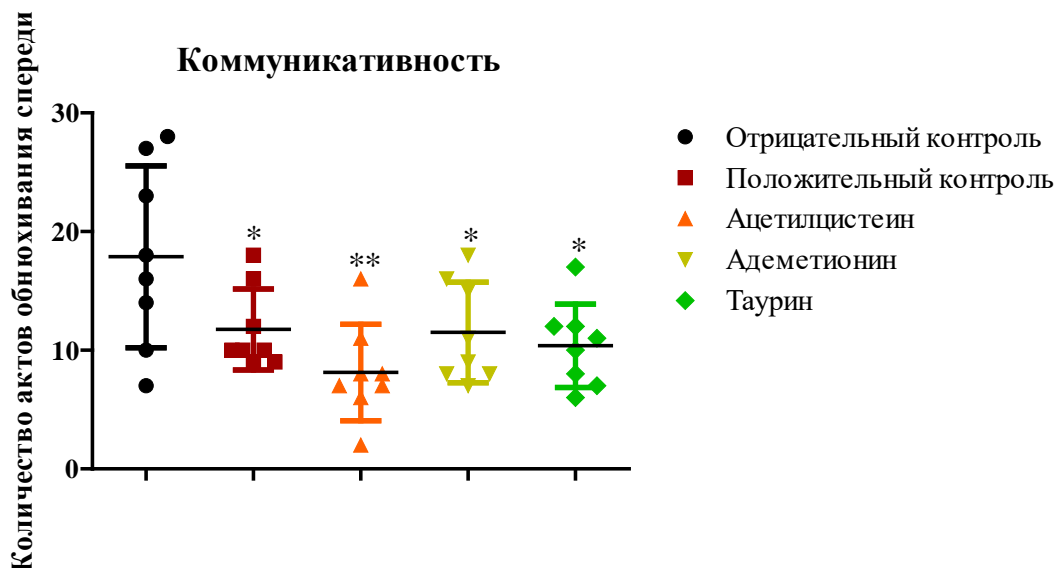


Рисунок 12. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов обнюхивания спереди при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Оценка количества актов обнюхивания ануса, хвоста, обнюхивания сбоку и количества алло- и аутогруминга не прошла валидацию (Рисунки 13–17).

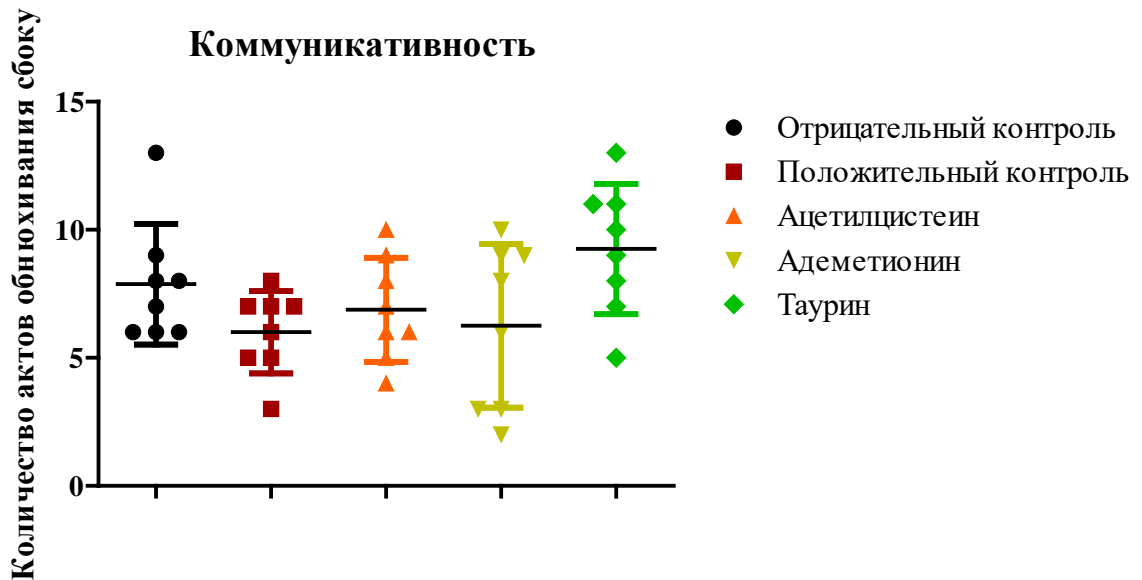


Рисунок 13. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов обнюхивания сбоку при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

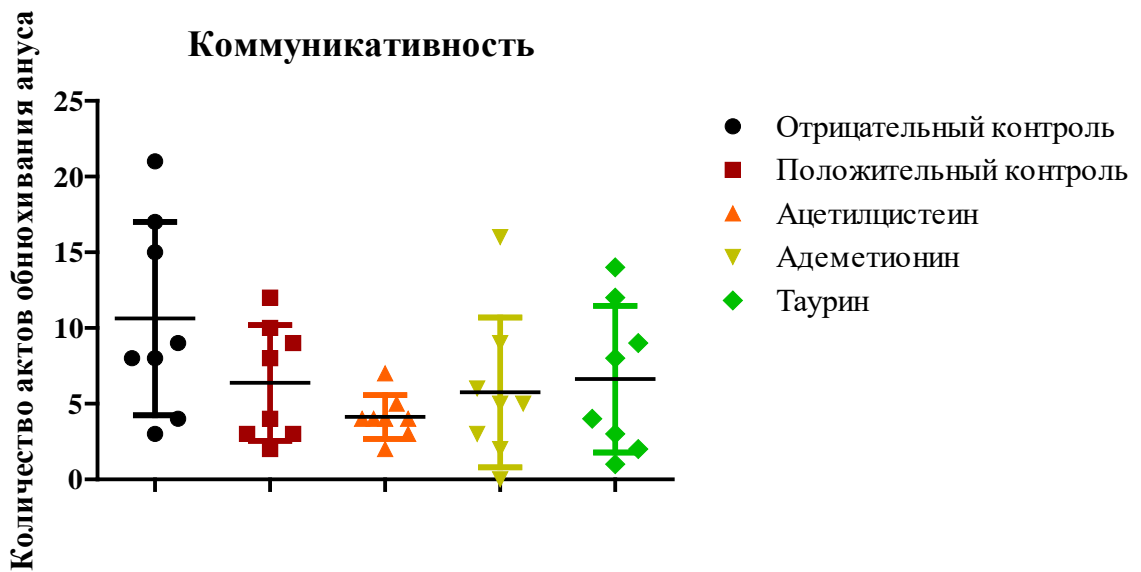


Рисунок 14. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов обнюхивания ануса при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

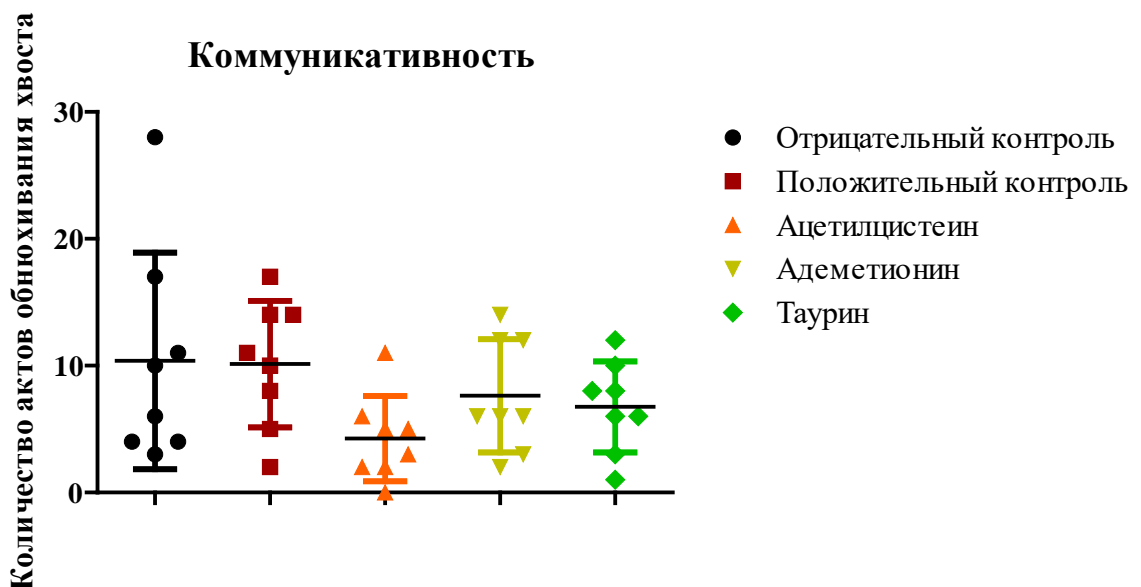


Рисунок 15. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов обнюхивания хвоста при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

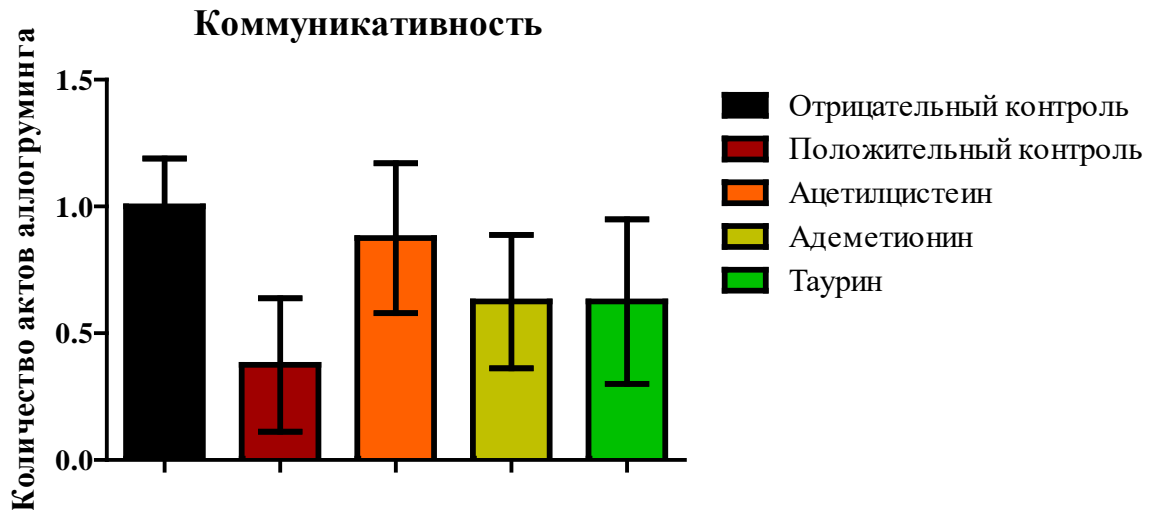


Рисунок 16. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов аллогруминга при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

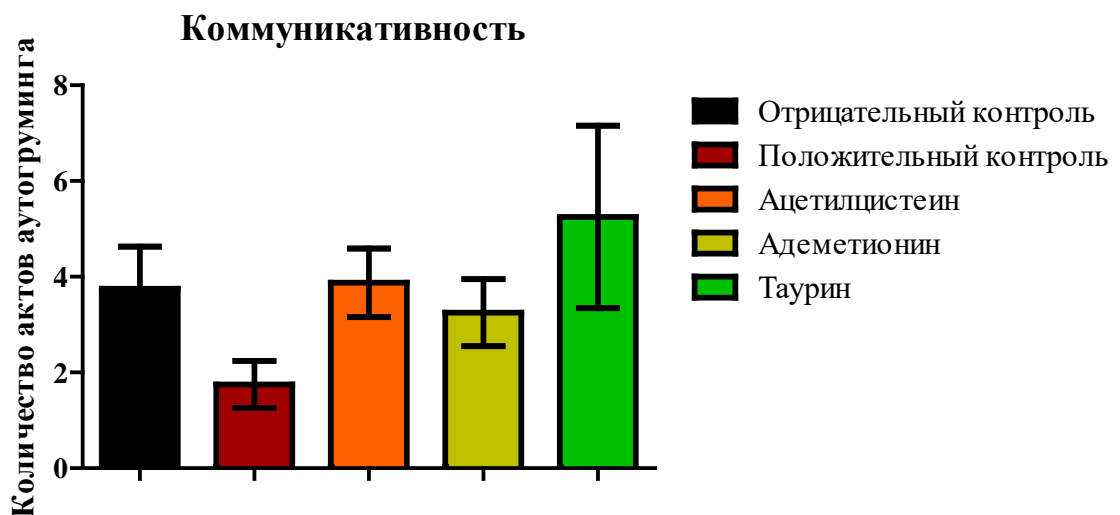


Рисунок 17. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов аутогруминга при

зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

Результаты оценки негативности поведения

Количество актов избегания, характеризующее негативность поведения (Рисунок 18) у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $2,5 \pm 1,2$ и $4,13 \pm 1,55$ актов ($p < 0,05$). У животных из группы ацетилцистеина показатель был ниже, чем у животных из групп контроля, и составил $1,25 \pm 1,04$ ($p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля). Показатель у животных из группы адеметионина занимал промежуточное положение между показателями у животных из обеих контрольных групп и не отличался статистически значимо ни от одного из них, составив $3,25 \pm 1,49$ актов ($p > 0,05$, но $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы ацетилцистеина). У животных, которым вводили таурин, средний показатель статистически значимо отличался от показателя у животных из группы положительного контроля ($p < 0,05$) и составил $2,25 \pm 1,17$ актов.

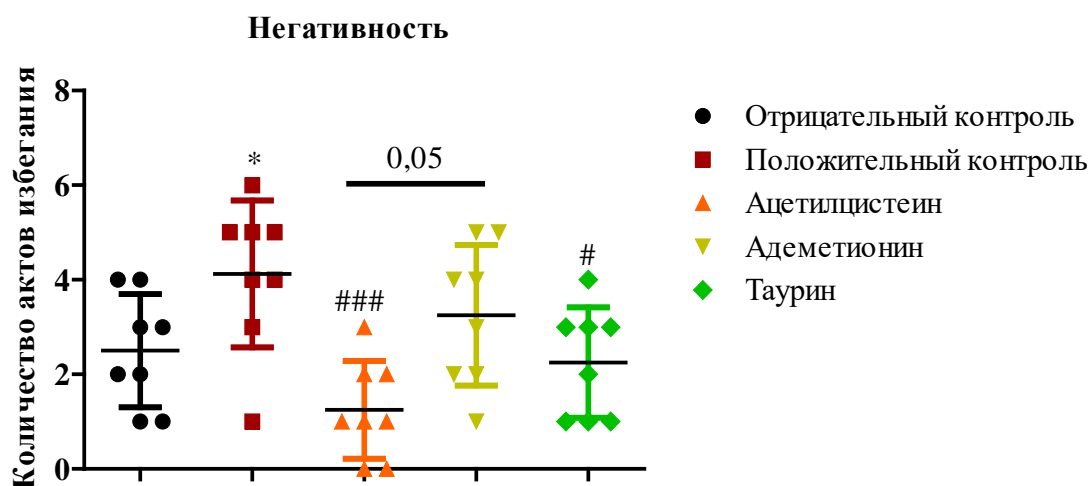


Рисунок 18. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов избегания зоосоциального взаимодействия у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ### – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы позитивного контроля при $p < 0,001$; сравниваемые группы обозначены горизонтальной линией.

Результаты оценки исследовательской активности

Алкоголизация не влияла на количество стоек с опорой (Рисунок 19). Количество стоек без опоры у животных из групп отрицательного и положительного контроля составили $27 \pm 8,4$ и $9,38 \pm 4,75$ актов. У животных из групп ацетилцистеина, адеметионина и таурина показатели составили $10 \pm 8,09$ ($p < 0,001$ при сравнении с отрицательным контролем), $16,63 \pm 9,72$ и $17,25 \pm 8,17$ ($p < 0,05$ при сравнении с отрицательным контролем).

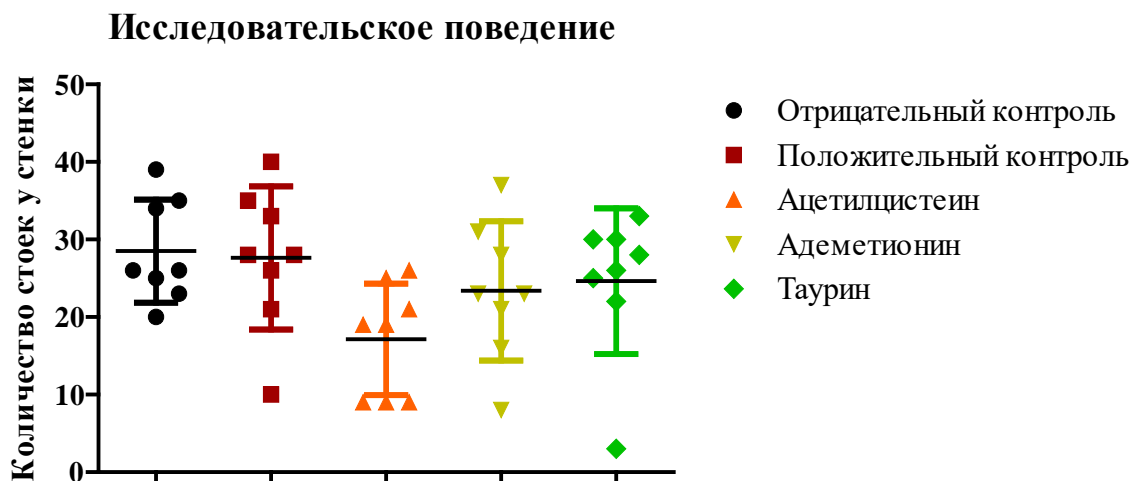


Рисунок 19. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество стоек с опорой при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

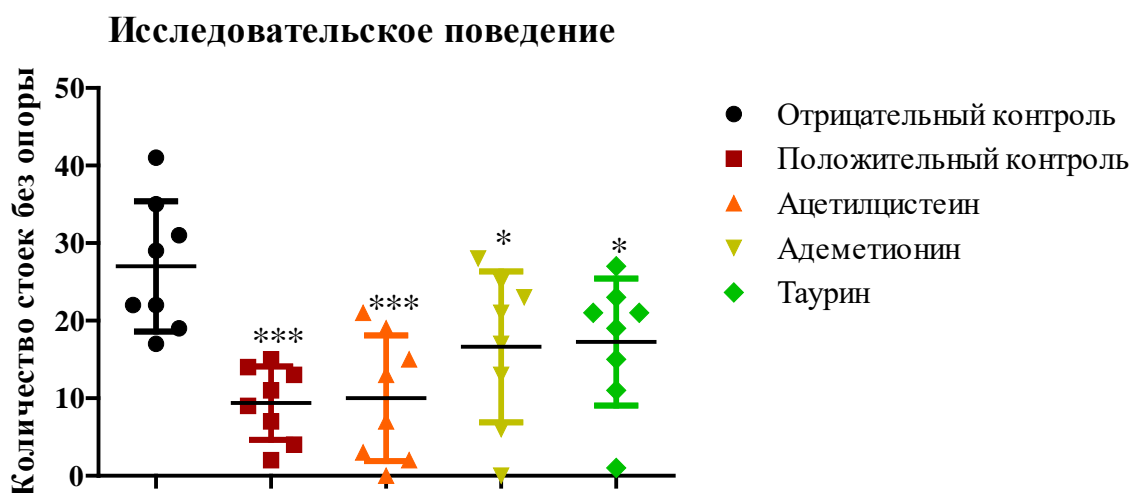


Рисунок 20. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество стоек без опоры при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Результаты оценки агрессивности

Алкоголизация не влияла на количество приближений сбоку (Рисунок 21). Таким образом, алкоголизация не влияла на агрессию при зоосоциальном взаимодействии.

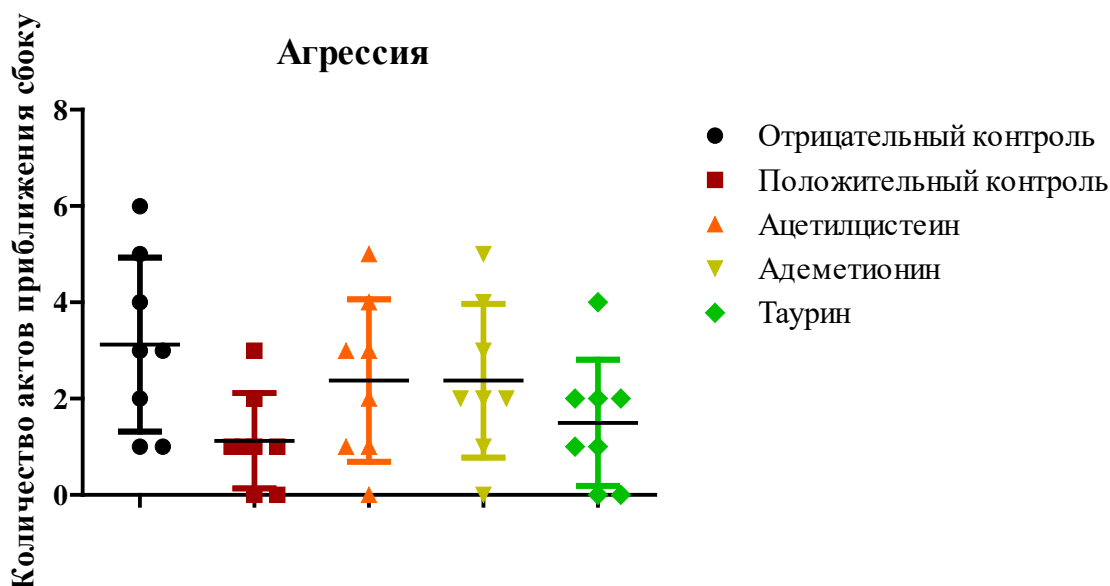


Рисунок 21. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество актов приближения сбоку при зоосоциальном взаимодействии у животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Среди показателей, оцениваемых в тесте зоосоциального поведения, валидацию прошли параметры, отражающие следующие компоненты поведения: тревожность (количество актов замиранья), коммуникативность (следование, обнюхивания спереди), негативность (количество актов избегания) и исследовательское поведение (стойки без опоры). Применение ацетилцистеина, адеметионина и таурина снижало количество актов замиранья на 72, 43 и 54% соответственно, при сравнении с показателем в группе положительного контроля. Длительность следования за резидентом увеличилась на 19, 80 и 38% соответственно. Количество актов обнюхивания снижалось во всех группах

лечения, но наибольшим было в группе ацетилцистеина. Таким образом, среди исследуемых соединений наиболее выраженным эффектом на коммуникативность обладал адеметионин, а ухудшал состояние ацетилцистеин, что предположительно связано с центральными эффектами адеметионина и таурина, которыми ацетилцистеин не обладает [127, 131, 160]. Ацетилцистеин существенно подавлял негативное поведение, снижая количество актов избегания на 70% (против 21 и 45% в группе адеметионина и таурина). Таурин наиболее выраженно усиливал исследовательский компонент поведения. Введение таурина, адеметионина и ацетилцистеина увеличивало количество вертикальных стоек без опоры на 84, 77 и 7% соответственно.

3.3 Биохимическая оценка механизма действия

Сводные результаты измерений биохимических показателей приведены в Таблице 6.

Таблица 6.

Результаты измерения основных биохимических показателей в плазме крови и гомогенатах печени, отражающих токсическое поражение печени и выраженность оксидантного стресса

Отрицательный контроль	Положительный контроль	Ацетилцистеин	Адеметионин	Таурин
Аспаратаминотрансфераза, Ед/л				
127,1 ± 13,4	166,9 ± 21,4 (+31,31%)*	140,6 ± 12,7 (+10,62%)#	152 ± 17,9 (+19,59%)*	148 ± 14 (+16,44%)
Аланинаминотрансфераза, Ед/л				
27,9 ± 5,1	44,9 ± 8,7 (+60,93%)*	33,75 ± 6,6 (+20,97%)*, #	30,1 ± 8,6 (+7,89%)##	28,5 ± 4,8 (+2,15%)###
Супероксиддисмутаза, Ед/мг белка				
48,8 ± 7,2	39,0 ± 7,5 (-20,08%)	45,8 ± 9 (-6,15%)	54,4 ± 8,1 (+11,48%)##	51,5 ± 7,6 (+5,53%)#
Глутатион, мг/г ткани				
118 ± 9,8	96,5 ± 8,8 (-18,22%)*	111,9 ± 11,2 (-5,17%)	106,8 ± 9,9 (-9,49%)#	107,1 ± 9,9 (-9,24%)
Малоновый диальдегид, нмоль/г ткани				

Отрицательный контроль	Положительный контроль	Ацетилцистеин	Адеметионин	Таурин
26 ± 5,2	32,4 ± 6,9 (+24,62%)	26,9 ± 3,5 (+3,46%)	25,8 ± 4,2 (-0,77%)	29 ± 6,1 (+11,54%)
Триглицериды, мг/г ткани				
23,9 ± 2,6	29,3 ± 2,3 (+22,59%)	25,4 ± 3,1 (+6,28%)	24,8 ± 5,6 (+3,77%)	23,1 ± 4,2 (-3,35%)#

Примечание: * – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; ** – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; *** – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля; # – $p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ## – $p < 0,01$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; ### – $p < 0,001$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения (процентное снижение).

Влияние на активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы

Уровни активности АСТ (Рисунок 22) и АЛТ (Рисунок 23) в плазме крови крыс из группы отрицательного контроля составили $127,1 \pm 13,4$ и $27,9 \pm 5,1$ Ед./л соответственно. У животных, которым вводили этанол без последующего лечения, эти показатели повысились статистически значимо ($p < 0,0001$), достигнув $166,9 \pm 21,4$ (+31,31%) и $44,9 \pm 8,7$ (+60,93%) ед./л соответственно, что может отражать гепатотоксические эффекты высоких доз этанола. Активность АСТ у животных из группы ацетилцистеина составила $140,6 \pm 12,7$ ед./л, что оказалось больше, чем у животных из группы отрицательного контроля ($p > 0,05$), и статистически значимо меньше, чем у животных из группы положительного контроля ($p < 0,05$). Введение адеметионина не оказало существенного влияния на активность АСТ и у животных соответствующей группы составило $152 \pm 17,9$ ед./л ($p < 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля и $p > 0,05$ при сравнении с показателем у животных из группы положительного контроля). У животных, которым таурин вводили после алкоголизации, активность АСТ составила 148 ± 14 ед./л. Этот показатель

статистически значимо не отличался от показателей у животных из обеих контрольных групп ($p > 0,05$ в обоих случаях).

У крыс, которым после пробуждения вводили ацетилцистеин, адеметионин или таурин, уровни активности АЛТ увеличивались, но были статистически значимо ниже, чем у животных из группы положительного контроля ($p < 0,05$), и составили $33,75 \pm 6,6$, $30,1 \pm 8,6$ и $28,5 \pm 4,8$ ед./л соответственно. При введении ацетилцистеина отмечали статистически значимое ($p < 0,001$) повышение активности АЛТ относительно показателя у животных из группы отрицательного контроля.

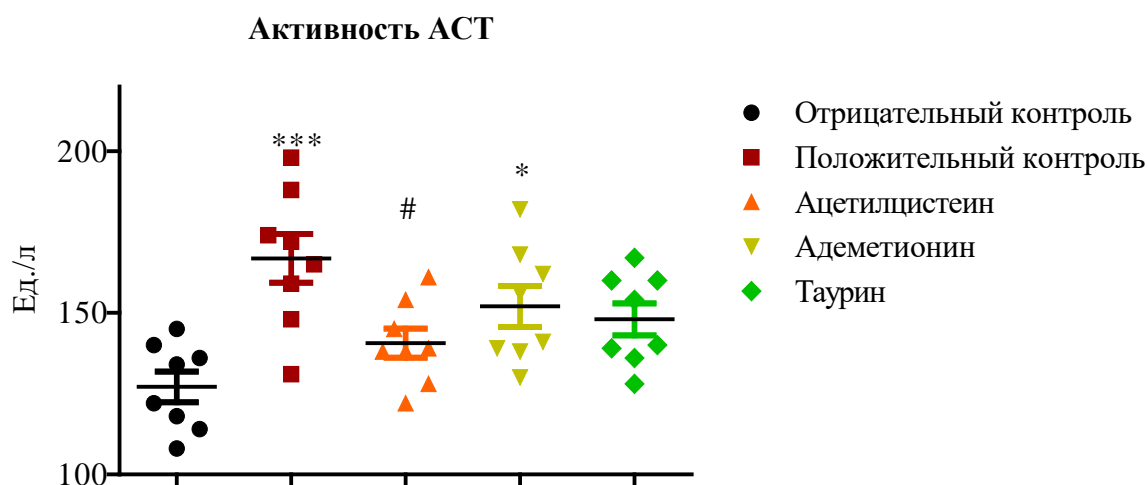


Рисунок 22. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на активность аспартатаминотрансферазы в плазме крови животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: * – статистически значимое отличие при сравнении с показателем в группе отрицательного контроля при $p < 0,05$; *** – статистически значимое отличие при сравнении с показателем в группе отрицательного контроля при $p < 0,001$; # – статистически значимое отличие при сравнении с показателем в группе положительного контроля при $p < 0,05$; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

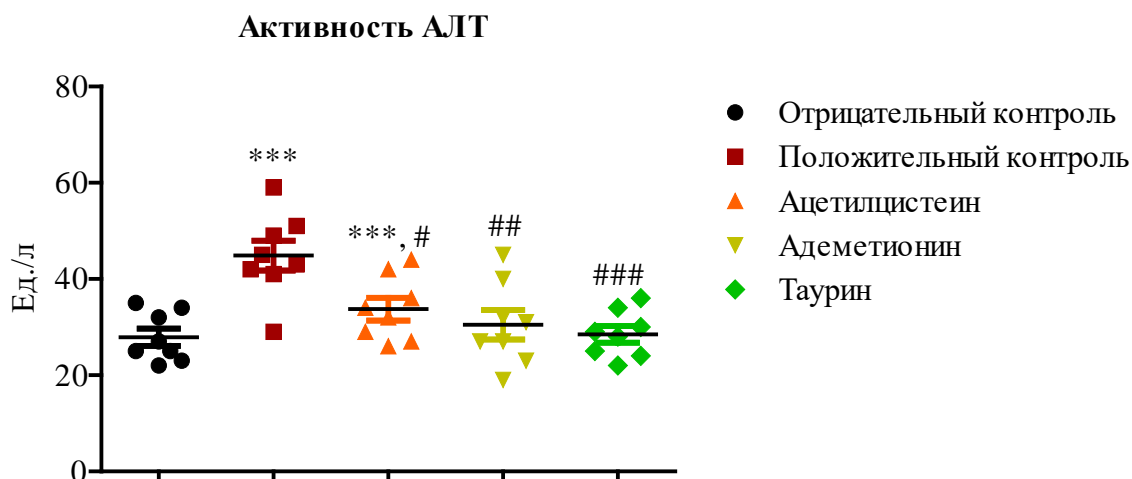


Рисунок 23. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на активность аланинаминотрансферазы в плазме крови животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,001$; # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ### – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Влияние на концентрацию супероксиддисмутазы, глутатиона и малонового диальдегида

У крыс, которым вводили этанол и физиологический раствор, активность СОД (Рисунок 24) и содержание глутатиона (Рисунок 25) в гомогенатах печени достигли соответственно $39,0 \pm 7,5$ ед./мг белка (против $48,8 \pm 7,2$ ед./мг белка у интактных животных; $p > 0,05$) и $96,5 \pm 8,8$ мг/г ткани (против $118 \pm 9,8$ ед./мг ткани у интактных животных; $p < 0,01$).

У животных, которым вводили ацетилцистеин, адеметионин и таурин, активность СОД составила $45,8 \pm 9$, $54,4 \pm 8,1$ и $51,5 \pm 7,6$ ед./л соответственно. Таким образом, при введении адеметионина и таурина наблюдали существенное и статистически значимое увеличение активности СОД на 11,48 и 5,53% соответственно относительно показателя у интактных животных. Активность

СОД у животных из групп адеметионина и таурина была статистически значимо выше, чем у животных из группы отрицательного контроля ($p < 0,05$ в обоих случаях).

У животных, которым вводили ацетилцистеин, адеметионин и таурин, содержание глутатиона в гомогенатах печени составило $111,9 \pm 11,2$, $106,8 \pm 9,9$ и $107,1 \pm 9,9$ мг/г. При этом, наиболее выраженное снижение отмечали у животных из группы адеметионина ($-9,49\%$, $p < 0,05$ при сравнении с группой положительного контроля), а наименьшее – у животных из группы адеметионина ($-5,17\%$, $p > 0,05$ при сравнении с группами положительного и отрицательного контроля).

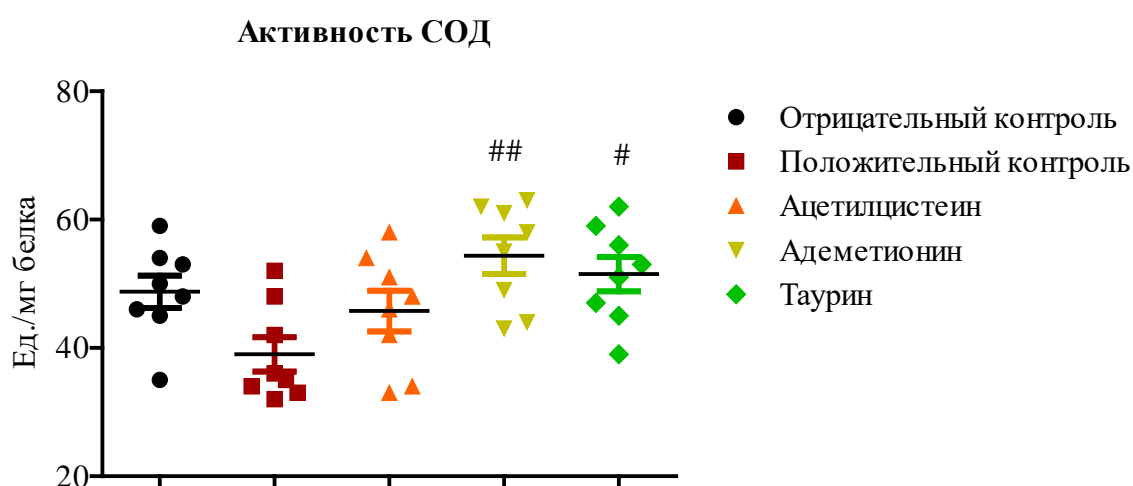


Рисунок 24. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на активность супероксиддисмутазы в гомогенатах печени животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ## – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

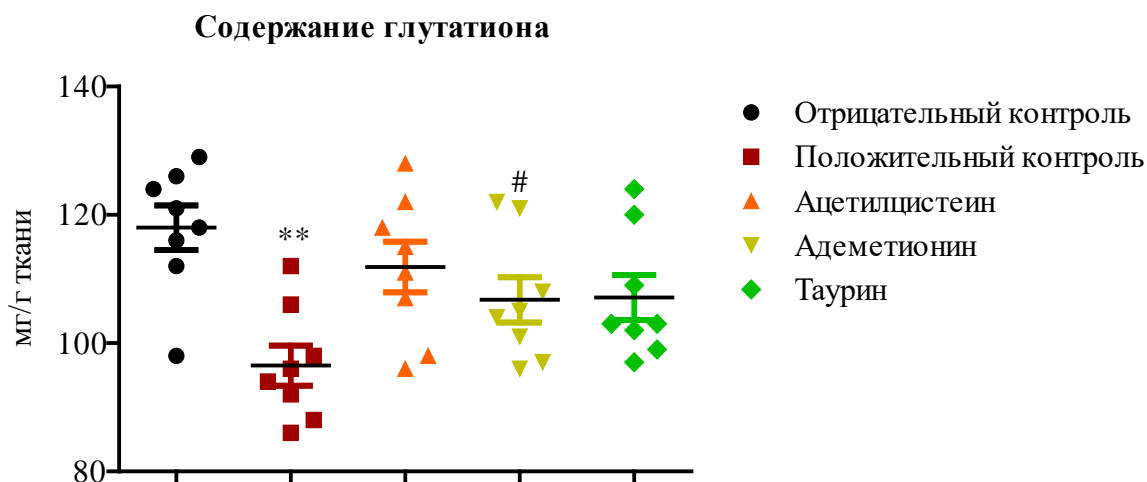


Рисунок 25. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество глутатиона в гомогенатах печени животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Содержание МДА (Рисунок 26) в гомогенатах печени, напротив, повышалось до $32,4 \pm 6,9$ нмоль/г ткани против $26 \pm 5,2$ нмоль/г ткани у интактных животных, но это отличие не было статистически значимым. Количество МДА у животных из группы адеметионина немного снизилось относительно показателя у животных из группы отрицательного контроля (-0,77%). Введение ацетилцистеина также препятствовало образованию МДА. У этих животных его количество увеличилось всего на 3,46% относительно интактных значений.

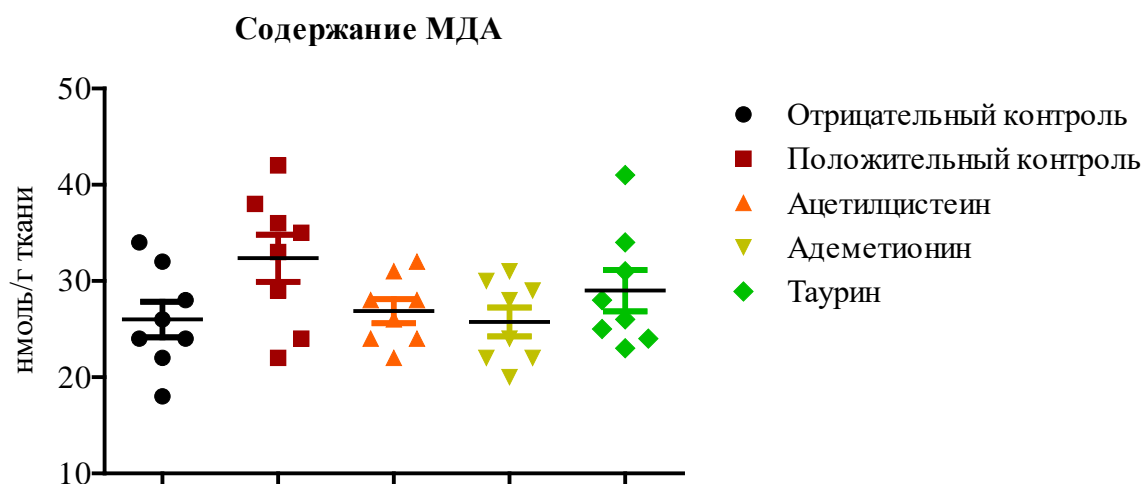


Рисунок 26. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на количество малонового диальдегида в гомогенатах печени животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Влияние на концентрацию триглицеридов

Наряду с повышением активности трансаминаз в плазме крови признаки токсического поражения печени могут включать ее дистрофические изменения, проявляющиеся образованием жировых капель в гепатоцитах или увеличением содержания ТГ в ткани печени [53, 162]. У крыс из группы положительного контроля содержание ТГ в гомогенатах печени превышало показатель, зарегистрированный у фармакологически интактных животных ($29,3 \pm 2,3$ против $23,9 \pm 2,6$ мг/г ткани; $p > 0,05$). У животных, которым после пробуждения вводили ацетилцистеин, адеметионин или таурин, содержание ТГ в гомогенатах печени достигло $25,4 \pm 3,1$, $24,8 \pm 5,6$ и $23,1 \pm 4,2$ мг/г ткани соответственно, что не статистически значимо отличалось от показателя, полученного у фармакологически интактных крыс ($p > 0,05$), но в группе таурина было статистически значимо меньше, чем у крыс из группы положительного контроля ($p < 0,05$; Рисунок 27).

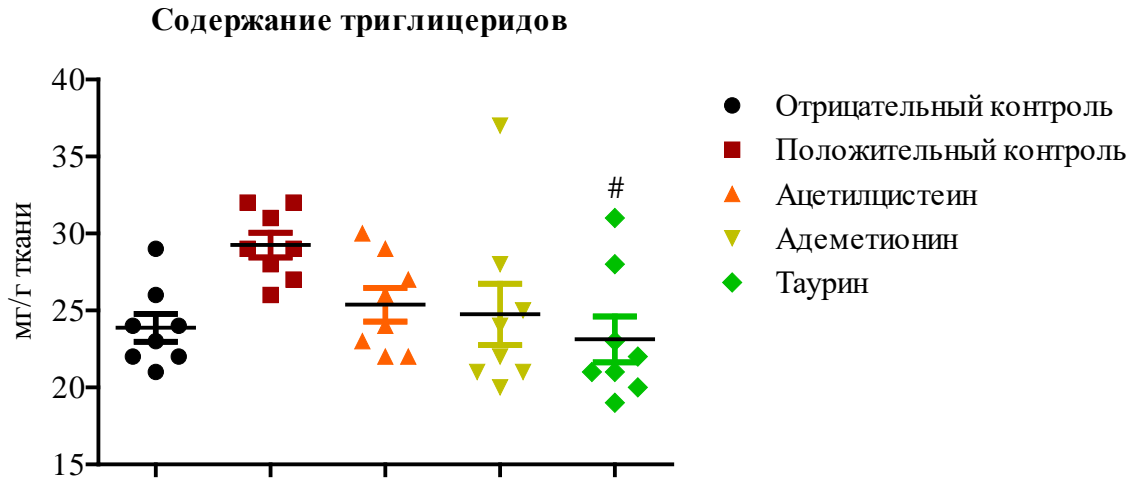


Рисунок 27. Влияние применения ацетилцистеина, адеметионина и таурина в постинтоксикационной фазе на содержание триглицеридов в гомогенатах печени животных, перенесших алкогольную интоксикацию

Примечание: # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; данные представлены в виде индивидуальных значений, медианы и стандартного отклонения.

Описанные изменения в активности трансаминаз в плазме крови и содержании ТГ в гомогенатах печени позволяют заключить, что ацетилцистеин, адеметионин и в особенности таурин способны предотвращать развитие токсических повреждений печени, вызванных у крыс однократным внутрибрюшинным введением этанола и проявляющихся повышением количества ТГ.

У животных, которым вводили этанол без последующего применения лекарственных средств, при сравнении с интактными животными, выявляли биохимические признаки интоксикации и оксидативного стресса: увеличение активности АСТ и АЛТ на 31 и 61% соответственно, снижение активности СОД на 20%, увеличение количества МДА и ТГ на 25 и 23% соответственно, а также снижение количества глутатиона на 18%. Эти изменения сопровождались поведенческими нарушениями, отражающими нарушения высшей нервной деятельности. Так, двигательная и исследовательская активности снизились в

постинтоксикационном периоде на 58 и 37–53% соответственно. Также обнаружили выраженный неврологический дефицит – снижение среднего балла по шкале Combs and D'Alecy составило 37,74%. Все названные изменения имели уровень статистической значимости при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля $< 0,05$. Существенное и статистически значимое влияние острой алкоголизации на биохимические показатели было обнаружено только для показателей АСТ и концентрации глутатиона. При этом наиболее выраженное положительное влияние на эти параметры оказывал ацетилцистеин, снижая активность АСТ на 16% и увеличивая запасы глутатиона на 16% относительно показателей в группе положительного контроля. Адеметионин и таурин снижали активность АСТ на 9 и 11% соответственно. Оба лекарственных средства оказали явное положительное влияние на восстановление запасов глутатиона, увеличив их на 11% в обоих случаях. Таким образом, истощение запасов глутатиона (-18% при алкоголизации против показателя у здоровых животных) являлось фактором гепатотоксичности, проявлявшегося в коротком промежутке исследования в виде повышения активности АСТ (31% при алкоголизации против показателя у здоровых животных).

Подавление психоневрологических изменений у животных после острой алкоголизации совпало с увеличением количества запасов глутатиона в печени.

3.4 Заключение

- Смоделировано постинтоксикационное состояние у крыс, вызванное внутрибрюшинным введением этанола в дозе 3 г/кг. У животных, которым вводили этанол без последующего применения лекарственных средств, при сравнении с интактными животными, выявляли биохимические признаки интоксикации и оксидативного стресса: увеличение активности АСТ и АЛТ на 31 и 61% соответственно, снижение активности СОД на 20%, увеличение количества МДА и ТГ на 25 и 23% соответственно, а также снижение количества глутатиона на 18%. Эти изменения сопровождались поведенческими нарушениями,

отражающими нарушения высшей нервной деятельности. Так, двигательная и исследовательская активности снизились в постинтоксикационном периоде на 58 и 37–53% соответственно. Также обнаружили выраженный неврологический дефицит – снижение среднего балла по шкале Combs and D'Alecy составило 37,74%. Все названные изменения имели уровень статистической значимости, при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля $p < 0,05$. Наличие данных проявлений в группе контроля позволяет заключить, что выбранная методика моделирования постинтоксикационного состояния валидна.

- Среди показателей, оцениваемых в тесте зоосоциального поведения, валидацию прошли параметры, отражающие следующие компоненты поведения: тревожность, коммуникативность, негативность и исследовательское поведение.

- Применение ацетилцистеина, адеметионина и таурина у крыс, перенесших острую алкогольную интоксикацию, частично корректирует поведенческие нарушения. Наиболее выраженный эффект оказал адеметионин, повышая средний балл Combs and D'Alecy на 40% относительно показателя в группе положительного контроля (против 33% в группе таурина и 27% в группе ацетилцистеина). Двигательная активность в тесте «открытое поле» среди алкоголизованных животных также была наиболее высокой в группе адметионина (прирост 37% относительно показателя у нелеченых животных против 27% в группе ацетилцистеина и 25% в группе таурина). Показатели исследовательской активности оказались противоречивыми: введение адеметионина, ацетилцистеина и таурина увеличивало количество заглядываний в норки на 59, 15 и 11% соответственно. Введение всех трех исследуемых лекарственных средств подавляло тревожное поведение, приближая время, проведенное животным в темном отсеке приподнятого крестообразного лабиринта к уровням интактных животных.

- Ацетилцистеин, адеметионин и таурин также оказали существенное влияние на патологический процесс в печени, вызванный острой интоксикацией. Существенное и статистически значимое влияние острой алкоголизации на

биохимические показатели было обнаружено только для показателей АСТ и концентрации глутатиона. При этом наиболее выраженное положительное влияние на эти параметры оказывал ацетилцистеин, снижая активность АСТ на 16% и увеличивая запасы глутатиона на 16% относительно показателей в группе положительного контроля. Адеметионин и таурин снижали активность АСТ на 9 и 11% соответственно. Оба лекарственных средства оказали явное положительное влияние на восстановление запасов глутатиона, увеличив их на 11% в обоих случаях. Таким образом, истощение запасов глутатиона (-18% при алкоголизации против показателя у здоровых животных) являлось фактором гепатотоксичности, проявлявшегося в коротком промежутке исследования в виде повышения активности АСТ (31% при алкоголизации против показателя у здоровых животных). Поскольку подавление психоневрологических изменений у животных после острой алкоголизации совпало с увеличением количества запасов глутатиона в печени, можно заключить, что механизм действия всех исследуемых лекарственных средств опосредован увеличением запасов глутатиона в печени. Полученные данные позволяют сделать вывод, что введение ацетилцистеина, адеметионина и таурина препятствовало развитию оксидативного стресса в ткани печени и накоплению в ней патологических субстратов.

ГЛАВА 4. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА *EX VIVO*

4.1 Биохимическая оценка механизма действия (острая алкоголизация)

Сводные данные о полученных в ходе *ex vivo* исследования представлены в Таблице 7.

Таблица 7.

Сводные данные, полученные в результате серии *ex vivo* экспериментов

Показатель	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Опыт
АСТ, Ед/л	148,3 ± 28,4	186,0 ± 44,92 (+25,42%)	140,8 ± 36,65 (-5,06%)
АЛТ, Ед/л	30,50 ± 6,38 ^{##}	52,00 ± 15,14 (+70,49%)	33,17 ± 4,36 (+8,75%) ^{##}
Триглицериды, мг/мл	20,67 ± 2,5	23,83 ± 2,79 (+15,29%)	20,83 ± 3,06 (+0,77%)
СОД, Ед/мкл	51,83 ± 4,07 [#]	39,17 ± 6,77 (-24,43%)	47,67 ± 10,63 (-8,03%)
Глутатион, мг/мл	100 ± 10,9	80,17 ± 7,86 (-19,83%)*	87,67 ± 9 (-12,33%)**
МДА, нмоль/мл	21 ± 4,24	28,33 ± 7,01 (+34,90%)	22,83 ± 3,43 (+8,71%)
Диеновые конъюгаты, мкмоль/мл	33,13 ± 1,56 [#]	36,35 ± 2,27 (+9,72%)	33,70 ± 1,99 (+1,72%) [#]

Примечание: АСТ – аспаратаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; СОД – супероксиддисмутаза; МДА – малоновый диальдегид; # – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ## – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; * – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения.

Влияние на активность аспаратаминотрансферазы

Не выявили статистически значимых отличий между показателями активности АСТ в перфузате печени крыс из групп положительного, отрицательно контроля и из опытной группы (Рисунок 28).

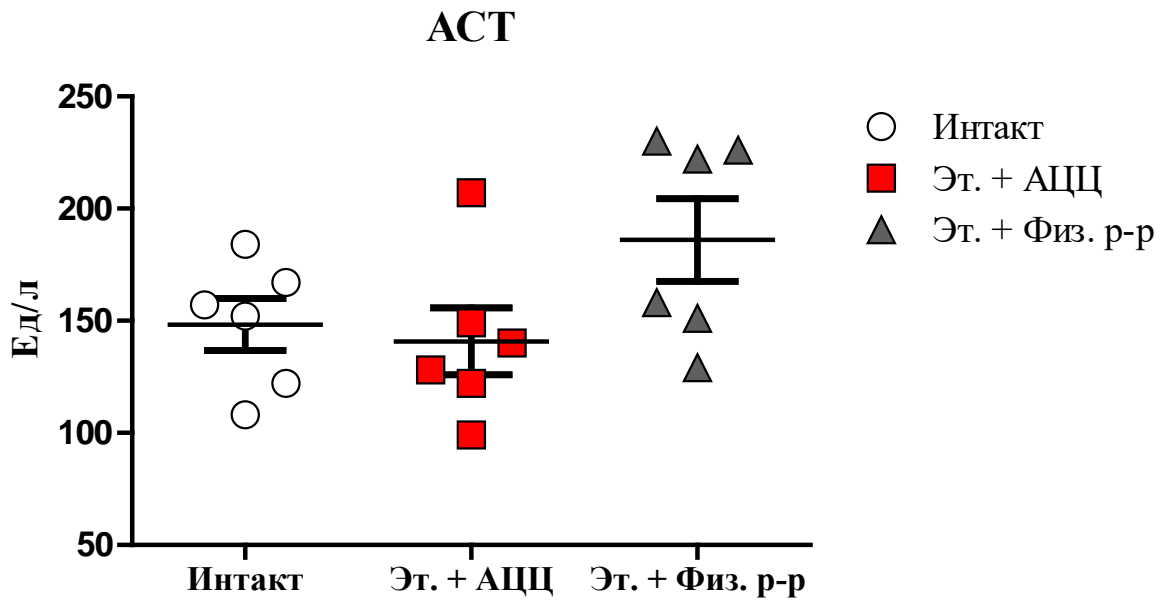


Рисунок 28. Активность аспаратаминотрансферазы в перфузате печени крыс

Примечание: Эт. – этанол; АЦЦ – ацетилцистеин; физ. р-р – физиологический раствор.

Влияние на активность аланинаминотрансферазы

Активность АЛТ у животных из группы положительного контроля ($52,00 \pm 15,14$ Ед/л) и у животных, которым после интоксикации вводили ацетилцистеин ($33,17 \pm 4,36$ Ед/л) оказалась статистически значимо ($p < 0,01$) ниже, чем у животных, которым после интоксикации вводили физиологический раствор ($30,50 \pm 6,38$, Рисунок 29).

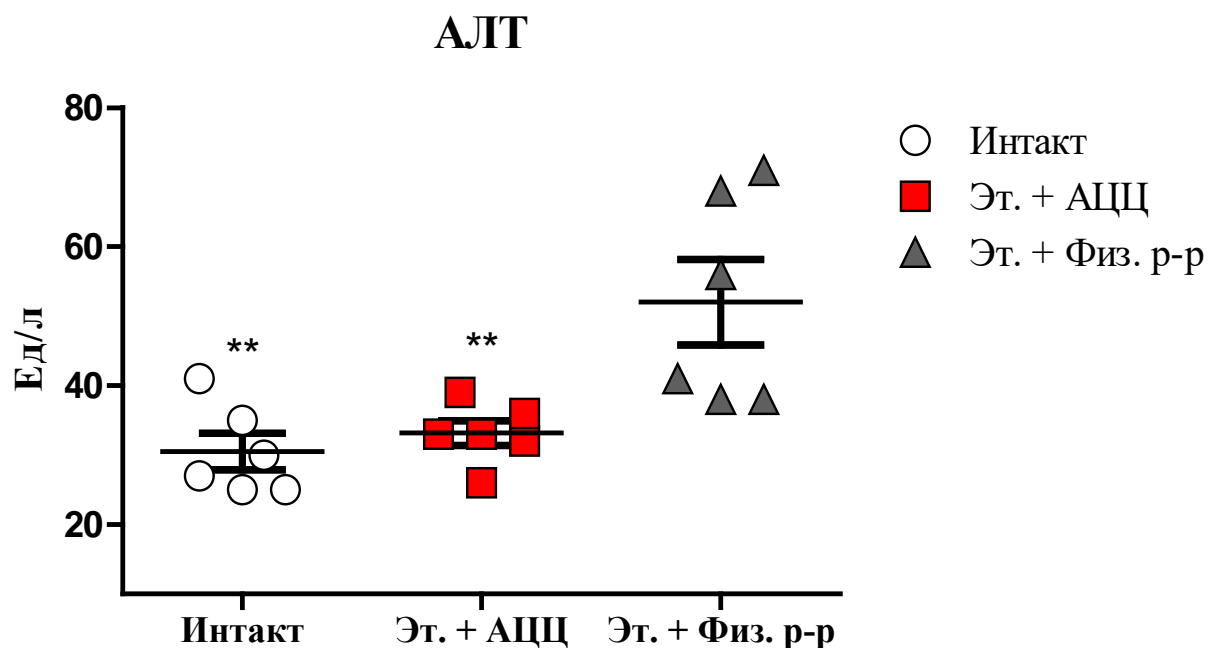


Рисунок 29. Активность аланинаминотрансферазы в перфузате печени крыс

Примечание: Эт. – этанол; АЦЦ – ацетилцистеин; физ. р-р – физиологический раствор; ** – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$.

Влияние на концентрацию триглицеридов

Не выявили статистически значимых отличий между показателями концентрации ТГ в перфузате печени крыс из групп положительного, отрицательно контроля и из опытной группы (Рисунок 30).

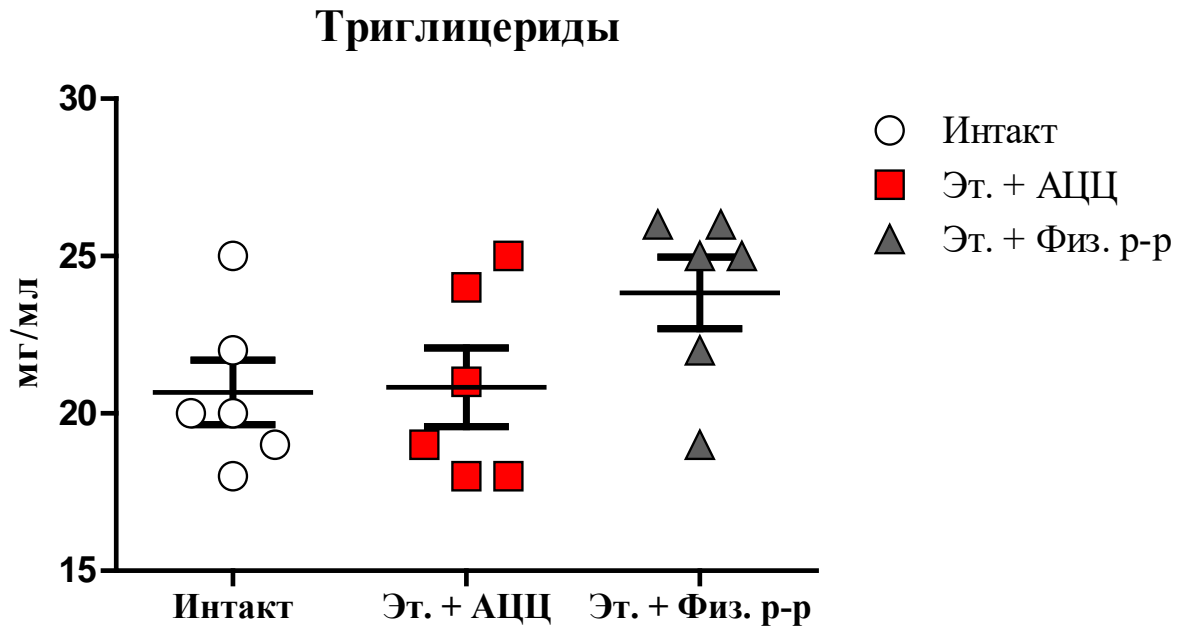


Рисунок 30. Концентрация триглицеридов в перфузате печени крыс

Примечание: Эт. – этанол; АЦЦ – ацетилцистеин; физ. р-р – физиологический раствор.

Влияние на активность супероксиддисмутазы

Обнаружили статистически значимое отличие показателей активности СОД у интактных животных при сравнении с показателями у животных, которым вводили этанол без лечения ($p < 0,05$). Показатель у животных, получавших ацетилцистеин статистически значимо не отличался от показателей у животных из групп положительного и отрицательного контроля (Рисунок 31).

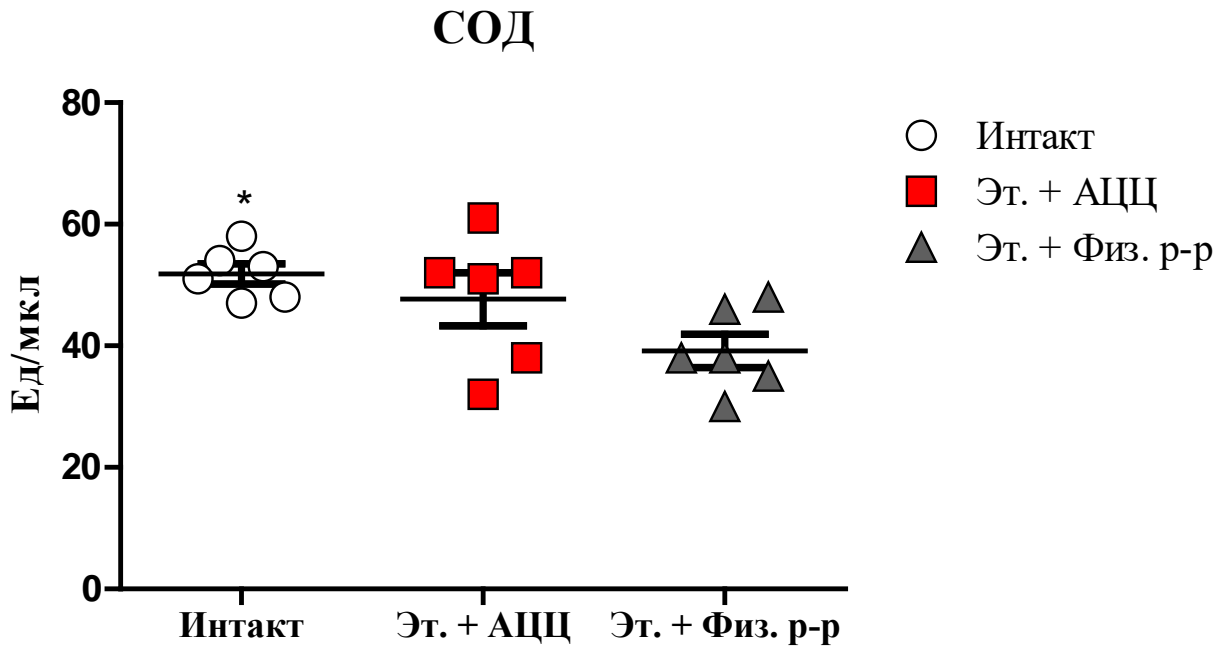


Рисунок 31. Активность супероксиддисмутазы в перфузате печени крыс

Примечание: Эт. – этанол; АЦЦ – ацетилцистеин; физ. р-р – физиологический раствор; * – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$.

Влияние на концентрацию глутатиона

Концентрация глутатиона в перфузате печени крыс, получавших только этанол без лечения, была статистически значимо ниже ($p < 0,01$), чем у животных из группы отрицательного контроля. Данный показатель также был статистически значимо ниже ($p < 0,05$) у животных, получавших ацетилцистеин после интоксикации этанолом (Рисунок 32).

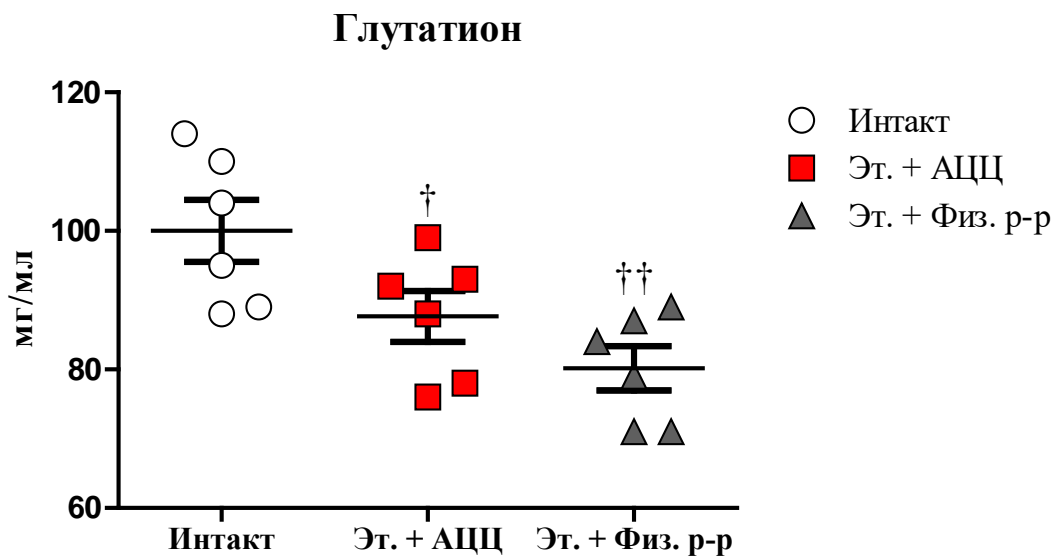


Рисунок 32. Концентрация глутатиона в перфузате печени крыс

Примечание: Эт. – этанол; АЦЦ – ацетилцистеин; физ. р-р – физиологический раствор; † – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; †† – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$.

Влияние на концентрацию малонового диальдегида

Не обнаружили статистически значимых отличий между показателями концентрации МДА у животных всех исследуемых групп (Рисунок 33).

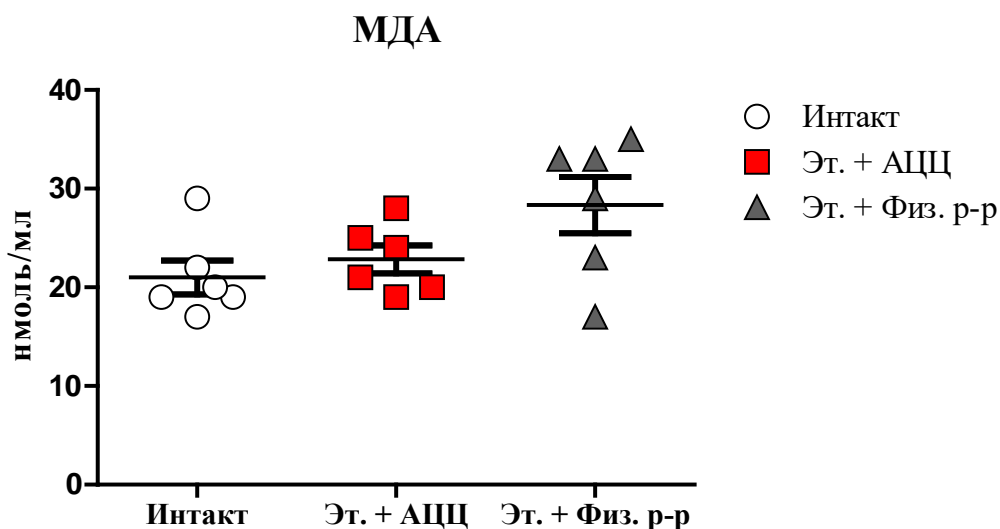


Рисунок 33. Концентрация малонового диальдегида в перфузате печени крыс

Примечание: Эт. – этанол; АЦЦ – ацетилцистеин; физ. р-р – физиологический раствор.

Влияние на концентрацию диеновых конъюгатов

Концентрация диеновых конъюгатов при индукции отравления этанолом статистически значимо увеличивалась ($p < 0,05$) при сравнении с показателями, полученными у интактных животных. Концентрация диеновых конъюгатов в перфузате животных, которым вводили ацетилцистеин, была сопоставима с показателем у животных из группы отрицательного контроля и была статистически значимо ($p < 0,05$) ниже, чем показатель у животных из группы положительного контроля (Рисунок 34).

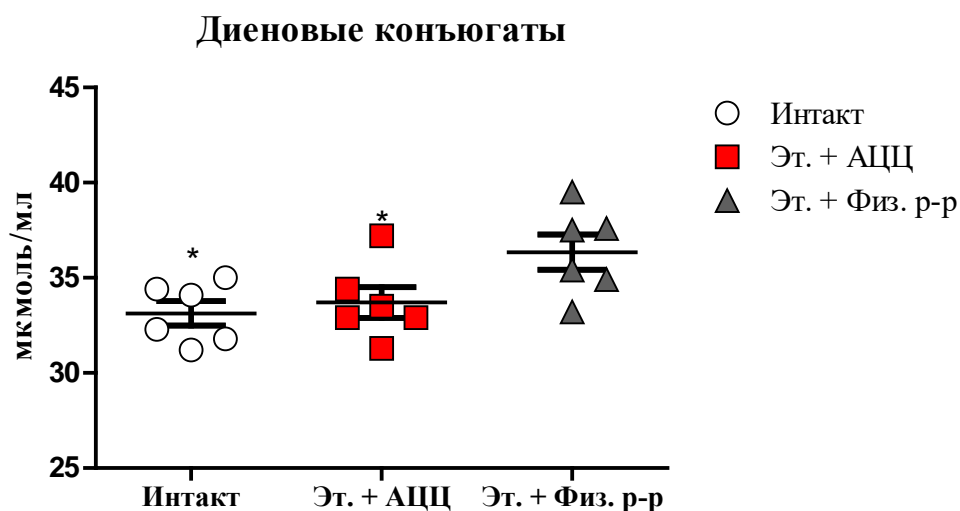


Рисунок 34. Концентрация диеновых конъюгатов в перфузате печени крыс

Примечание: Эт. – этанол; АЦЦ – ацетилцистеин; физ. р-р – физиологический раствор; * – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; * – статистически значимое отличие при сравнении с показателями у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$.

4.2 Влияние на активность фракции S9 (хроническая алкоголизация)

В ходе оценки активности ферментативных систем гепатоцитов на фоне хронической алкоголизации обнаружили статистически значимое увеличение в 3,5 раза абсорбции кислотной формы фенолового красного в лунках планшета, содержащих фракцию S9 крыс, подвергнутых алкоголизации и в 3 раза – в лунках, содержащих фракцию S9 крыс, которых подвергли алкоголизации, после чего ввели ацетилцистеин (Рисунок 35, $p < 0,001$ в обоих случаях). Данные изменения связаны с индукцией цитоплазмальных оксидаз, а также

микросомальных оксигеназ и ряда изоферментов систем цитохрома P450, которая наблюдается как при острой, так и при хронической алкоголизации.

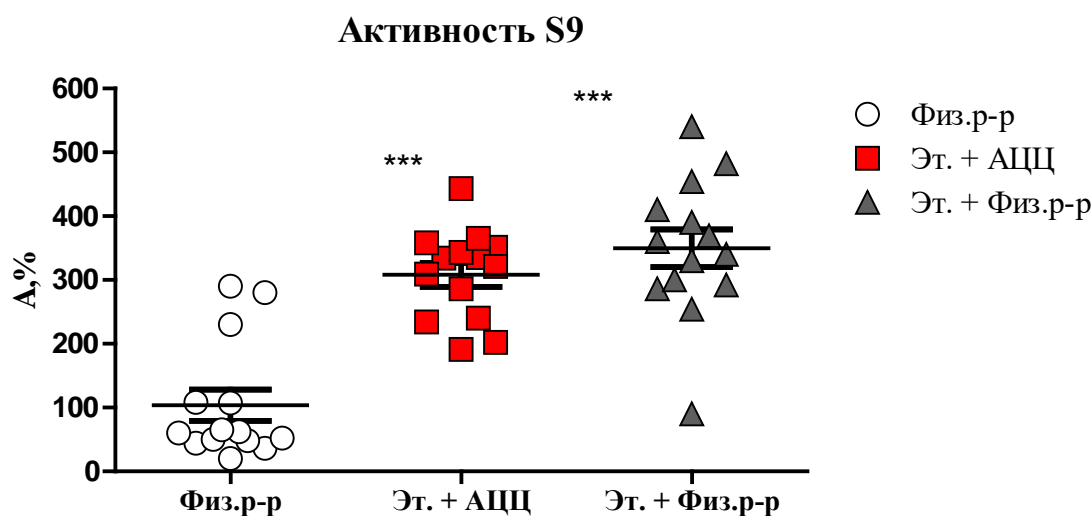


Рисунок 35. Относительная ферментативная активность фракции S9 печени крыс

Примечание: Данные нормализованы по среднему значению Ag в контроле; каждая точка соответствует среднему по 4 биологическим повторностям; *** – $p < 0,001$ (U-критерий Манна – Уитни).

4.3 Заключение

- Введение этанола с последующим введением ацетилцистеина или физиологического раствора не оказывало влияния на активность АСТ, концентрацию ТГ и МДА. Выявили, что активность СОД в перфузате статистически значимо, но несущественно уменьшалась у животных, получавших этанол без последующего лечения относительно значений у интактных животных. Влияния введения ацетилцистеина на данный показатель не выявили.
- Активность АЛТ в перфузате животных, которым после интоксикации этанолом вводили ацетилцистеин, оказалась статистически значимо ниже, чем у животных с постинтоксикационным состоянием без лечения. Таким образом, введение ацетилцистеина снижало активность АЛТ в перфузате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации. Аналогичные данные получены для диеновых конъюгатов, концентрация которых в перфузате существенно увеличивалась при алкогольной интоксикации и приближалась к значениям у интактных животных при введении

ацетилцистеина в постинтоксикационном периоде. Концентрация глутатиона, наоборот, существенно снижалась как при введении этанола без лечения, так и при введении этанола с последующим введением ацетилцистеина. Тем не менее, среднее значение концентрации глутатиона было выше, чем у животных из группы положительного контроля. Согласно полученным данным, введение ацетилцистеина благоприятно сказывалось на состоянии антиоксидантных систем печени (глутатион), активности ПОЛ (диеновых конъюгатов) и токсическом повреждении печени (АЛТ).

- Таким образом, хроническая алкоголизация приводила к изменению экспрессии и усилению активности оксидоредуктаз в печени. Полученные данные позволили валидировать метод хронической алкоголизации животных. Важно отметить, что увеличение активности некоторых ферментов системы СYP также может отражаться на метаболизме многих лекарственных средств.

ГЛАВА 5. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА, АДЕМЕТИОНИНА И ТАУРИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОПАТИИ, ВОЗНИКШЕЙ НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИЕМА ЭТАНОЛА

5.1 Масса тела

Динамика прироста массы тела у животных, подвергнутых алкоголизации, существенно не отличалась от таковой у крыс из контрольной группы, поскольку статистически значимые различия ($p < 0,05$) возникли только на последней неделе экспериментальной серии и затрагивали группы «Этанол + Физ.раствор» и «Этанол + Таурин» (Рисунок 36). Это подтверждает отсутствие изменений пищевого поведения, которые могли бы вызвать дефицит α -липоевой кислоты. Таким образом, возникновение признаков поражения нервной системы, наблюдавшееся в ходе исследования, является прямым следствием нейротоксических эффектов этанола на выбранной модели.

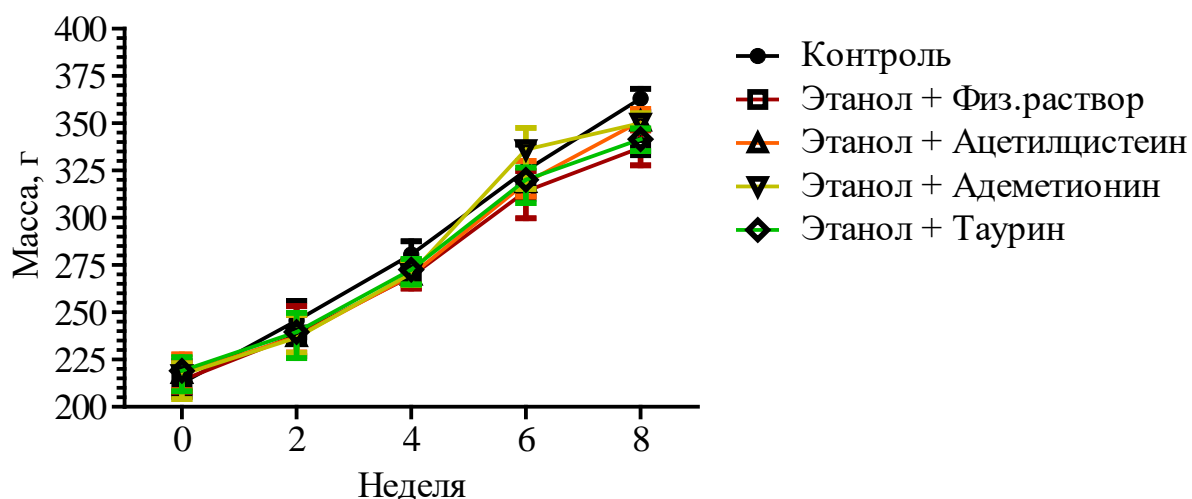


Рисунок 36. Динамика массы тела

Примечание: данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

5.2 Результаты оценки выраженности неврологического дефицита и нейропатии

Модифицированная шкала неврологического дефицита

Неврологический дефицит оценивали по шкале mNSS, предусматривающей следующую градацию: 1–6 баллов – легкий, 7–12 – умеренный, 13–18 – тяжелый неврологический дефицит. На фоне алкоголизации медианная оценка по данной шкале у крыс, подвергнутых алкоголизации, постепенно увеличивалась (Рисунок 37), однако случаев тяжелого неврологического дефицита не наблюдали. Неврологические нарушения в основном были представлены ухудшением координации движений в тесте хождения по перекладине и изменениями походки, которые могли быть непосредственно обусловлены опьяняющим действием этанола. Следует заметить, что на фоне введения ацетилцистеина или адеметионина, но не таурина, медианная оценка по шкале mNSS у животных снижалась.

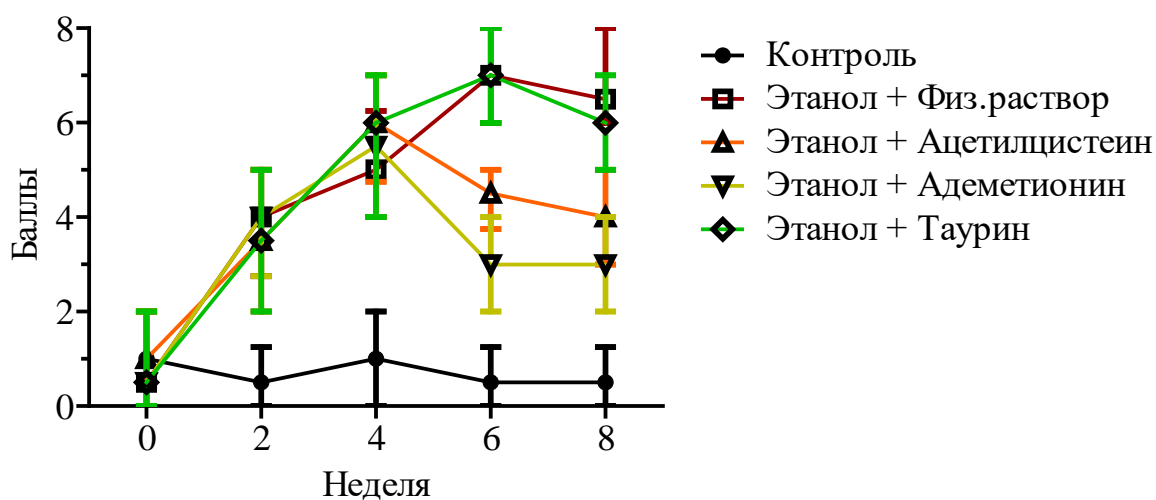


Рисунок 37. Динамика неврологического дефицита

Примечание: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха; n = 10 в каждой из групп.

Ротарод

Происходящее по мере алкоголизации усугубление признаков неврологического дефицита по шкале mNSS, представленных нарушениями координации, согласовывалось и с динамикой результатов теста удержания на вращающемся стержне: исходно животные из всех групп удерживались достаточно длительное время или успешно справлялись с тестом, однако уже на 2 неделе экспериментов длительность удержания снижалась в 2 раза. Проводимое лечение повышало результативность крыс; наиболее стремительное восстановление координации также наблюдали у животных из групп «Этанол + Адemetионин» и «Этанол + Ацетилцистеин» (Рисунок 38).

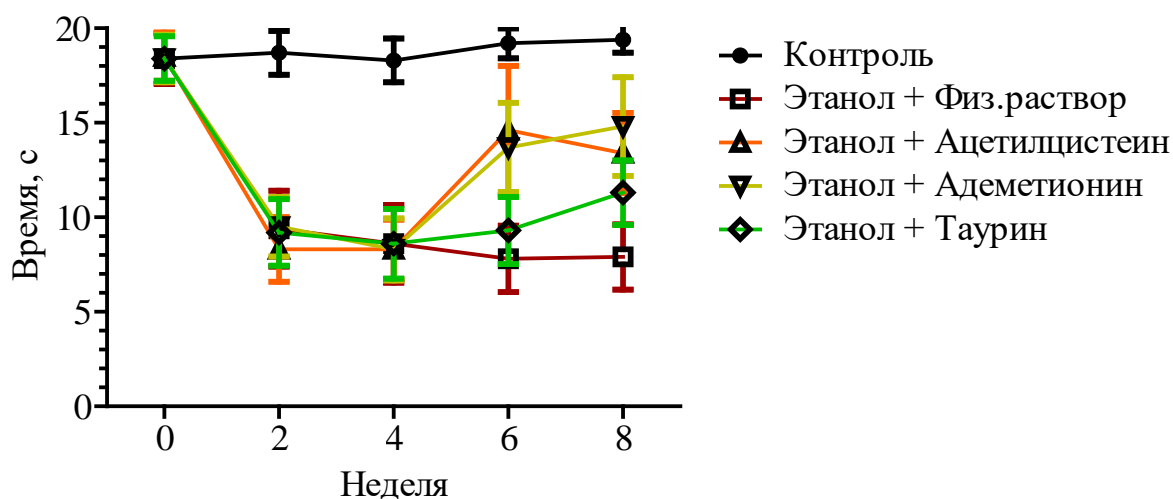


Рисунок 38. Динамика результатов теста удержания на вращающемся стержне

Примечание: данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; n = 10 в каждой из групп.

Температурная гипералгезия и аллодиния

Результаты всех тестов, предназначенных для оценки температурной гипералгезии и аллодинии, были сопоставимы: по мере прогрессирования neuropathy чувствительность к температурным раздражителям повышалась, а проводимое лечение позволяло восстановить, как минимум, чувствительность к

повышенным температурам без существенных различий между животными из групп терапии (Рисунок 39, Рисунок 40). С другой стороны, результаты, полученные при оценке холодовой чувствительности, были менее однозначными: эффект таурина был заметно менее выраженным, чем эффекты адеметионина и ацетилцистеина (Рисунок 41, Рисунок 42).

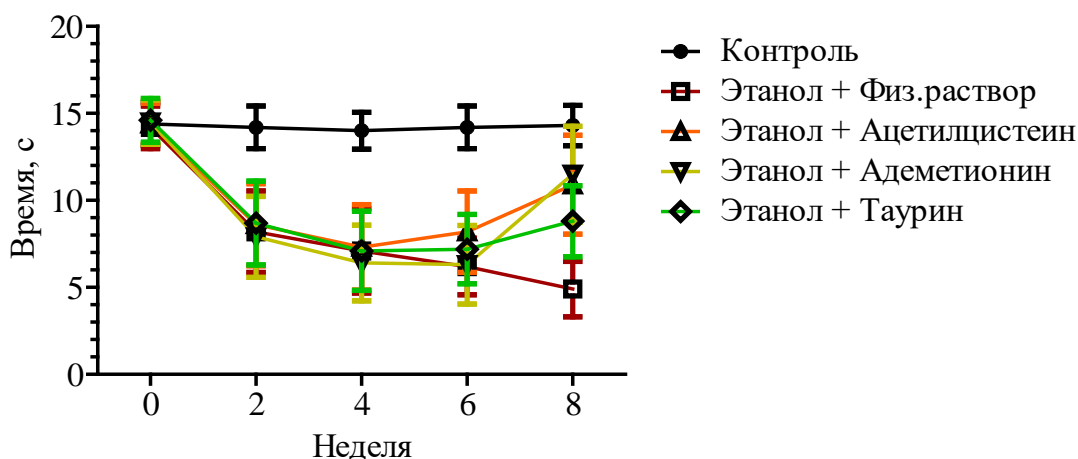


Рисунок 39. Динамика тепловой гипералгезии

Примечание: данные о латентном периоде развития болевой реакции в тесте «горячая пластина» (при температуре 55 ± 1 °C) представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

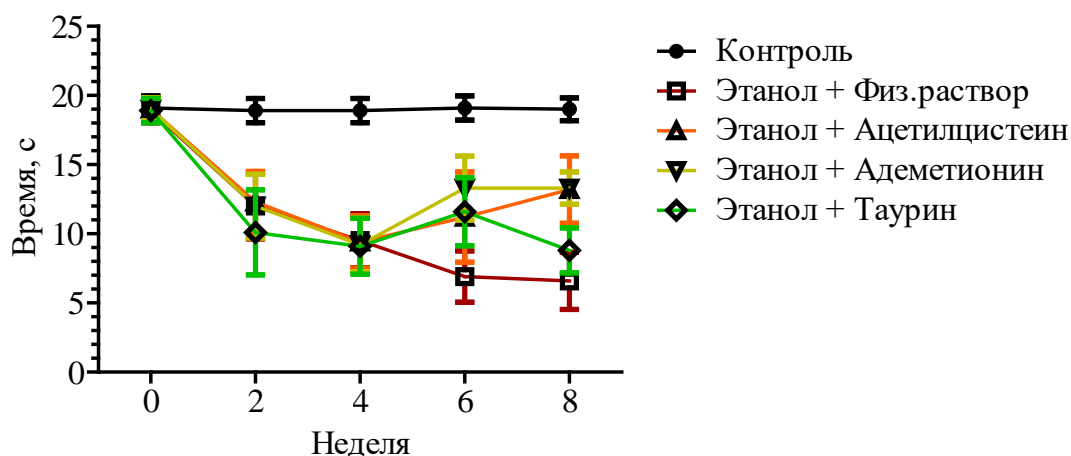


Рисунок 40. Динамика холодовой гипералгезии

Примечание: данные о латентном периоде отдергивания хвоста при контакте с холодной водой (при температуре 2 ± 1 °C) представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

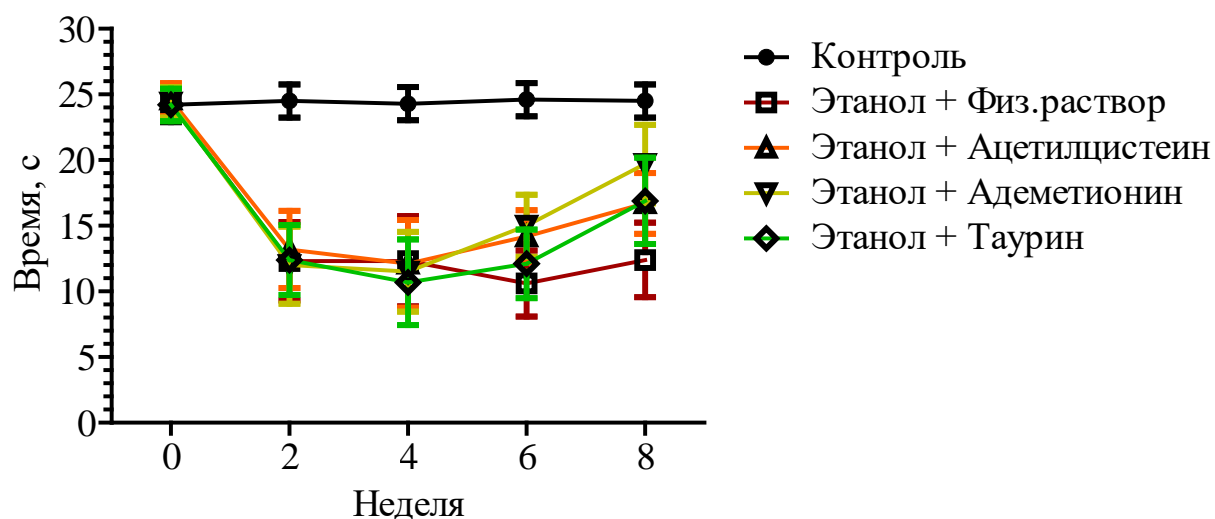


Рисунок 41. Динамика тепловой аллодинии

Примечание: данные о латентном периоде развития болевой реакции в модифицированном тесте «горячая пластина» (при температуре 45 ± 1 °C) представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

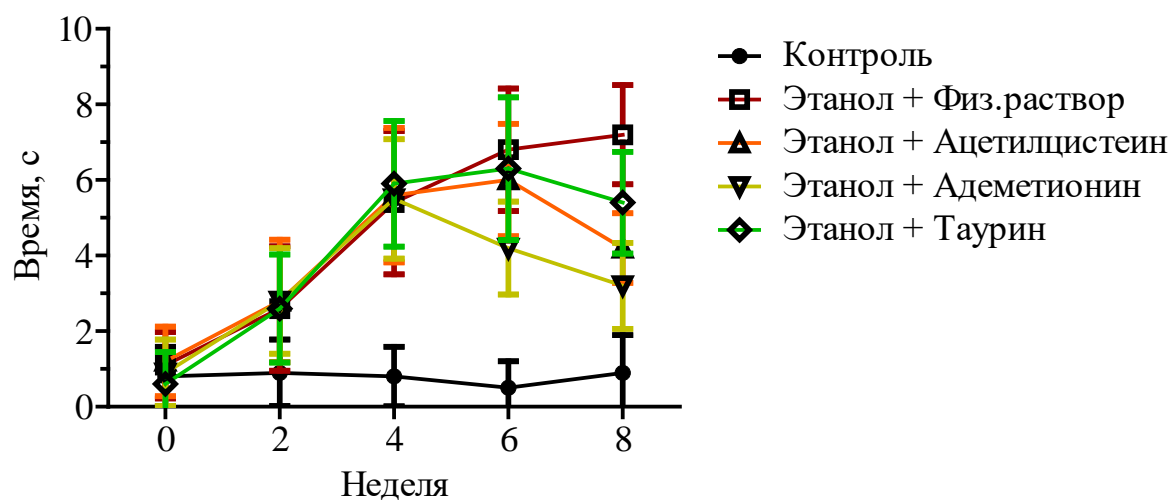


Рисунок 42. Динамика холодовой аллодинии

Примечание: данные о суммарной продолжительности реакции на распыление ацетона на плантарную поверхность задней лапы представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

Механическая аллодиния

Механическая аллодиния, которую оценивали при помощи филаментов фон Фрея, развивалась достаточно быстро: уже через 2 недели алкоголизации крысы из экспериментальных групп начинали реагировать на филаменты, рассчитанные на давление ≤ 1 г, в то время как у здоровых животных из контрольной группы порог раздражения составлял ≥ 6 г в течение всего экспериментального периода (Рисунок 43). Проводимая терапия несущественно увеличивала порог чувствительности в данном тесте: у животных, получавших ацетилцистеин или адеметионин, порог раздражимости повышался до ≥ 2 г, в то время как у крыс, которым вводили физиологический раствор или таурин, выраженных изменений не наблюдали.

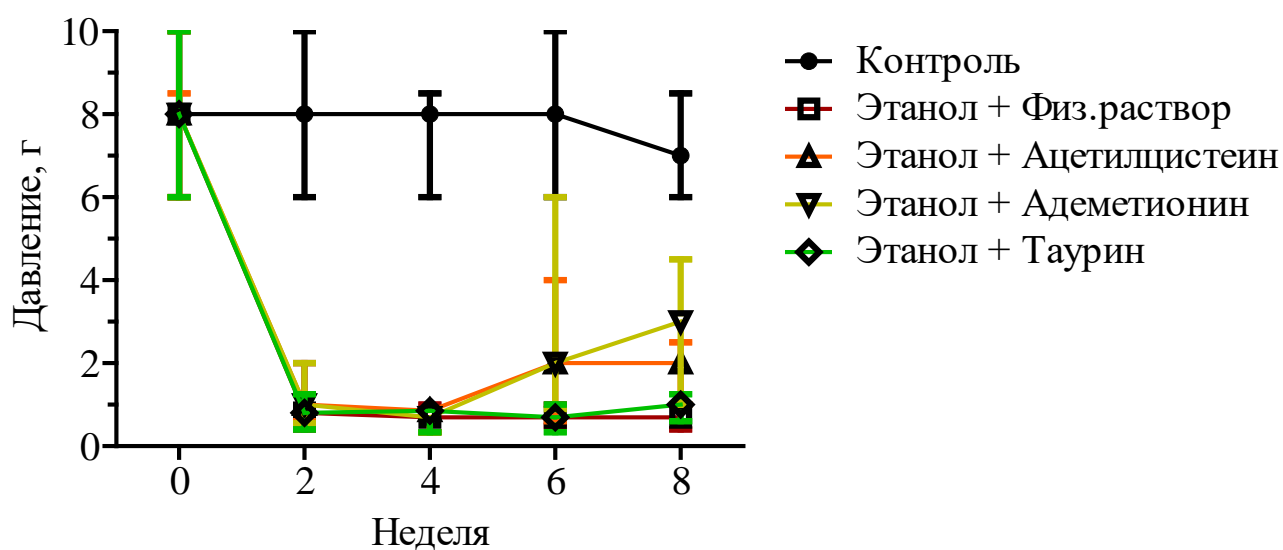


Рисунок 43. Динамика механической аллодинии

Примечание: данные о пороге механической чувствительности к филаментам фон Фрея, откалиброванных на различное давление (0,07, 0,16, 0,4, 0,6, 1,0, 2,0, 4,0, 6,0, 8,0 и 10,0 г), представлены в виде медианы и интерквартильного размаха; $n = 10$ в каждой из групп.

Предпочтение этанола

Сведения о динамике питьевого поведения в тесте предпочтения этанола обобщены в Таблице 8 и представлены на Рисунках 44–46.

Таблица 8.

Результаты статистической обработки данных о динамике питьевого поведения

Неделя	Группа				
	Контроль	Этанол + ФР	Этанол + АЦ	Этанол + АМ	Этанол + ТН
Объем выпитой воды, мл (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
4	1,2 \pm 0,72	4,4 \pm 1,73 ^к	4,6 \pm 1,85 ^к	2,1 \pm 0,57 ^з	4,2 \pm 1,57 ^к
8	1,6 \pm 0,60	3,7 \pm 1,64 ^к	2,6 \pm 0,76	4,6 \pm 1,85 ^к	2,9 \pm 0,88
Объем выпитого раствора этанола, мл (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
4	0,7 \pm 0,28	3,1 \pm 1,42 ^к	3,1 \pm 1,09 ^к	3,3 \pm 1,11 ^к	3,1 \pm 1,29 ^к
8	0,8 \pm 0,24	3,9 \pm 1,24 ^к	2,6 \pm 1,04 ^{к,з}	1,0 \pm 0,38 ^з	3,5 \pm 1,08 ^к
Предпочтение этанола, % (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
4	40,2 \pm 19,69	42,0 \pm 12,49	41,7 \pm 16,78	43,5 \pm 9,40	42,8 \pm 12,84
8	35,3 \pm 11,27	53,4 \pm 9,87 ^к	49,5 \pm 13,42 ^к	32,4 \pm 9,05 ^з	54,5 \pm 10,91 ^к

Примечание: ФР, АЦ, АМ, ТН – физиологический раствор, ацетилцистеин, адеметионин и таурин соответственно; ANOVA – двухфакторный дисперсионный анализ; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными на соответствующей неделе экспериментов у животных из контрольной группы ($p < 0,05$); ^з – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными на соответствующей неделе серии экспериментов у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$).

Через 4 недели от начала алкоголизации средний объем воды, выпитой животными из экспериментальных групп, был существенно выше, чем у животных из контрольной группы, что подтверждает развитие полидипсии при использовании выбранной экспериментальной модели (Рисунок 44). По окончании курса терапии повышенный уровень потребления воды сохранился у крыс из групп «Этанол + Физ.раствор» и «Этанол + Адеметионин» ($p < 0,05$ при сравнении с показателем, полученным у животных из контрольной группы), в то время как статистически значимые различия между другими группами отсутствовали.

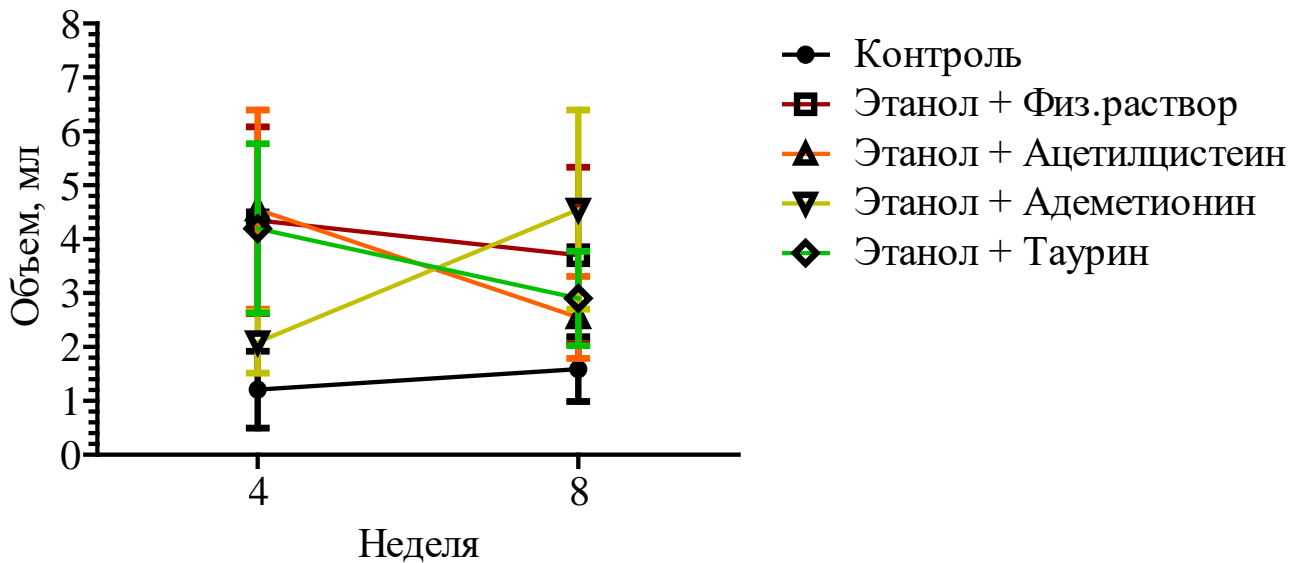


Рисунок 44. Динамика употребления воды в тесте питьевого предпочтения

Примечание: данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

У животных, подвергнутых алкоголизации, помимо увеличенного потребления воды отмечали увеличение объема этанола, употребляемого в тесте питьевого предпочтения на 4 неделе экспериментов ($p < 0,05$ при сравнении с показателями, зарегистрированными у крыс из контрольной группы; Рисунок 45). Через 8 недель алкоголизации у животных из группы «Этанол + Физ.раствор» отметили дальнейшее увеличение уровня употребления этанола, в то время как у крыс, получавших таурин, уровень употребления этанола не изменялся, а у животных из оставшихся групп оцениваемый показатель существенно уменьшался ($p < 0,05$ при сравнении с показателями, полученными у животных как из группы «Этанол + Физ.раствор», так и из контрольной группы). Наиболее выраженным снижением употребления этанола было в группе «Этанол + Адеметионин»: на 8 неделе экспериментов показатели, полученные у животных из данной группы, оказались сопоставимыми с показателями, зарегистрированными у крыс из контрольной группы, и были статистически значимо ниже, чем у животных, получавших этанол и физиологический раствор

($p < 0,05$). Подобный эффект может быть обусловлен антидепрессивными свойствами адеметионина и его возможным влиянием на систему подкрепления головного мозга: несмотря на то, что полидипсия у животных из данной группы сохранилась, тяга к алкоголю существенно уменьшилась.

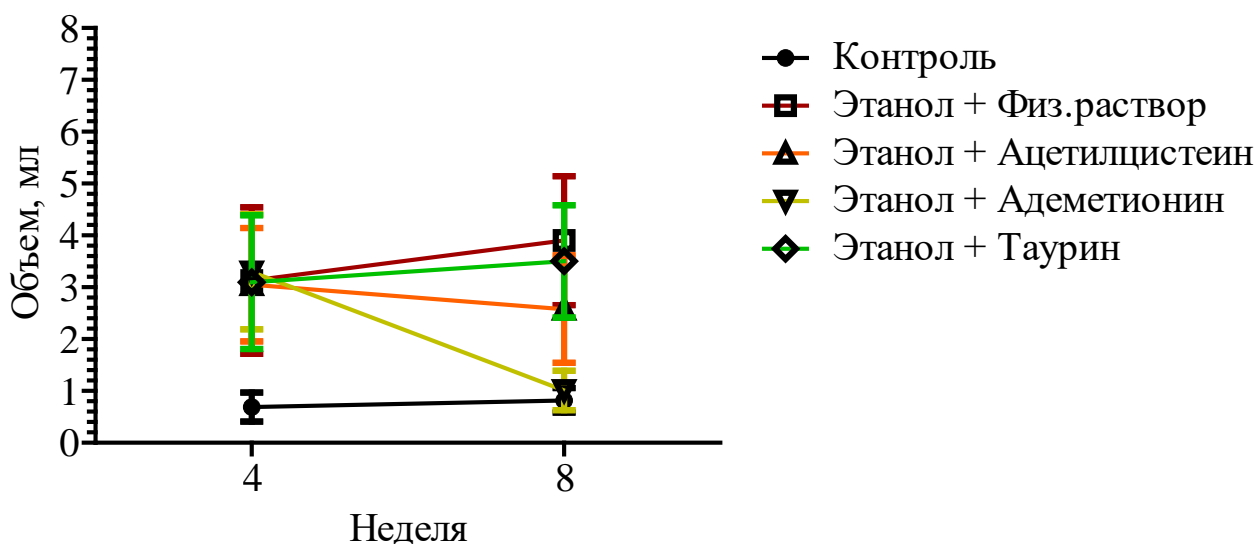


Рисунок 45. Динамика употребления раствора этанола в тесте питьевого предпочтения

Примечание: данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

Также в данном тесте определяли индивидуальный коэффициент предпочтения для каждого животного (Рисунок 46). Значение коэффициента более 50% однозначно указывает на дискриминацию между предложенными жидкостями в пользу 15% раствора этанола, в то время как значения менее 50% – на предпочтение воды [23]. Неожиданным оказалось поведение животных из контрольной группы: на 4 неделе экспериментов их уровень предпочтения этанола был сопоставим с таковым у крыс, подвергнутых алкоголизации (без статистически значимых межгрупповых различий), что могло быть связано как с отсутствием выраженной полидипсии, так и с интересом животных к новому для них напитку. Несмотря на это, при повторном контакте с этанолом животные из контрольной группы начали его избегать, предпочитая питьевую воду.

Аналогичным образом на предпочтении этанола сказалось и введение адеметионина: на 8 неделе экспериментов показатели, полученные у животных из данной группы, оказались сопоставимыми с показателями, зарегистрированными у крыс из контрольной группы, и были статистически значимо ниже, чем у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$ в обоих случаях). Это подтверждает наличие у адеметионина способности снижать подкрепляющие свойства этанола. У крыс из других групп, напротив, предпочтение этанола существенно возросло к концу экспериментального этапа. Влияния ацетилцистеина на подкрепляющие свойства этанола в данной серии экспериментов не выявили, что противоречит литературным данным [146], однако может указывать на его слабую эффективность при сформированной алкогольной зависимости.

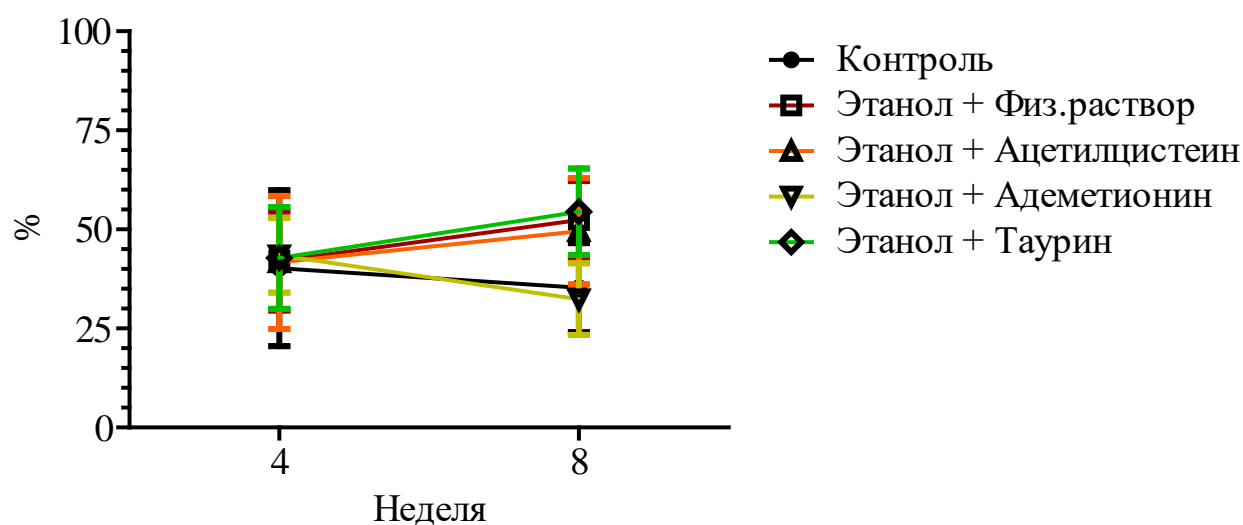


Рисунок 46. Динамика коэффициента предпочтения этанола

Примечание: данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартного отклонения; $n = 10$ в каждой из групп.

5.3 Биохимическая оценка механизма действия

В конце экспериментального этапа все животные были подвергнуты эвтаназии для определения функционального состояния гепатоцитов при помощи

биохимических методов. Результаты данного этапа работы обобщены в Таблице 9 и представлены на Рисунках 47–52.

Таблица 9.

Результаты статистической обработки данных биохимических исследований

Неделя	Группа				
	Отрицательный контроль	Положительный контроль	Ацетилцистеин	Адеметионин	Таурин
Активность аспаратаминотрансферазы, Ед/л (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	121,2 \pm 13,93	153,9 \pm 16,71 (+26,98%) ^к	141,4 \pm 22,17 (+16,67%)	132,1 \pm 19,19 (+8,99%)	141,9 \pm 20,62 (+17,08%)
Активность аланинаминотрансферазы, Ед/л (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	27,8 \pm 6,46	45,4 \pm 8,13 (+63,31%) ^к	32,9 \pm 8,20 (+18,35%) ^з	33,7 \pm 6,63 (+21,22%) ^з	37,6 \pm 6,28 (+35,25%) ^{к, з}
Активность супероксиддисмутазы, Ед/мг белка (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	46,6 \pm 9,90	48,1 \pm 11,32 (+3,22%)	45,6 \pm 8,68 (- 2,15%)	49,3 \pm 8,22 (+5,79%)	48,2 \pm 10,23 (+3,43%)
Содержание малонового диальдегида, нмоль/г ткани (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	28,6 \pm 7,14	42,6 \pm 7,92 (+48,95%) ^к	31,6 \pm 7,35 (+10,49%) ^з	33,7 \pm 9,43 (+17,83%) ^з	35,3 \pm 8,23 (+23,43%) ^з
Содержание восстановленного глутатиона, мг/г ткани (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	116,2 \pm 15,68	89,0 \pm 10,69 (- 23,41%) ^к	113,2 \pm 15,78 (- 2,58%) ^з	99,6 \pm 11,61 (- 14,29%)	104,2 \pm 15,59 (- 10,33%)
Содержание триглицеридов, мг/г ткани (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	27,0 \pm 3,68	42,3 \pm 9,92 (+56,67%) ^к	31,2 \pm 4,73 (+15,56%) ^з	27,1 \pm 5,00 (+0,37%) ^з	26,5 \pm 4,25 (- 100,00%) ^з

Примечание: ФР, АЦ, АМ, ТН – физиологический раствор, ацетилцистеин, адеметионин и таурин соответственно; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); ^з – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ).

Влияние на активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы

Повышение активности АСТ и АЛТ обычно рассматривают как основные признаки нарушения целостности мембран гепатоцитов, поскольку при острых интоксикациях активность данных ферментов в плазме крови многократно возрастает. В то же время при хронических интоксикациях в виду компенсаторных реакций выраженность подобных нарушений снижается, что согласуется и с полученными результатами: алкоголизация приводила к статистически значимому увеличению активности АСТ и АЛТ ($p < 0,05$ при сравнении показателей в группе «Этанол + Физ.раствор» и в контрольной группе; Рисунок 47 и Рисунок 48 соответственно), однако клиническая значимость подобного увеличения сомнительна. В то же время уровни АСТ, зарегистрированные у животных, получавших ацетилцистеин, адеметионин или таурин, статистически значимо не отличались от таковых у крыс из контрольной группы ($p > 0,05$ во всех случаях), а соответствующие уровни АЛТ оказались статистически значимо ниже, чем у животных из группы «Этанол + Физ.раствор» ($p < 0,05$ во всех случаях), что может указывать на некоторые гепатопротекторные свойства перечисленных соединений. С другой стороны, у животных, получавших таурин, уровень АЛТ был статистически значимо выше, чем у крыс из контрольной группы ($p < 0,05$), что свидетельствует о меньшей эффективности этого лекарственного средства на данной экспериментальной модели.

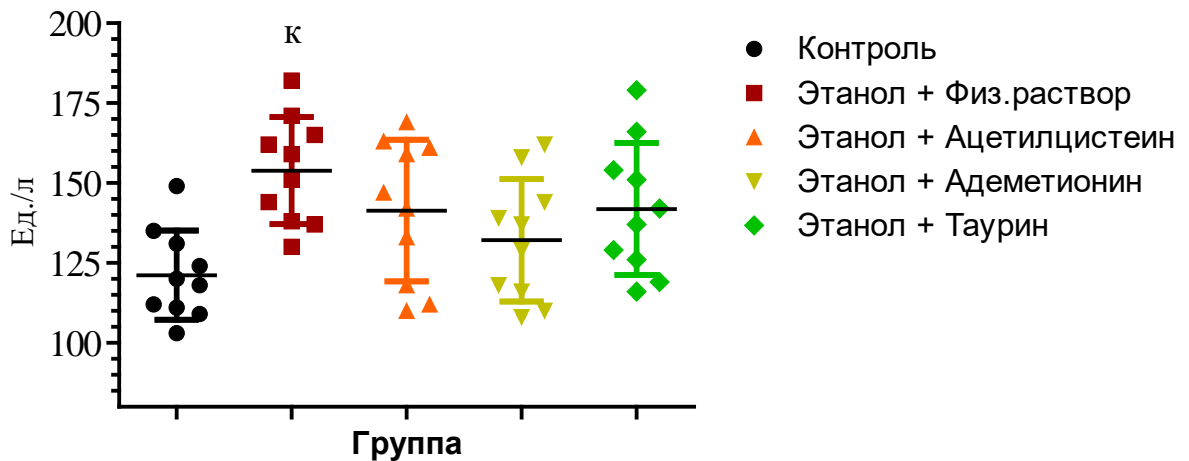


Рисунок 47. Активность аспаратаминотрансферазы в плазме крови

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического и стандартного отклонения; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); ^э – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); $n = 10$ в каждой из групп.

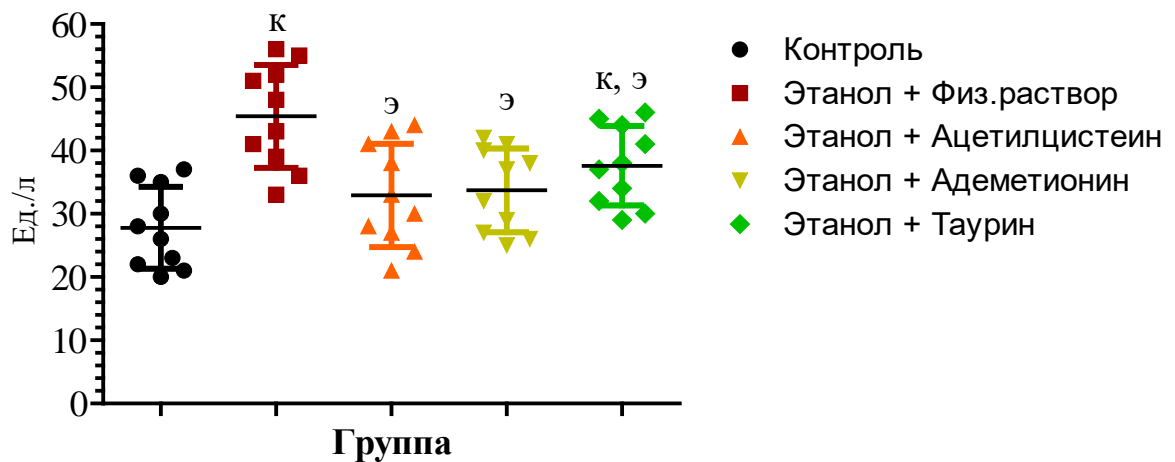


Рисунок 48. Активность аланинаминотрансферазы в плазме крови

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического и стандартного отклонения; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); ^э – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); $n = 10$ в каждой из групп.

Влияние на активность супероксиддисмутазы

Существенных изменений активности СОД, обусловленных алкоголизацией и/или введением исследуемых лекарственных средств, не выявили ($p > 0,05$ при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы; Рисунок 49).

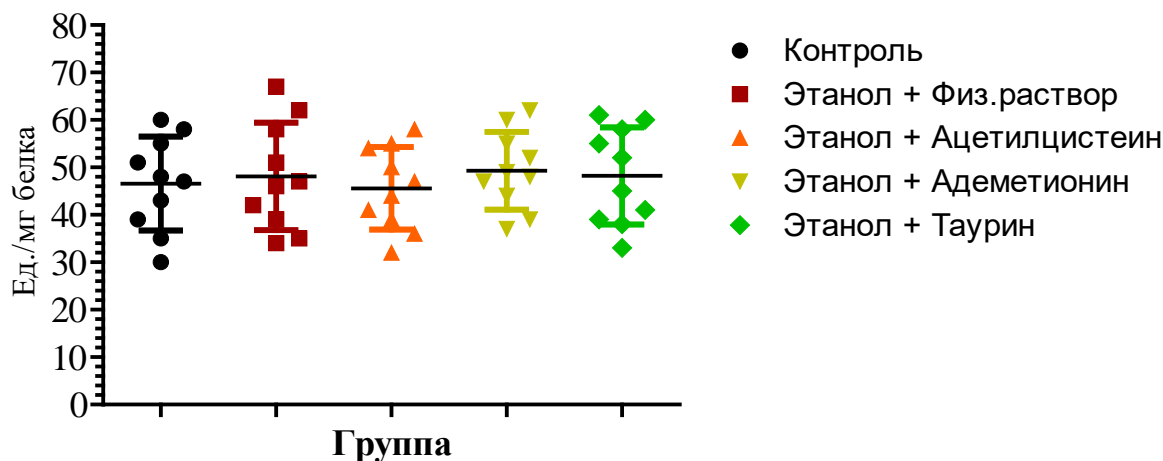


Рисунок 49. Активность супероксиддисмутазы в гомогенатах печени

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического и стандартного отклонения; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); ^р – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); $n = 10$ в каждой из групп.

Влияние на концентрацию малонового диальдегида

Уровни МДА у крыс, подвергнутых алкоголизации, были статистически значимо выше, чем у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; Рисунок 50), что свидетельствует об активизации процессов ПОЛ. У животных, которым вводили ацетилцистеин, адеметионин или таурин, содержание МДА статистически значимо не отличалось от такового у крыс из контрольной группы ($p > 0,05$), но в то же время было статистически значимо ниже, чем у животных, не получавших терапии на фоне алкоголизации ($p < 0,05$ во всех случаях), что согласуется с

литературными данными об антиоксидантных свойствах исследуемых лекарственных средств.

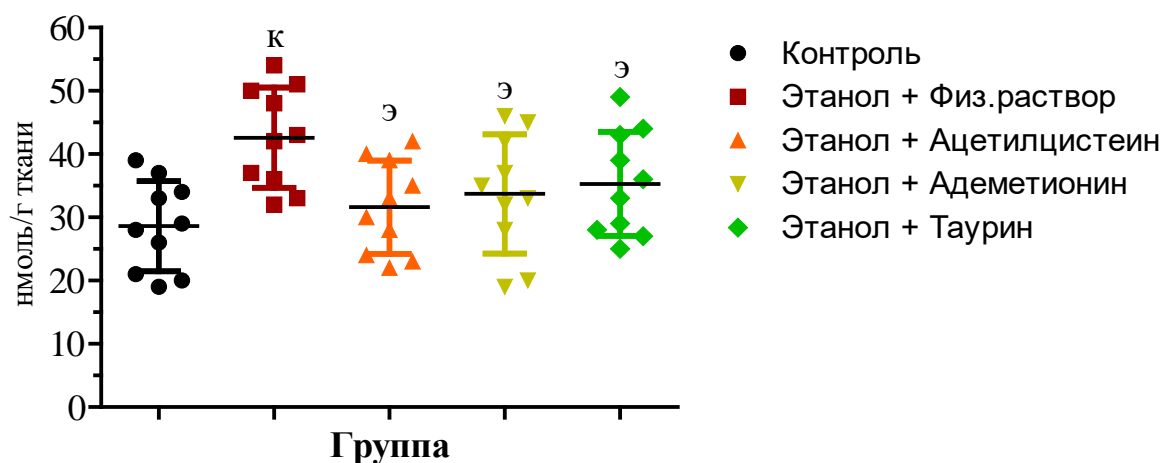


Рисунок 50. Содержание малонового диальдегида в гомогенатах печени

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического и стандартного отклонения; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); ^э – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); $n = 10$ в каждой из групп.

Влияние на концентрацию глутатиона

Уровни глутатиона, играющего важную роль в детоксикации и обезвреживании продуктов ПОЛ в гепатоцитах, у крыс, которые не получали лечения на фоне алкоголизации, оказались статистически значимо ниже, чем у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; Рисунок 51), в то время как у крыс, получавших адеметионин или таурин, уровни глутатиона статистически значимо не отличались от показателей, зарегистрированных у животных из группы «Этанол + Физ.раствор» и из контрольной группы ($p > 0,05$ в обоих случаях). У крыс, которым вводили ацетилцистеин, уровни глутатиона были сопоставимыми с таковыми у животных из контрольной группы ($p > 0,05$), но статистически значимо превосходили показатели, зарегистрированные у крыс, не получавших лечения на фоне алкоголизации ($p < 0,05$), что подтверждает ранее

выдвигавшиеся гипотезы о способности ацетилцистеина выступать в роли метаболического прекурсора глутатиона [6, 17, 82].

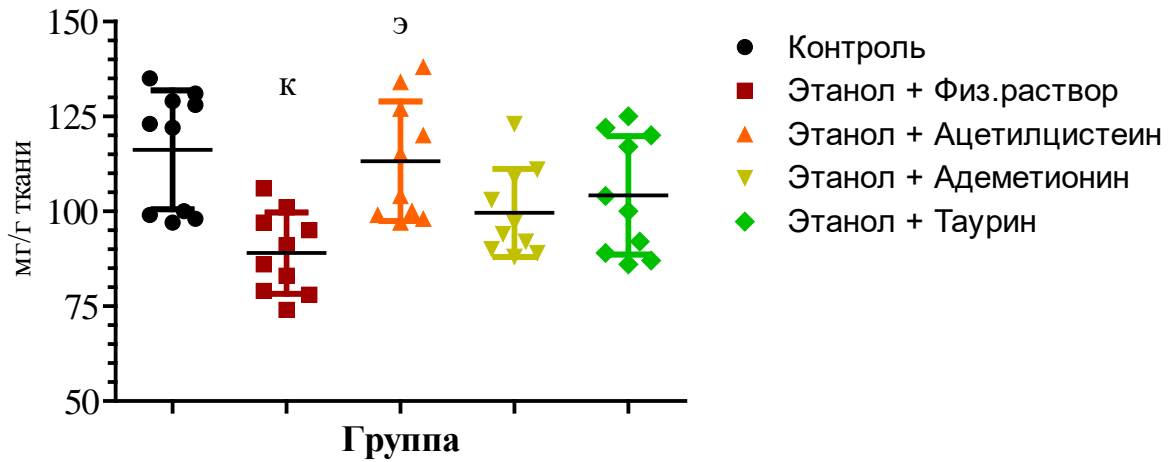


Рисунок 51. Содержание восстановленного глутатиона в гомогенатах печени

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического и стандартного отклонения; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); ^э – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); $n = 10$ в каждой из групп.

Влияние на концентрацию триглицеридов

Содержание триглицеридов в гомогенатах печени определяли для оценки выраженности дистрофических изменений в печени, которые при развитии алкогольного стеатогепатоза гистологически проявляются скоплением жировых капель. Вместо гистологического исследования было выполнено биохимическое по той причине, что размер экспериментальных групп был ограниченным, а также потому, что образцы тканей были необходимы и для других запланированных биохимических исследований. У крыс, подвергнутых алкоголизации, содержание триглицеридов в гомогенатах печени было статистически значимо выше, чем у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; Рисунок 52), что согласуется с увеличением активности АЛТ и свидетельствует о начинающейся жировой дистрофии печени. Статистически значимые межгрупповые различия

исследуемого показателя в других группах отсутствовали ($p > 0,05$), однако у крыс, получавших адеметионин, ацетилцистеин или таурин, содержание триглицеридов было статистически значимо ниже, чем у животных, не получавших терапии на фоне алкоголизации ($p < 0,05$ во всех случаях). Подобные эффекты также подтверждают гепатопротекторные свойства исследуемых лекарственных средств, описанные в релевантной научной литературе.

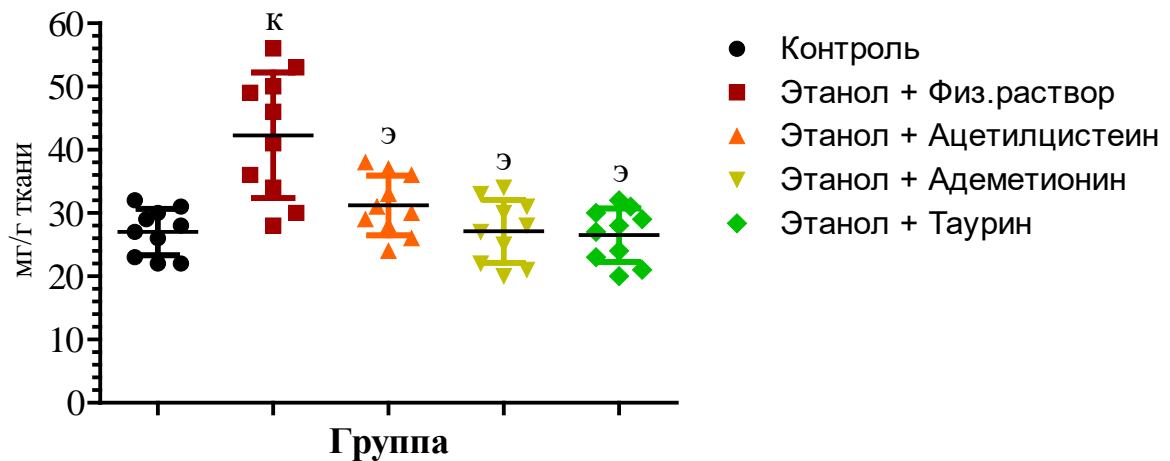


Рисунок 52. Содержание триглицеридов в гомогенатах печени

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического и стандартного отклонения; ^к – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных из контрольной группы ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); ^э – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$; однофакторный дисперсионный анализ); $n = 10$ в каждой из групп.

5.4 Заключение

- Добровольная алкоголизация 15% раствором этанола сопровождается у крыс стремительным нарастанием неврологической симптоматики, преимущественно представленной атаксическими проявлениями и расстройствами координации и нейропатии, проявляющейся возникновением механической и температурной аллодинии, а также холодной и тепловой гипералгезии.

- Ежедневное пероральное введение ацетилцистеина, адеметионина или таурина оказывает протективное действие на прогрессирование алкогольной нейропатии; наиболее выраженные эффекты на выбранной экспериментальной модели проявлял адеметионин, что может быть связано с его нейротропной активностью и существенным влиянием на предпочтение этанола, которое могло ограничивать потребление этанола у животных из соответствующей группы.
- Ежедневное пероральное введение ацетилцистеина, адеметионина или таурина предотвращало нарастание выраженности нарушений работы ферментативных и неферментативных антиоксидантных систем гепатоцитов и сдерживало развитие функциональных расстройств печени, сопровождающихся гибелью гепатоцитов и развитием жировой дистрофии. В большинстве случаев эффекты исследуемых лекарственных средств были сопоставимыми, однако ацетилцистеин в большей степени, чем другие соединения, стимулировал восполнение пула GSH в гепатоцитах.

ГЛАВА 6. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА, АДЕМЕТИОНИНА И ТАУРИНА ПРИ ЛЕЧЕНИИ НЕЙРОПАТИИ, ВОЗНИКШЕЙ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА СМЕШАННОГО ТИПА

6.1 Валидация

Масса тела

Динамика прироста массы тела у животных, у которых моделировали сахарный диабет, существенно не отличалась от таковой у крыс из контрольной группы. Обнаружили, что масса тела животных из группы таурина была статистически значимо выше ($p < 0,05$), чем у животных, получавших адеметионин. На 6 неделе экспериментов масса тела животных, получавших адеметионин была статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем у животных из группы положительного контроля. Статистически значимые отличия от контрольной группы наблюдали только на 8 неделе экспериментов: масса тела животных из группы положительного контроля и животных, которым вводили таурин была статистически значимо ниже ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно), чем у животных из контрольной группы (Рисунок 53).

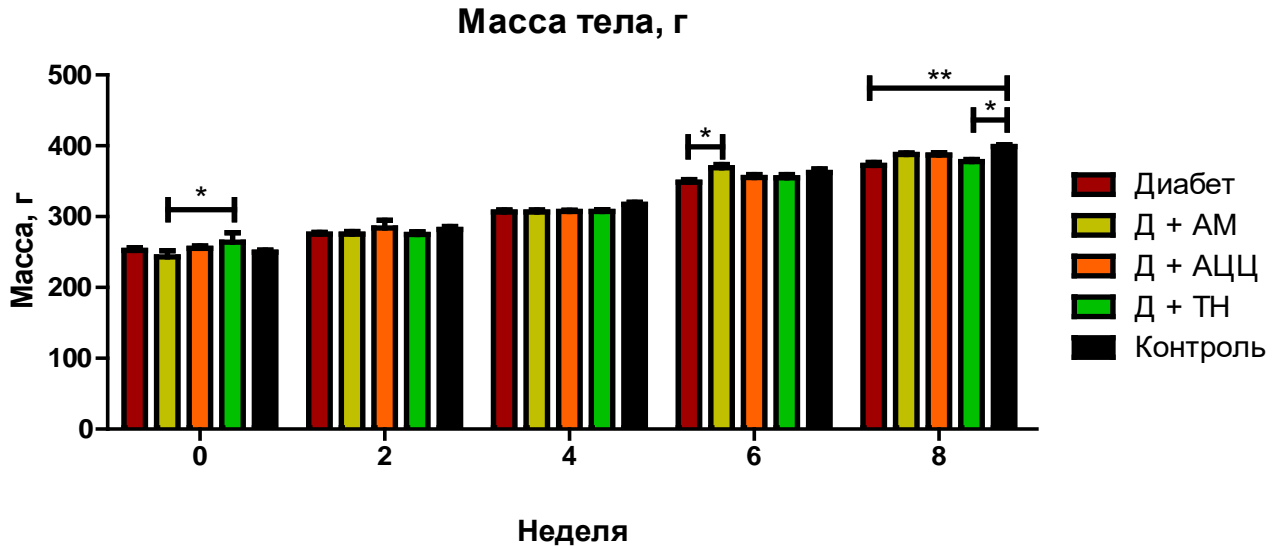


Рисунок 53. Динамика массы тела животных в течение 8 недель после индукции сахарного диабета

Примечание: * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие при $p < 0,01$.

Уровень глюкозы крови

Динамика увеличения концентрации глюкозы в крови крыс после индукции сахарного диабета смешанного типа представлена на Рисунке 54.

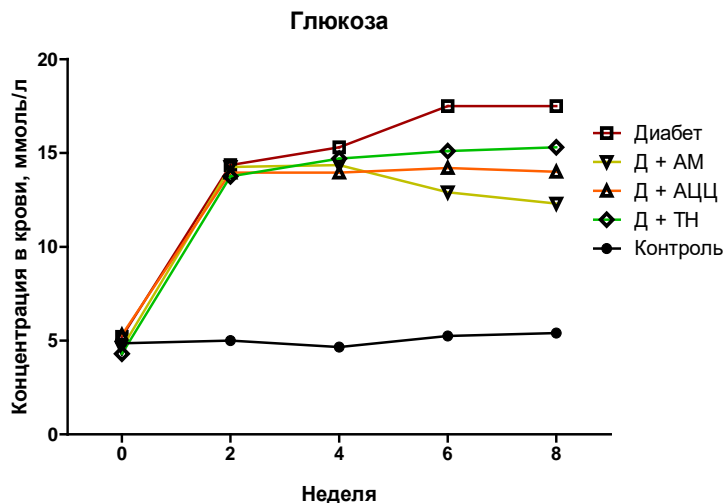


Рисунок 54. Динамика развития гиперглюкоземии у крыс после индукции сахарного диабета смешанного типа

Устойчивая гипергликоземия развивалась у животных начиная с 2 недели экспериментов. Показатель уровня глюкозы в крови со 2 недели до конца экспериментов был статистически значимо ($p < 0,001$ во всех случаях) выше в группе положительного контроля, а также у животных из группы введения адеметионина, ацетилцистеина и таурина при сравнении с показателем у животных из группы отрицательного контроля. Эффект от введения лекарственных средств начал проявляться к 6 неделе экспериментов. Уровень глюкоземии у животных, получавших ацетилцистеин или адеметионин был статистически значимо ($p < 0,001$ во всех случаях) ниже, чем у животных с диабетом без лечения как на 6, так и на 8 неделе лечения. У животных, которым вводили таурин, уровень глюкоземии был статистически значимо ниже, чем у животных с диабетом без лечения, и статистически значимо выше, чем у животных из группы лечения адеметионином (Рисунок 55). Эффект снижения уровня глюкозы в крови при введении лекарственных средств не был существенным – средние значения показателя к 8 неделе экспериментов в группе адеметионина, ацетилцистеина и таурина составили 13,9, 14,3 и 15,5 ммоль/л соответственно (против 17,5 ммоль/л в группе положительного контроля и 5,5 ммоль/л в группе отрицательного контроля).

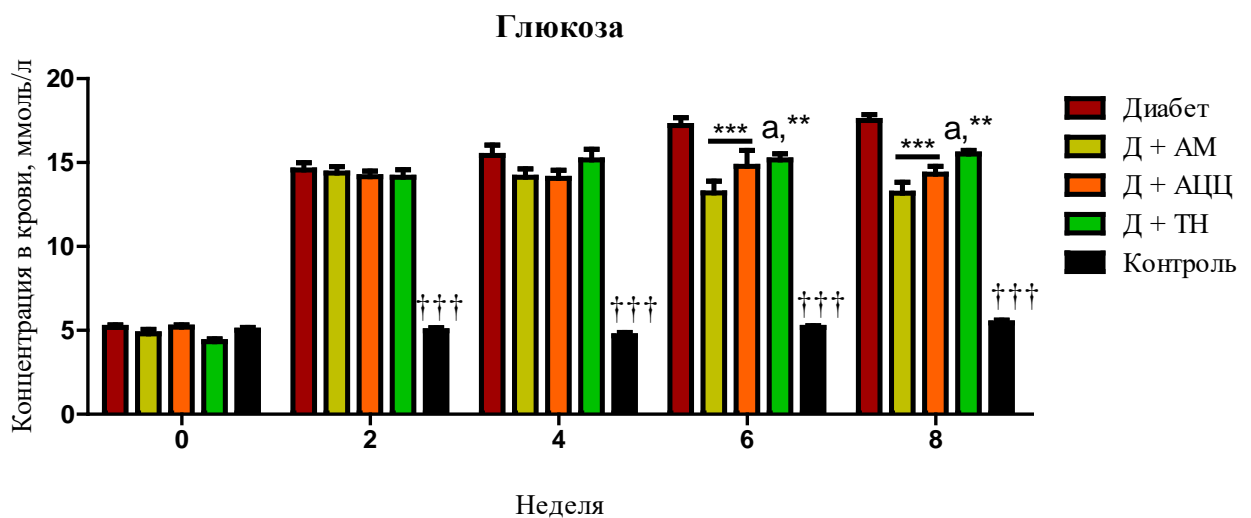


Рисунок 55. Зависимость уровня глюкозы крови крыс с сахарным диабетом смешанного типа в зависимости от вводимого лекарственного средства

Примечание: ** – статистически значимое отличие от показателей у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; *** – статистически значимое отличие от показателей у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; †† – статистически значимое отличие от показателей у животных из всех остальных групп при $p < 0,01$; ††† – статистически значимое отличие от показателей у животных из всех остальных групп при $p < 0,001$; а – статистически значимое отличие от показателя у животных, получавших адеметионин ($p < 0,05$).

6.2 Оценка выраженности нейропатии

Горячая пластина

Результаты сравнения длительности латентного периода в тесте «горячая пластина» представлены на Рисунке 56. Латентный период ноцицептивной реакции на момент начала экспериментального этапа не отличался у животных из всех групп. Показатели у животных с сахарным диабетом были статистически значимо ($p < 0,01$) ниже, чем показатель у интактных животных на протяжении всего периода измерения. Тем не менее, на 8 неделе экспериментов обнаружили статистически значимое ($p < 0,01$) увеличение показателя у животных, получавших ацетилцистеин, адеметионин или таурин относительно показателя у животных с диабетом, не получавших лекарственных средств. У животных, которым вводили адеметионин, показатель латентного периода на 8 неделе оказался статистически значимо выше, чем у животных, получавших таурин ($p < 0,05$). Таким образом, введение исследуемых лекарственных средств облегчало течение температурной гипералгезии в тесте «горячая пластина» у животных с сахарным диабетом смешанного типа. Наиболее выраженный эффект оказывал адеметионин.

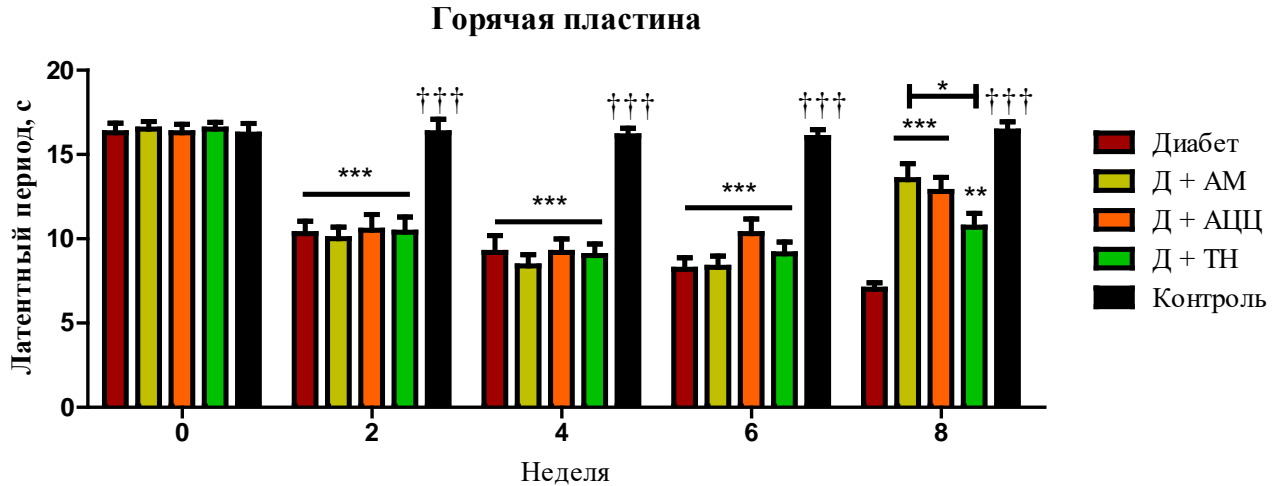


Рисунок 56. Динамика латентного периода в тесте «горячая пластина» у крыс с сахарным диабетом смешанного типа

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателей у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; *** – статистически значимое отличие от показателей у животных из группы отрицательного контроля при $p < 0,01$; ††† – статистически значимое отличие от показателей у животных из остальных групп при $p < 0,001$.

Отдергивание хвоста

Результаты холодовой гипералгезии представлены на Рисунке 57. Латентный период в тесте холодовой гипералгезии с отдергиванием хвоста, у всех животных с моделью сахарного диабета смешанного типа со 2 по 8 неделю был ниже, чем у интактных животных. На 2 неделе экспериментов, показатель у животных из группы таурина был статистически значимо ($p < 0,05$ во всех случаях) ниже, чем у животных из групп ацетилцистеина и адеметионина. Этот показатель в данной группе был ниже, чем у животных из группы положительного контроля, но данное отличие не было статистически значимым ($p > 0,05$). К 6 неделе латентный период отдергивания хвоста у животных, получавших лекарственные средства стал увеличиваться – показатель у животных из всех 3 опытных групп был статистически значимо ($p < 0,001$) выше, чем у животных без лечения. Наибольшую эффективность наблюдали у животных из группы адеметионина – показатель превосходил таковой у животных из группы

таурина и ацетилцистеина статистически значимо ($p < 0,05$ в обоих случаях). На 8 неделе экспериментов показатель в группе ацетилцистеина увеличился и перестал статистически значимо отличаться от показателя в группе адеметионина ($p > 0,05$). Показатель у животных из групп адеметионина и ацетилцистеина был статистически значимо ($p < 0,001$) выше, чем показатель у животных из группы положительного контроля. Антигипералгезирующее действие таурина к 8 неделе экспериментов снизилось и показатель латентного времени у животных соответствующей группы был статистически значимо ($p < 0,05$) ниже, чем у животных из двух других опытных групп, и не отличался статистически значимо от показателя у животных из группы положительного контроля ($p > 0,05$).

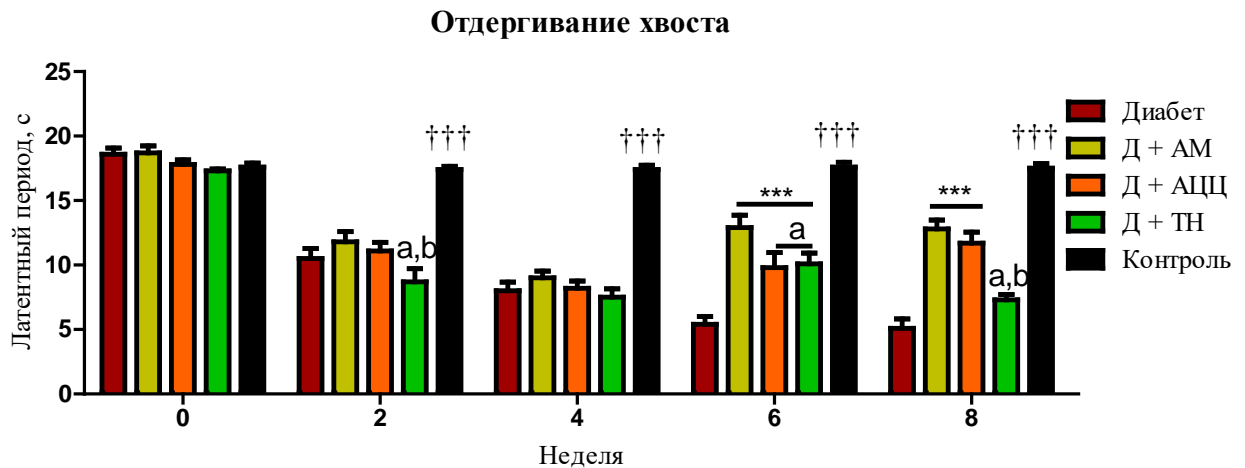


Рисунок 57. Латентный период в тесте холодной гипералгезии с отдергиванием хвоста

Примечание: ††† – статистически значимое отличие от показателей всех остальных групп при $p < 0,001$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; a – статистически значимое отличие от показателя у животных, получавших адеметионин ($p < 0,05$); b – статистически значимое отличие от показателя у животных, получавших ацетилцистеин ($p < 0,05$).

Тепловая аллодиния

В тесте тепловой аллодинии (модифицированная «горячая пластина») показатели у животных из разных групп в начале экспериментальной серии не отличались. Со 2 недели до конца экспериментальной серии показатель

латентного периода до момента ноцицептивного поведения у интактных животных был статистически значимо выше ($p < 0,01$), чем у животных из остальных групп. Показатель у животных из групп ацетилцистеина и адеметионина на 6 и 8 неделях измерения был статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем у животных с диабетом без лечения. Латентное время ноцицептивного поведения у животных из группы таурина было статистически значимо ($p < 0,05$) ниже, чем у животных из группы адеметионина на 6 и 8 неделе экспериментов, и было статистически значимо ($p < 0,01$) выше, чем у животных из группы положительного контроля только на 8 неделе экспериментов. Таким образом, ацетилцистеин и адеметионин облегчали течение тепловой аллодинии начиная с 6 недели после моделирования сахарного диабета смешанного типа (Рисунок 58).

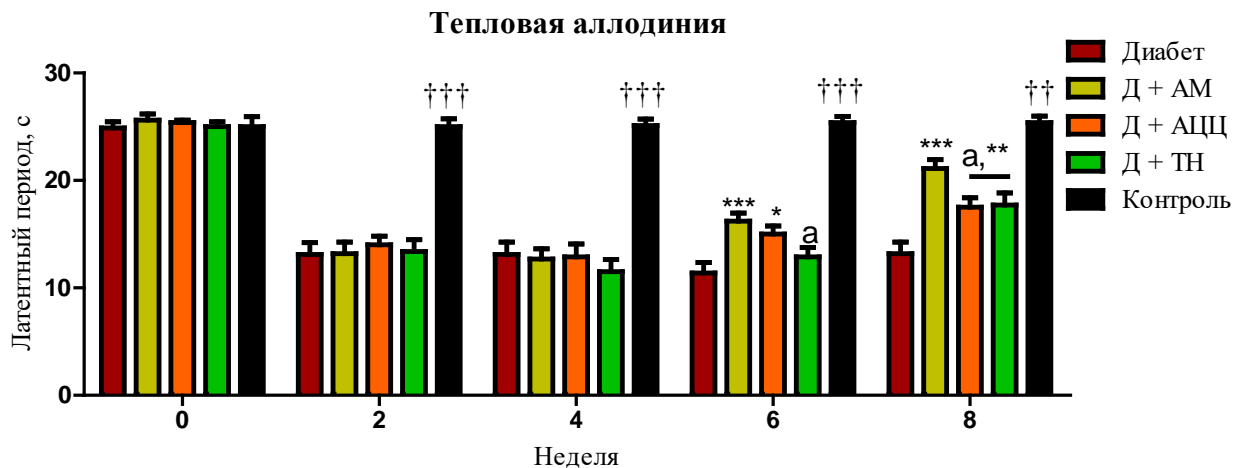


Рисунок 58. Динамика латентного периода в модифицированном тесте «горячая пластина» у крыс с сахарным диабетом смешанного типа

Примечание: †† – статистически значимое отличие от показателей всех остальных групп при $p < 0,01$; ††† – статистически значимое отличие от показателей всех остальных групп при $p < 0,001$; * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; а – статистически значимое отличие от показателя у животных, получавших адеметионин ($p < 0,05$).

Холодовая аллодиния

В тесте с распылением ацетона на лапу на 2 неделе экспериментов показатель у животных из группы адемиеонина и ацетилцистеина отличался статистически значимо ($p < 0,05$) от показателя у интактных животных. На 4 и 6 неделе показатель у животных с сахарным диабетом смешанного типа из каждой соответствующей группы был статистически значимо ($p < 0,001$) выше, чем у животных из контрольной группы. На 8 неделе показатель статистической значимости для групп адемиеонина и ацетилцистеина составил $p < 0,05$. На 6 неделе выраженное снижение длительности ноцицептивных действий наблюдали только в группе адемиеонина ($p < 0,01$ против положительного контроля). Показатели в двух остальных опытных группах оказались статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем в группе адемиеонина. На 8 неделе показатель у животных из групп адемиеонина и ацетилцистеина оказался статистически значимо ($p < 0,001$) ниже, чем у животных из группы положительного контроля. На протяжении всех экспериментов разница между показателями у животных из группы таурина и у животных из группы положительного контроля не была статистически значимой ($p > 0,05$ во всех случаях). На 8 неделе показатель у животных из группы таурина был статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем показатель у животных из группы адемиеонина (Рисунок 59).

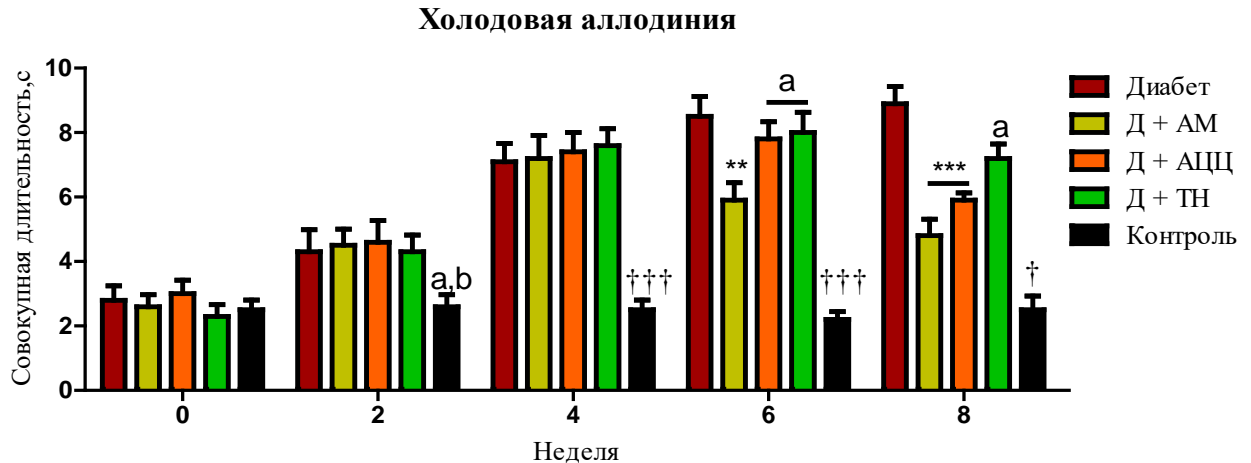


Рисунок 59. Динамика совокупной длительности ноцицептивного поведения у крыс с сахарным диабетом смешанного типа

Примечание: † – статистически значимое отличие от показателей всех остальных групп при $p < 0,05$; ††† – статистически значимое отличие от показателей всех остальных групп при $p < 0,001$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,001$; a – статистически значимое отличие от показателя у животных, получавших адеметионин ($p < 0,05$); b – статистически значимое отличие от показателя у животных, получавших ацетилцистеин ($p < 0,05$).

Механическая аллодиния

В тесте с филаментами фон Фрея отличие показателя каждой из групп животных с сахарным диабетом смешанного типа стали статистически значимо ($p < 0,001$ во всех случаях) отличаться начиная с 4 недели и до конца экспериментов. На 6 неделе обнаружили, что крысам из группы адеметионина и таурина, но не ацетилцистеина, требуется статистически значимо ($p < 0,05$) большее усилие филамента для формирования болевой реакции, чем животным с диабетом без лечения. К 8 неделе экспериментов показатель у животных, получавших адеметионин показатель в тесте был статистически значимо ($p < 0,05$) выше, чем у животных из группы положительного контроля, а наибольшее значение в тесте среди опытных групп было у животных, получавших ацетилцистеин ($p < 0,01$ против группы положительного контроля). Статистически значимых отличий между показателями у животных из групп ацетилцистеина, адеметионина или таурина не обнаружили ни на одном из измерений (Рисунок 60).

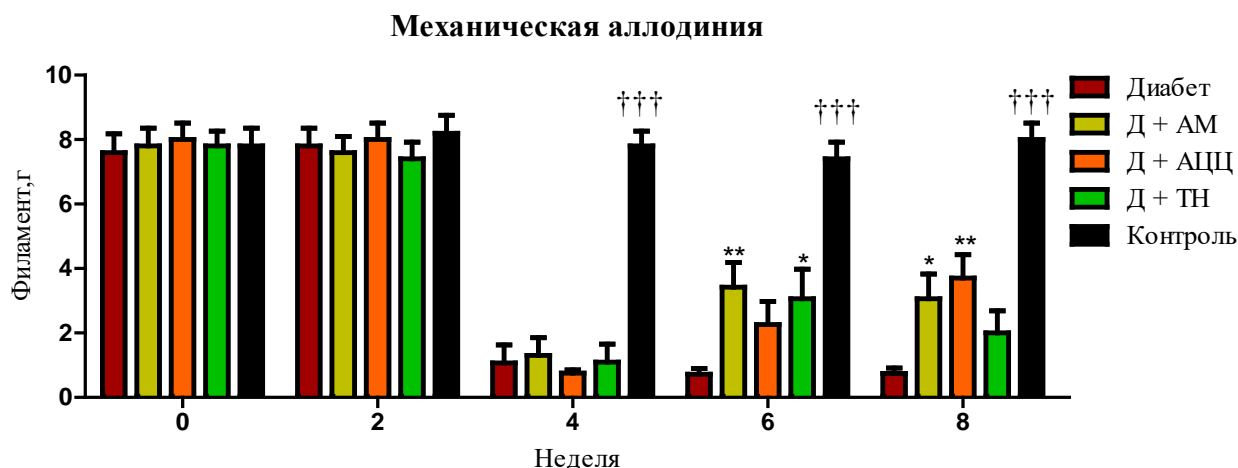


Рисунок 60. Динамика показателей механической аллодинии у крыс с сахарным диабетом смешанного типа

Примечание: ††† – статистически значимое отличие от показателей всех остальных групп при $p < 0,001$; * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,05$; ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля при $p < 0,01$.

6.3 Биохимическая оценка механизма действия

Сводные результаты оценки биохимических показателей представлены в Таблице 10.

Таблица 10.

Результаты статистической обработки данных биохимических исследований у крыс с сахарным диабетом

Неделя	Группа				
	Контроль	Диабет + ФР	Диабет + АМ	Диабет + АЦЦ	Диабет + ТН
Активность аспаратаминотрансферазы, Ед/л (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	123,6 \pm 17,97#	156,3 \pm 17,62 (+26,46%)	134,5 \pm 21,93 (+8,82%)	143,8 \pm 30,05 (+16,34%)	144,3 \pm 18,78 (+16,75%)
Активность аланинаминотрансферазы, Ед/л (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	29,50 \pm 15,31#	48,30 \pm 14,95 (+63,73%)	36,70 \pm 16,63 (+24,41%)	35,30 \pm 14,55 (+19,66%)	39,30 \pm 11,19 (+33,22%)

Неделя	Группа				
	Контроль	Диабет + ФР	Диабет + АМ	Диабет + АЦЦ	Диабет + ТН
Активность супероксиддисмутазы, Ед/мг белка (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	48,00 \pm 7,542	49,50 \pm 12,74 (+3,13%)	50,70 \pm 6,684 (+5,63%)	47,00 \pm 10,03 (-2,08%)	49,60 \pm 9,383 (+3,33%)
Содержание малонового диальдегида, нмоль/г ткани (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	0,6960 \pm 0,1740###	3,516 \pm 0,5801 (+405,17%)***	2,465 \pm 0,6905 (+254,17%)###***	2,312 \pm 0,537 (+232,18%)###***	2,583 \pm 0,6031 (+271,12%)###***
Содержание восстановленного глутатиона, мг/г ткани (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	120,8 \pm 16,20##	93,60 \pm 12,21 (-22,52%)	104,2 \pm 11,66 (-13,74%)	117,8 \pm 19,48 (-2,48%)##	108,8 \pm 18,58 (-9,93%)
Содержание триглицеридов, мг/г ткани (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	31,80 \pm 4,442###	47,10 \pm 11,04 (+48,11%)	31,90 \pm 6,332 (+0,31%)###	36,00 \pm 6,633 (+13,21%)###	31,30 \pm 4,029 (-1,57%)###
Содержание общего белка, мг/дл ткани (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение)					
8	7,264 \pm 0,9803	6,846 \pm 0,8217 (-5,75%)	7,661 \pm 0,8918 (+5,47%)	8,086 \pm 0,5921 (+11,32%)#	7,891 \pm 1,102 (+8,63%)

Примечание: # – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет без лечения) при $p < 0,05$; ## – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет без лечения) при $p < 0,01$; ### – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет без лечения) при $p < 0,001$; *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля (интакт) при $p < 0,001$.

Влияние на активность аланинаминотрансферазы

Активность АЛТ у животных из группы отрицательного контроля была статистически значимо ($p < 0,05$) ниже, чем у животных с сахарным диабетом без лечения. Показатель у животных из опытных групп статистически значимо не отличался от показателей у животных из групп положительного или

отрицательного контроля. Таким образом, введение ацетилцистеина, таурина или адеметионина не оказывало влияния на увеличение активности АЛТ у животных с сахарным диабетом смешанного типа (Рисунок 61).

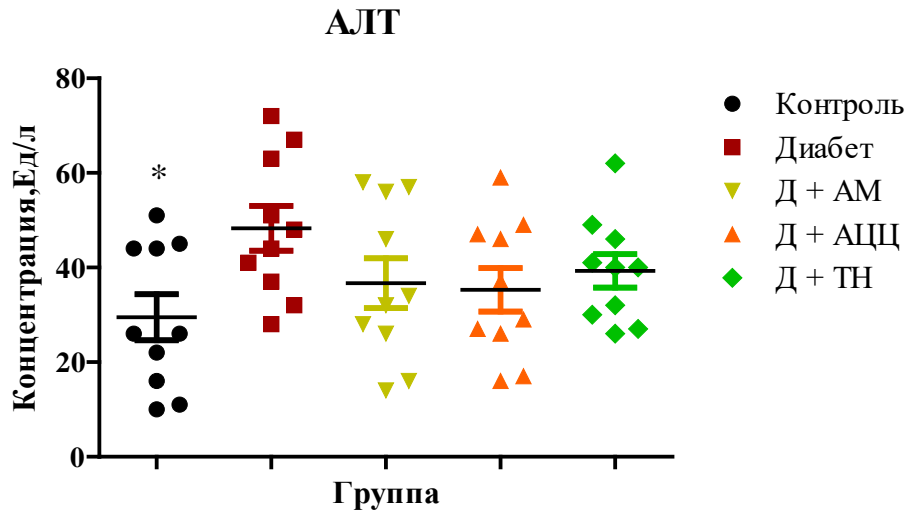


Рисунок 61. Концентрация аланинаминотрансферазы в крови у крыс через 8 недель после индукции сахарного диабета смешанного типа

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет) при $p < 0,05$; данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего.

Влияние на активность аспаратаминотрансферазы

Активность АСТ у животных из группы отрицательного контроля была статистически значимо ($p < 0,05$) ниже, чем у животных с сахарным диабетом без лечения. Показатель у животных из опытных групп статистически значимо не отличался от показателей у животных из групп положительного или отрицательного контроля. Таким образом, введение ацетилцистеина, таурина или адеметионина не оказывало влияния на увеличение активности АСТ у животных с сахарным диабетом смешанного типа (Рисунок 62).

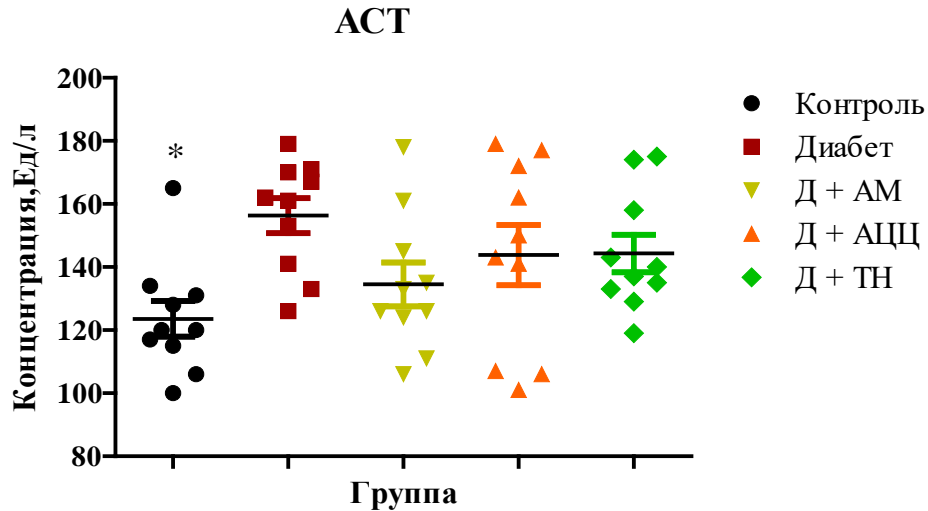


Рисунок 62. Концентрация аспартатаминотрансферазы в крови у крыс через 8 недель после индукции сахарного диабета смешанного типа

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет) при $p < 0,05$; данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего.

Влияние на концентрацию триглицеридов

Концентрация ТГ в печени у животных из группы положительного контроля была статистически значимо выше, чем у животных из группы отрицательного контроля. Показатели у животных, которым вводили ацетилцистеин, таурин или адеметионин (36, 31,3 и 31,9 мг/г соответственно) на 8 неделе введения были сопоставимы с показателем у животных из контрольной группы (31,8 мг/г против 47,1 мг/г в группе положительного контроля, Рисунок 63).

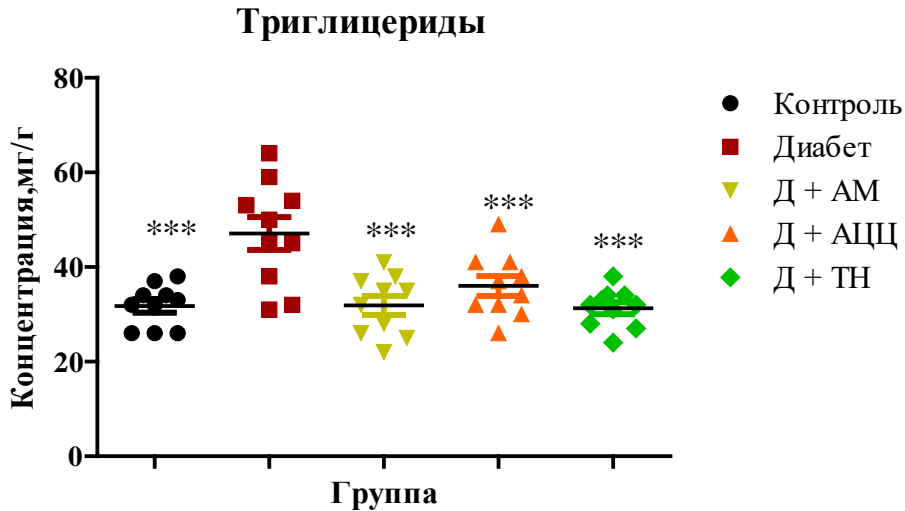


Рисунок 63. Концентрация триглицеридов в гомогенатах печени крыс через 8 недель после индукции сахарного диабета смешанного типа

Примечание: *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет) при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего.

Влияние на активность супероксиддисмутазы

Активность СОД в гомогенатах печени животных из групп положительного и отрицательного контроля не отличались статистически значимо ($p > 0,05$). Таким образом, изменение СОД не зависело от индукции сахарного диабета и/или введения лекарственных средств (Рисунок 64).

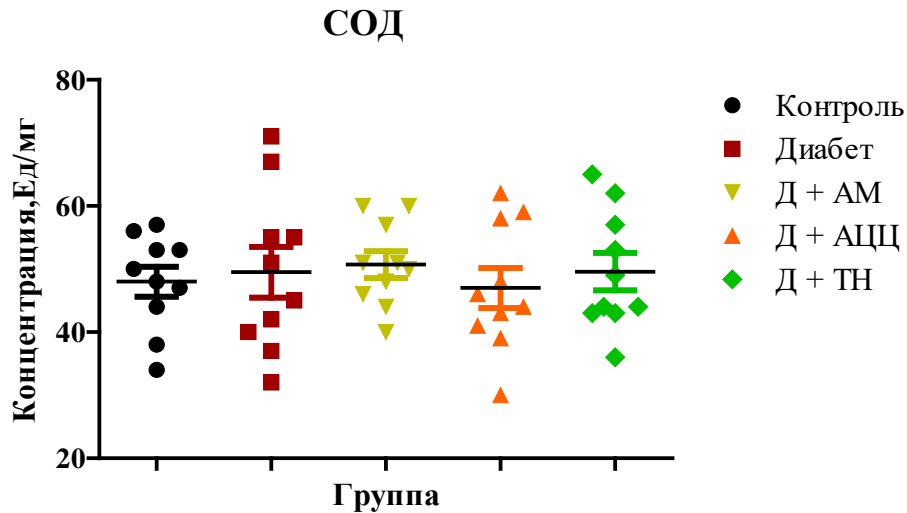


Рисунок 64. Активность супероксиддисмутазы в гомогенатах печени крыс через 8 недель после индукции сахарного диабета смешанного типа

Примечание: данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего.

Влияние на концентрацию глутатиона

Уровень глутатиона в гомогенатах печени крыс из группы отрицательного контроля был статистически значимо выше, чем у крыс, которым моделировали сахарный диабет без последующего лечения. Уровень глутатиона в печени крыс, которым вводили ацетилцистеин после индукции сахарного диабета, оказался статистически значимо выше, чем у животных без лечения. Таким образом, введение ацетилцистеина приводило к увеличению истощенных запасов глутатиона в печени с экспериментальным сахарным диабетом (Рисунок 65).

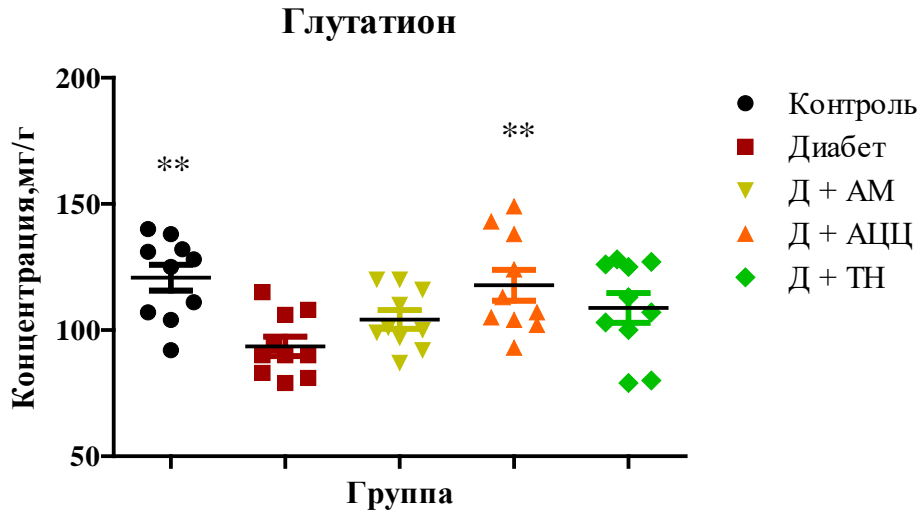


Рисунок 65. Концентрация глутатиона в гомогенатах печени крыс через 8 недель после индукции сахарного диабета смешанного типа

Примечание: ** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет) при $p < 0,01$; данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего.

Влияние на концентрацию малонового диальдегида

Концентрация малонового диальдегида у всех крыс, которым моделировали сахарный диабет, была статистически значимо ($p < 0,001$ во всех случаях) выше, чем у интактных животных. При этом у животных из опытных групп, которым вводили ацетилцистеин, адemetионин или таурин, концентрация малонового диальдегида была ниже, чем у животных без лечения. Таким образом, применение серосодержащих аминокислот снижало концентрацию малонового диальдегида в условиях индуцированного сахарного диабета смешанного типа, но в недостаточной для достижения показателей интактных животных мере (Рисунок 66).

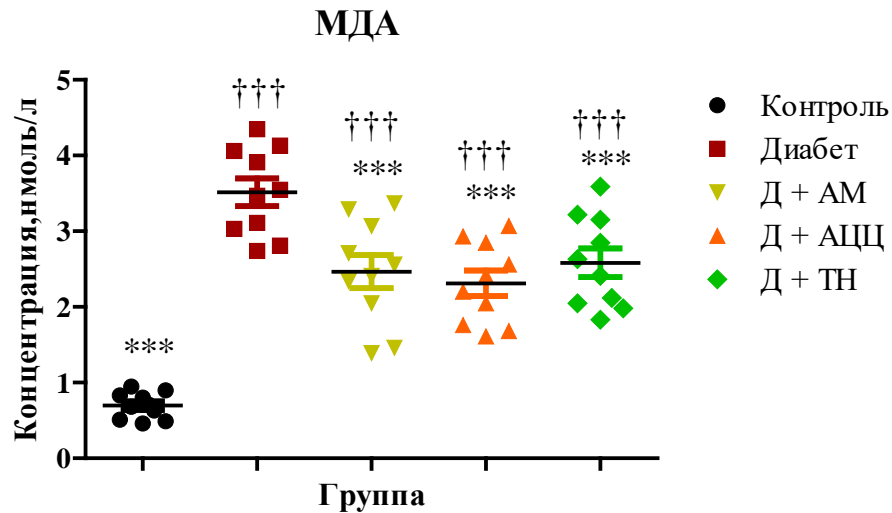


Рисунок 66. Концентрация малонового диальдегида в гомогенатах печени крыс через 8 недель после индукции сахарного диабета смешанного типа

Примечание: *** – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет) при $p < 0,001$; ††† – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы отрицательного контроля (интакт) при $p < 0,001$; данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего.

Влияние на концентрацию общего белка

Концентрация общего белка в крови не изменялась статистически значимо при моделировании сахарного диабета ($p > 0,05$ во всех случаях кроме ацетилцистеина, Рисунок 67). У животных, которым вводили ацетилцистеин обнаружили статистически значимое увеличение концентрации общего белка в крови относительно показателя у животных из группы положительного контроля. Полученный результат не является достаточным основанием для заключения о терапевтической эффективности лекарственного средства. Это изменение вероятно связано с увеличением количества GSH в крови.

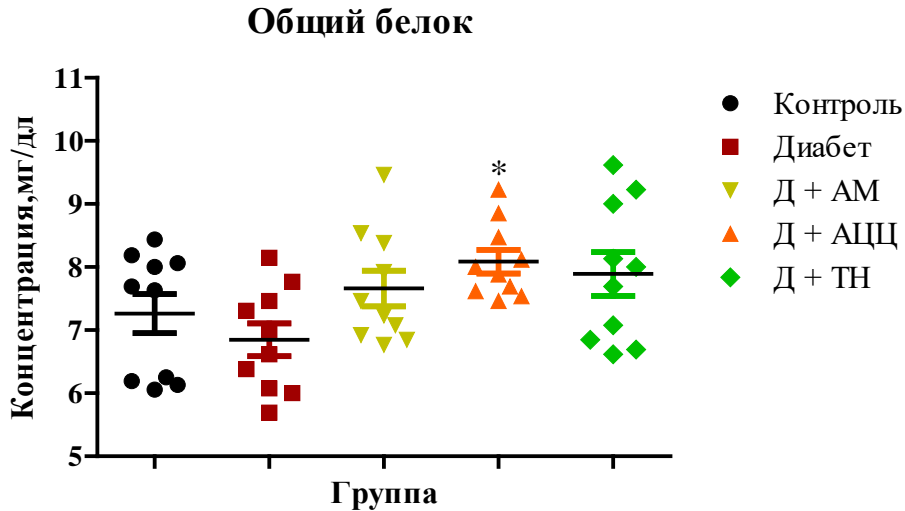


Рисунок 67. Концентрация общего белка в крови у крыс через 8 недель после индукции сахарного диабета смешанного типа

Примечание: * – статистически значимое отличие от показателя у животных из группы положительного контроля (диабет) при $p < 0,05$; данные представлены в виде индивидуальных значений, среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего.

6.4 Заключение

- Масса тела животных нарастала постепенно и сопоставимо во всех группах. К 6 неделе экспериментов, масса тела животных, получавших адеметионин была выше, чем у животных с моделью сахарного диабета смешанного типа без лечения. На 8 неделе экспериментов показатель у животных из группы отрицательного контроля был выше, чем у животных из группы положительного контроля, и животных, получавших таурин. Уже со 2 недели экспериментов уровень глюкозы в крови был существенно ниже у животных из группы положительного контроля, чем у животных с моделью сахарного диабета смешанного типа независимо от назначенного лечения. Таким образом, формирование сахарного диабета по предложенной методике стрептозотоциново-никотинамидной модели валидировано.
- Гипогликемическое действие ацетилцистеина, адеметионина и таурина наблюдали начиная с 6 недели после индукции сахарного диабета. До

окончания введения эффект снижения концентрации глюкозы в крови от введения исследуемых лекарственных средств был устойчивым.

- При проведении тестов по оценке выраженности нейропатии показатели у животных из группы положительного контроля и у животных из опытных групп не отличались до 6 недели экспериментов. На 6 неделе экспериментов исследуемые лекарственные средства оказывали гепато- и нейропротекторное действие и по их выраженности расположились в следующем порядке: адеметионин > ацетилцистеин > таурин. В тесте отдергивания хвоста, отражающем выраженность холодовой гипералгезии, показатели у животных из группы таурина не отличались статистически значимо от показателя у животных с диабетом без лечения. Механическая аллодиния наступала у животных с сахарным диабетом смешанного типа уже через 4 недели после его индукции. К 6 неделе введение адеметионина облегчало механическую аллодинию, но к 8 неделе статистически значимое отличие от показателя у крыс без лечения наблюдали в группах адеметионина и ацетилцистеина.
- Таким образом, наиболее выраженный и устойчивый эффект в отношении лечения диабетической нейропатии оказывал адеметионин. Введение ацетилцистеина также способствовало облегчению гипералгезии и аллодинии в соответствующих тестах, но в меньшей степени при наличии устойчивого эффекта. Таурин оказывал действие выборочно, его эффект был наименее выраженным и неустойчивым.
- При биохимическом анализе крови и гомогенатов печени обнаружили, что исследуемые лекарственные средства не оказывают влияния на повышение уровня АСТ и АЛТ в крови крыс с диабетом. Индукция сахарного диабета смешанного типа на 8 неделе экспериментов не влияла на активность СОД в печени и концентрацию общего белка в крови. Введение адеметионина, ацетилцистеина и таурина существенно снижало концентрацию ТГ в печени и данные показатели были сопоставимы с показателем у здоровых

животных. Концентрация МДА в печени крыс с сахарным диабетом, получавших адеметионин, ацетилцистеин или таурин была ниже, чем у животных с диабетом без лечения, но выше, чем у интактных здоровых животных.

- Таким образом, несмотря на способность оказывать влияние на биохимические показатели, отражающие выраженность интоксикации, среди оцениваемых лекарственных средств явное нейропротекторное действие на течение диабетической нейропатии оказывал адеметионин и в меньшей степени – ацетилцистеин.

ГЛАВА 7. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ КОМБИНАЦИИ

7.1 Валидация

Введение этилового спирта (3 г/кг, в/б) приводило к развитию седативного эффекта. Животные засыпали в течение 2–3 минут на $8 \pm 0,5$ часов. Животных, которые засыпали через большой промежуток времени или спали дольше обозначенного времени, исключали из экспериментов.

После пробуждения, животные не демонстрировали активных действий. Все наблюдаемые поведенческие акты были на минимальном уровне: животные в основном не двигались, пребывая на одном месте (если передвигались, то очень медленно); на раздражительные стимулы (прикосновение к вибриссам, боковой толчок) практически не реагировали. По сравнению с интактной группой в тесте «открытое поле», после пробуждения крысы проявляли низкую двигательную и исследовательскую активность.

7.2 Поведенческие тесты

Открытое поле

Спустя 3 часа после лечения в контрольной группе (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида) в тесте «открытое поле» показатели были значительно ниже, чем в интактной группе. В группах, которые получили ацетилцистеин, янтарную кислоту, липоевую кислоту, пиридоксин или композицию перечисленных веществ, двигательная (Рисунок 68) и исследовательская активность (Рисунок 69) оказалась значительно выше, что свидетельствует об ускорении восстановления после алкогольной интоксикации.

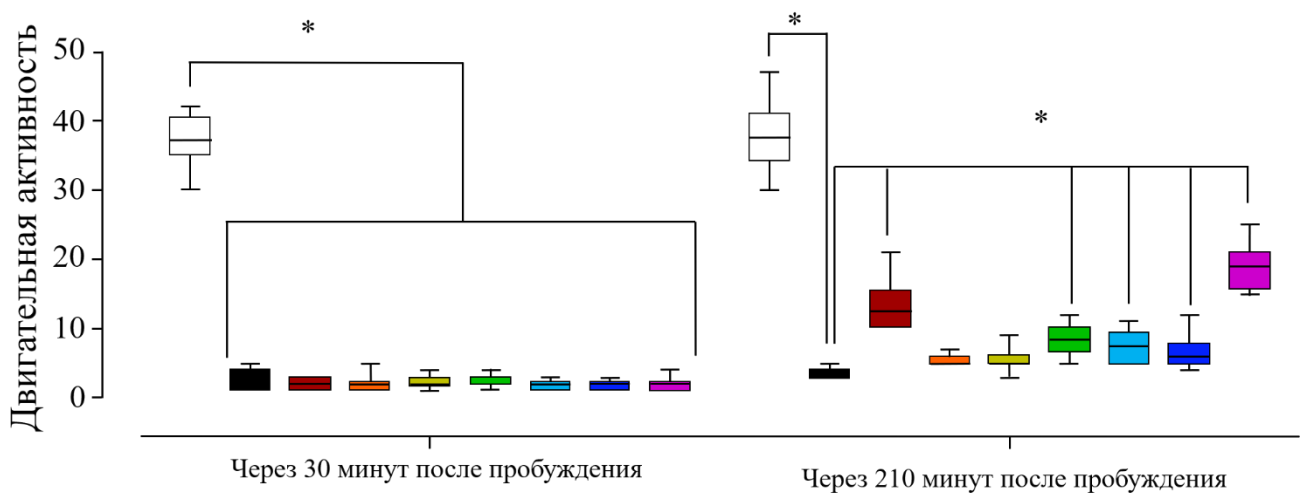


Рисунок 68. Показатели двигательной активности в тесте «открытое поле» у крыс после острой алкогольной интоксикации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

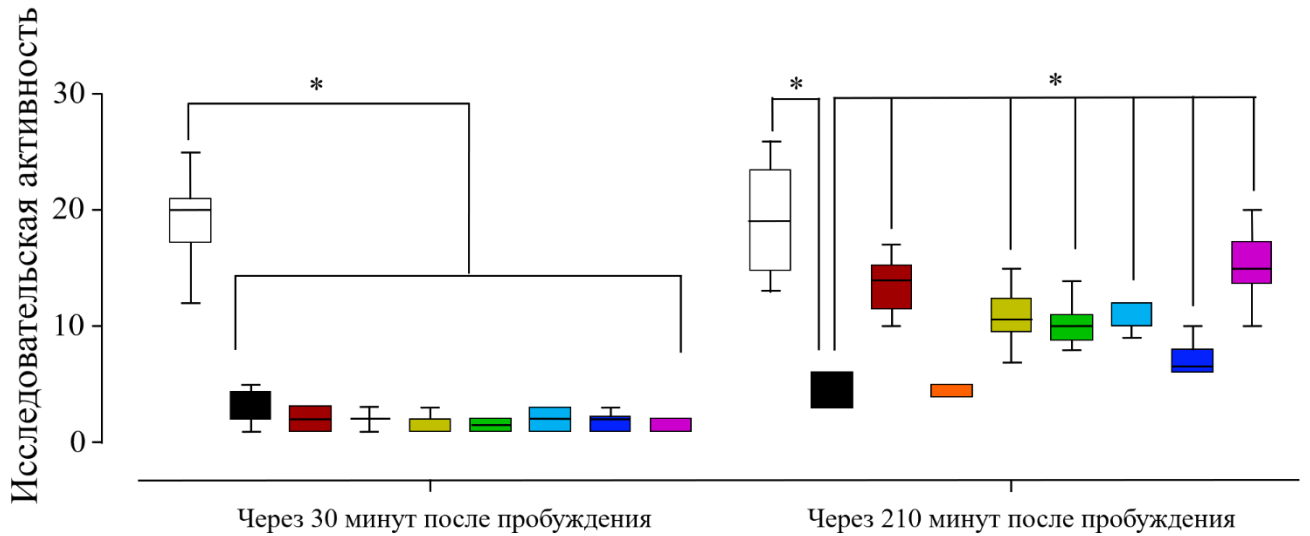


Рисунок 69. Показатели исследовательской активности в тесте «открытое поле» у крыс после острой алкогольной интоксикации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

Оценка по шкале психоневрологического дефицита Combs and D'Alecy

После пробуждения крысы проявляли признаки выраженного неврологического дефицита (по шкале Combs and D'Alecy), их степень незначительно уменьшилась спустя 180 минут в контрольной группе (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида) и значительно снизилась после введения ацетилцистеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина или их композиции (Рисунок 70).

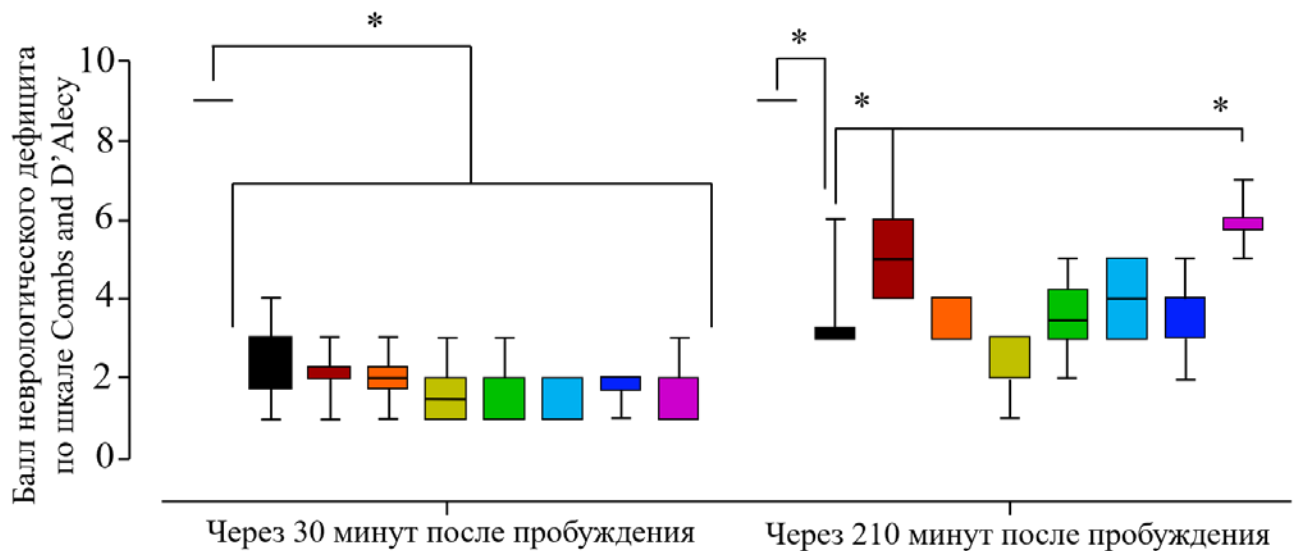


Рисунок 70. Показатели выраженности неврологического дефицита при оценке по шкале Combs and D'Alecy

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

Адгезивный тест

При проведении «Адгезивного теста» после пробуждения животные не реагировали на инородный предмет, закрепленный на волярной поверхности их лап, то есть их сенсорно-моторная функция была значительно снижена, что не устранялось пероральным введением плацебо и отдыхом в течение 3 часов. Пероральное введение ацетилцистеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина или их композиции (более выражено) привело к значительному улучшению сенсорно-моторной функции животных (Рисунок 71). Так 80% и 100% животных, которым перорально вводили ацетилцистеин или исследуемые композиции, при тестировании в адгезивном тесте, удалили инородный предмет с ладонной поверхности передних лап ($p < 0,05$, χ -квадрат).

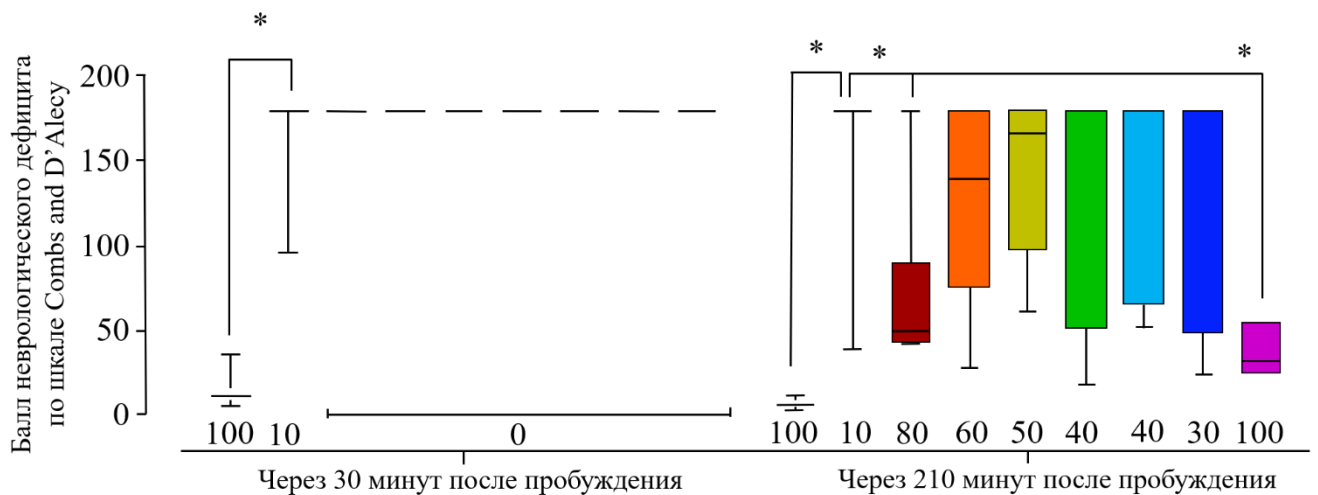


Рисунок 71. Время снятие инородного предмета с волярной поверхности передних лап

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки

среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

7.3 Биохимическая оценка механизма действия

Сводные данные результаты измерений биохимических показателей приведены в Таблице 11.

Таблица 11.

Результаты измерения основных биохимических показателей в плазме крови и гомогенатах печени, отражающих токсическое поражение печени и выраженность оксидантного стресса при лечении последствий острого отравления этанолом комбинацией аминокислот и метаболических лекарственных средств

Показатель	Группа			
	Отрицательный контроль	Положительный контроль	АЦЦ	Комбинация
АСТ	138,2 ± 9,6	158,3 ± 5,4 (+14,54%)*	135,9 ± 106 (-1,66%)#	127,5 ± 7,0 (-7,74%)#
АЛТ	26,7 ± 4,8	48,8 ± 3 (+82,77%)*	30,3 ± 5,2 (+13,48%)#	29,4 ± 5,8 (+10,11%)#
ТГ	20,2 ± 4,5	31,7 ± 2,9 (+56,93%)*	23,8 ± 5,9 (+17,82%)#	22,5 ± 4,5 (+11,39%)#
Глутатион	130,5 ± 7,2	90,5 ± 3,4 (-30,65%)*	117 ± 10,6 (-10,34%)#	133,3 ± 7,6 (+2,15%)#
СОД	62 ± 3,8	35,4 ± 5,6 (-42,90%)*	42,3 ± 5,9 (-31,77%)#	42,4 ± 4,6 (-31,61%)#
МДА	21,3 ± 1,4	30,9 ± 2,6 (+45,07%)*	23,1 ± 2,2 (+8,45%)#	21,3 ± 1,8 (+0%)#

Влияние на активность аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы

У животных контрольной группы (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида), активности АСТ и АЛТ в гомогенатах печени достигали 158,3 ± 5,4 Ед/л и 48,8 ± 3 Ед/л соответственно (против 138,2 ± 9,6 Ед/л и 26,7 ± 4,8 Ед/л соответственно у интактных животных; $p < 0,05$). В гомогенатах печени животных, которым после

алкоголизации перорально ввели ацетилцистеин или его композицию с указанными выше веществами, активность АСТ и АЛТ составила $135,9 \pm 106$ Ед/л, $30,3 \pm 5,2$ Ед/л и $127,5 \pm 7,0$ Ед/л, $29,4 \pm 5,8$ Ед/л соответственно ($p < 0,05$ относительно показателя у животных из группы плацебо). Полученные данные по определению активности АСТ и АЛТ представлены на Рисунках 72 и 73 соответственно.

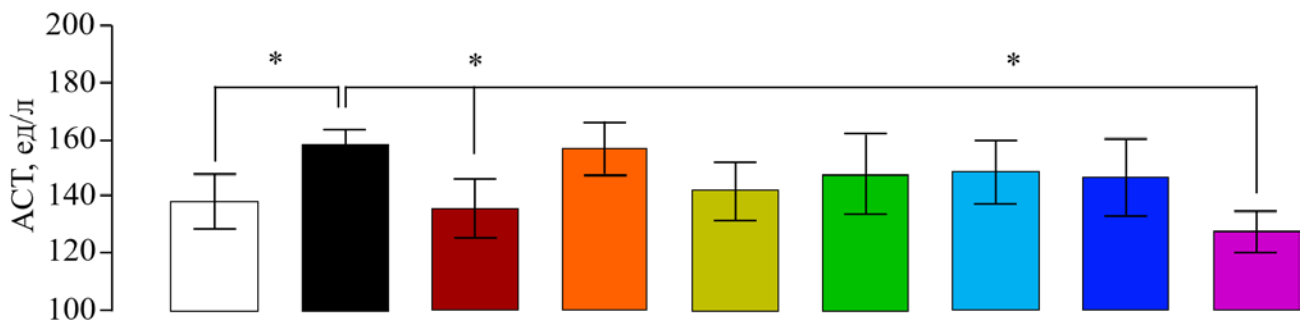


Рисунок 72. Активность аспаратаминотрансферазы в гомогенате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у intactных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

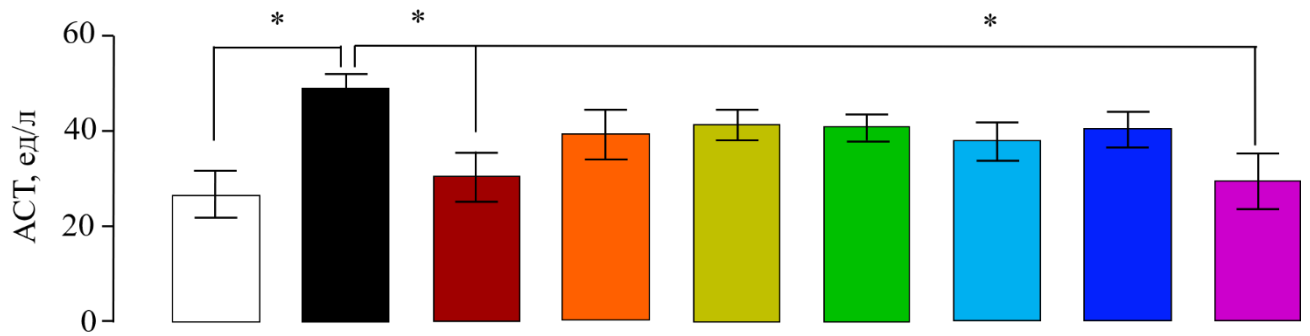


Рисунок 73. Активность аланинаминотрансферазы в гомогенате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

Влияние на концентрацию триглицеридов

У животных из контрольной группы содержание ТГ в гомогенате печени было выше, чем у интактных животных ($31,7 \pm 2,9$ мг/г ткани против $20,2 \pm 4,5$ мг/г ткани; $p < 0,05$). В гомогенатах печени животных, которым после алкоголя перорально вводили ацетилцистеин или его композицию с указанными выше веществами, содержание ТГ составило $23,8 \pm 5,9$ мг/г ткани и $22,5 \pm 4,5$ мг/г ткани соответственно ($p < 0,05$ относительно животных группы плацебо). Полученные результаты представлены на Рисунке 74.

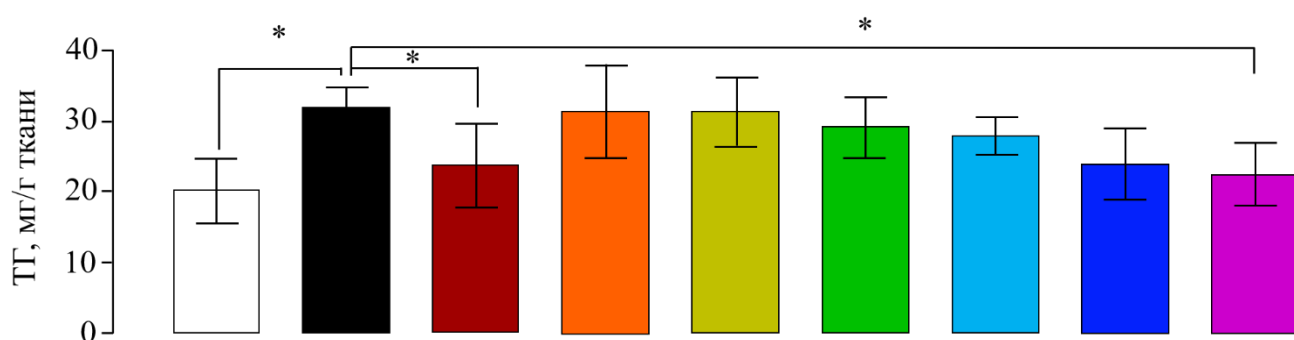


Рисунок 74. Концентрация триглицеридов в гомогенате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

Влияние на концентрацию глутатиона

У животных контрольной группы концентрация глутатиона была ниже, чем у животных из интактной группы ($90,5 \pm 3,4$ мг/г ткани против $130,5 \pm 7,2$ мг/г ткани; $p < 0,05$). В гомогенатах печени животных, которым после алкоголя перорально вводили ацетилцистеин или его композицию с указанными выше веществами, содержание глутатиона составило $117 \pm 10,6$ мг/г ткани и $133,3 \pm 7,6$ мг/г ткани соответственно ($p < 0,05$). Полученные результаты представлены на Рисунке 75.

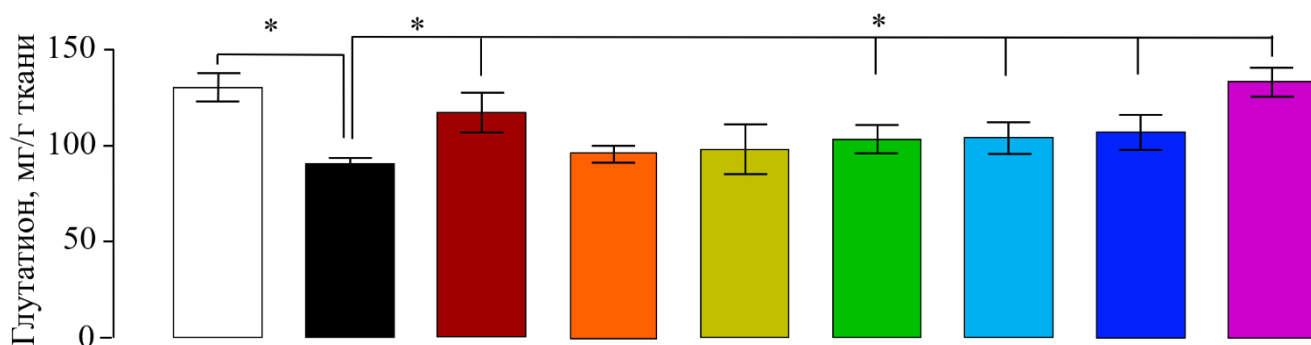


Рисунок 75. Концентрация глутатиона в гомогенате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

Влияние на активность супероксиддисмутазы

У животных группы плацебо в большей степени проявлялись нарушения в функционировании антиоксидантной системы гепатоцитов, о чем свидетельствует низкая активность СОД ($35,4 \pm 5,6$ Ед/мг против $62 \pm 3,8$ Ед/мг у интактных, $p < 0,05$). Функционирование антиоксидантной системы гепатоцитов животных, которым перорально ввели ацетилцистеин или его композицию с указанными выше веществами было близко к нормальному. Активность СОД в печени животных этих групп составила $42,3 \pm 5,9$ Ед/мг и $42,4 \pm 4,6$ Ед/мг соответственно ($p < 0,05$). Полученные данные представлены на Рисунке 76.

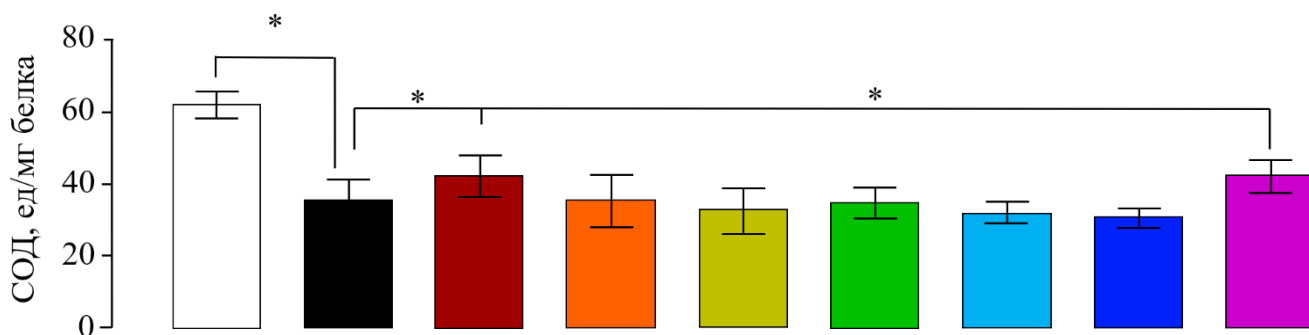


Рисунок 76. Активность супероксиддисмутазы в гомогенате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

Влияние на концентрацию малонового диальдегида

У животных контрольной группы, концентрация содержания МДА было высоким ($30,9 \pm 2,6$ против $21,3 \pm 1,4$ у интактных, $p < 0,05$). В гомогенатах печени животных, которым после алкоголя перорально вводили ацетилцистеин или его композицию с указанными выше веществами содержание МДА составляло $23,1 \pm 2,2$ и $21,3 \pm 1,8$ соответственно ($p < 0,05$). Полученные данные представлены на Рисунке 77.

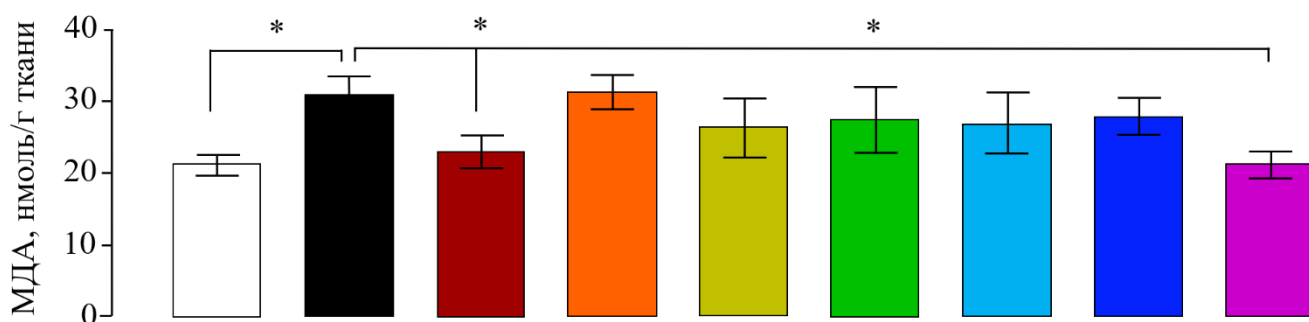


Рисунок 77. Концентрация малонового диальдегида в гомогенате печени крыс, подвергнутых острой алкоголизации

Примечание: белым цветом обозначены значения, полученные у интактных животных; черным цветом обозначены значения, полученные у животных из группы положительного контроля; серым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших ацетилцистеин после алкоголизации; красным цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших таурин после алкоголизации; желтым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших кофеин после алкоголизации; зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших янтарную кислоту после алкоголизации; сине-зеленым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших липоевую кислоту после алкоголизации; синим цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших пиридоксин после алкоголизации; фиолетовым цветом обозначены значения, полученные у животных, получавших композицию после алкоголизации; данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего; сравниваемые выборки обозначены линиями. * – статистически значимое отличие при $p < 0,05$.

7.4 Заключение

- Уровни АЛТ, АСТ, ТГ, глутатиона, СОД и МДА у животных, получавших ацетилцистеин или композицию на его основе, принимали промежуточные значения при сравнении с показателями у животных из групп положительного и отрицательного контроля. Различия между группами животных, получавших метаболитические лекарственные средства в отдельности, не были статистически значимыми при сравнении с показателями у животных из интактной группы, групп плацебо, ацетилцистеина и композиции не (за исключением положительного влияния пиридоксина, янтарной и липоевой кислот на уровень глутатиона, очевидно недостаточного для влияния на другие показатели).
- После биохимического анализа гомогенатов печени интактной группы и крыс, которым сначала вводили этанол, а потом одно из указанных выше веществ или их композицию, было установлено, что при введении ацетилцистеина нарушения печеночного метаболизма были выражены в минимальной степени и в еще меньшей при введении композиции ацетилцистеина с таурином, кофеином, янтарной кислотой, липоевой кислотой и пиридоксином.

ГЛАВА 8. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведено экспериментальное моделирование постинтоксикационного состояния, вызванного у крыс введением этанола, изучены эффекты ацетилцистеина в отношении поведенческих и неврологических нарушений, возникающих у крыс, перенесших острую алкогольную интоксикацию, а также изучено влияние ацетилцистеина на биохимические показатели, характеризующие антиоксидантный статус и функциональную активность гепатоцитов крыс, перенесших острую интоксикацию этанолом.

Терапевтическое пероральное применение ацетилцистеина снижало тяжесть постинтоксикационного состояния, вызванного у крыс введением высоких доз этанола, уменьшая выраженность неврологического дефицита, увеличивая исследовательскую активность и нормализуя некоторые показатели зоосоциального взаимодействия, а также препятствуя развитию окислительного стресса и токсических проявлений в печени.

В ранее проведенных исследованиях мы установили, что терапевтическое введение ацетилцистеина после острой алкогольной интоксикации значительно повышало эндотелий-зависимую индуцированную вазодилатацию. Блокада синтеза оксида азота приводила к одинаковой по выраженности степени снижения скорости мозгового кровотока. Профилактическое (до интоксикации) введение ацетилцистеина способствовало повышению уровня мозгового кровотока относительно контрольной группы и значимо более выраженному изменению мозгового кровотока в ответ на стимуляцию и блокаду синтеза оксида азота. Таким образом, введение ацетилцистеина оказывало положительное влияние на реактивность эндотелия сосудов, способствовало восстановлению вазодилатирующей функции в условиях алкогольной интоксикации.

Выполнено моделирование алкогольной зависимости у крыс с использованием описанной в научной литературе модели добровольной алкоголизации 15% раствором этанола. Развитие экспериментальной патологии сопровождалось постепенным увеличением медианной оценки по шкале mNSS у крыс, подвергнутых алкоголизации, однако случаев тяжелого неврологического дефицита не наблюдали. Неврологические нарушения в основном были представлены ухудшением координации движений в тесте хождения по перекладине и изменениями походки, что согласовывалось со снижением показателей в тесте удержания на вращающемся стержне.

Нейропатия, проявляющаяся возникновением механической и температурной аллодинии, а также холодовой и тепловой гипералгезии, по-видимому, происходила без связи с возможным алиментарным дефицитом тиаминa, поскольку динамика массы тела в экспериментальных группах в ходе серии экспериментов существенно не отличалась от таковой у животных из контрольной группы.

Спустя 4 недели с момента начала алкоголизации у животных из экспериментальных групп существенно увеличивался объем потребляемой воды в тесте питьевого предпочтения, что отражает формирование полидипсии. Спустя 8 недель от начала алкоголизации у крыс, не получавших терапии, существенно повышалось употребление 15% раствора этанола, что подтверждает формирование алкогольной зависимости.

Алкоголизация приводила к существенному изменению ряда биохимических показателей: через 8 недель от начала экспериментов у крыс, получавших этанол без исследуемых лекарственных средств, отмечали повышение активности АСТ, АЛТ и повышение содержания ТГ в гомогенатах печени, в совокупности подтверждающих жировое перерождение печени, обусловленное хронической интоксикацией, а также рост содержания МДА на

фоне истощения запасов глутатиона, свидетельствующий об активизации ПОЛ, которое может вносить существенный вклад в прогрессирование нейропатии.

Ежедневное пероральное введение ацетилцистеина, адеметионина или таурина оказывало протективное действие на прогрессирование алкогольной нейропатии. На фоне введения ацетилцистеина или адеметионина, но не таурина, медианная оценка по шкале mNSS у животных снижалась, а координация в тесте удержания на вращающемся стержне улучшалась, что свидетельствовало о способности данных лекарственных средств сглаживать проявления неврологического дефицита. Введение адеметионина, ацетилцистеина или таурина позволяло снизить ноцицептивное действие повышенных температур, но при оценке холодовой чувствительности эффект таурина был заметно менее выраженным, чем эффекты адеметионина и ацетилцистеина. Проводимая терапия несущественно увеличивала порог чувствительности в тесте механической аллодинии: у крыс, получавших ацетилцистеин или адеметионин, порог раздражимости повышался до ≥ 2 г, в то время как у крыс, которым вводили таурин, выраженных изменений не наблюдали. К моменту окончания терапии у животных, получавших таурин, уровень употребления этанола в тесте питьевого предпочтения не изменялся, в то время как у крыс, получавших ацетилцистеин или адеметионин, данный показатель снижался. Эффект адеметионина в данном тесте был наиболее выраженным: показатели, полученные у животных из данной группы, оказались сопоставимыми с таковыми у крыс из контрольной группы. Несмотря на сохранение полидипсии, у животных из данной группы тяга к алкоголю существенно уменьшилась, что сопровождалось снижением коэффициента предпочтения этанола до уровня, характерного для животных без алкогольной зависимости.

Ежедневное пероральное введение ацетилцистеина, адеметионина или таурина предотвращало нарастание выраженности нарушений работы ферментативных и неферментативных антиоксидантных систем гепатоцитов и сдерживало развитие функциональных расстройств печени, сопровождающихся

гибелью гепатоцитов и развитием жировой дистрофии, проявляющихся повышением активности АСТ и АЛТ в плазме крови и увеличением содержания ТГ в гомогенатах печени. В большинстве случаев эффекты исследуемых лекарственных средств были сопоставимыми, однако ацетилцистеин в большей степени, чем другие соединения, стимулировал восполнение пула GSH в гепатоцитах. Таким образом, на использованной экспериментальной модели все исследуемые лекарственные средства проявили гепатопротекторные и антиоксидантные свойства, но наиболее выраженный эффект оказывало введение ацетилцистеина и адеметионина, а таурин обладал меньшей активностью.

Проведена серия экспериментов по оценке эффективности ацетилцистеина, адеметионина и таурина при лечении нейропатии, возникшей на фоне сахарного диабета смешанного типа, индуцированного стрептозотоцином при предварительном введении никотинамида. Наибольшей эффективности в тестах по оценке температурной гипералгезии (горячая пластина, отдергивание хвоста) и тестах по оценке механической и температурной аллодинии удалось достичь у животных, которым вводили адеметионин. Введение ацетилцистеина также статистически значимо улучшало течение нейропатии у животных с диабетом, но выраженность данного эффекта была несколько ниже, чем у животных, получавших адеметионин.

Однократное введение ацетилцистеина и в большей степени его композиции с таурином, кофеином, янтарной кислотой, липоевой кислотой и пиридоксином восстанавливало или повышало содержание глутатиона в печени, препятствовало развитию окислительного стресса и дистрофических изменений. Названные изменения способствовали уменьшению тяжести алкогольной интоксикации и соответственно всех его психоневрологических проявлений, что подтверждается результатами поведенческих тестов по оценке неврологического дефицита.

Ацетилцистеин выступает в роли предшественника L-цистеина, из которого образуется один из основных антиоксидантов – глутатион. Глутатион содержит пептидную связь между аминогруппой цистеина и карбоксильной группой боковой цепи глутамата. Фактически глутатион не только защищает клетку от воздействия свободных радикалов, но и в целом определяет окислительно-восстановительные характеристики внутриклеточной среды. В клетке тиоловые группы находятся в восстановленном состоянии (SH) в концентрации около 5 ммоль/л, что приводит к восстановлению любой дисульфидной связи (S-S), образующейся между остатками цистеина внутриклеточных белков. При этом GSH превращается в окисленную форму (GSSG). GSSG восстанавливается под действием фермента глутатионредуктазы, который постоянно находится в клетке в активном состоянии и индуцируется при окислительном стрессе. Соотношение GSH и GSSG в клетке является одним из важнейших параметров, который определяет уровень окислительного стресса [145, 183].

Глутатион модулирует рецептор N-метил-D-аспартата (N-methyl-D-aspartate, NMDA), воздействуя на окислительно-восстановительный сайт. L-цистеин также служит предшественником цистина, который в свою очередь служит субстратом для антипортера цистин-глутамата на астроцитах, следовательно, увеличивает выброс глутамата во внеклеточное пространство, где он воздействует на рецепторы mGluR 2/3, а при более высоких дозах ацетилцистеина – mGluR 5 [75]. Данное наблюдение важно в контексте похмельного синдрома, который сопровождается депрессией нейромедиаторов, восстановление баланса которых может способствовать скорейшему восстановлению нейрокогнитивных функций. Ацетилцистеин оказывает некоторые противовоспалительные эффекты, возможно, посредством ингибирования транскрипционного фактора NF-κB и модуляции синтеза цитокинов [164], что объединяет его с адеметионином в механизме действия.

Следовательно, экзогенное введение ацетилцистеина восполняет сниженные после обильного употребления токсичных и условно токсичных

веществ (этанол), запасы глутатиона, который выполняет важнейшую функцию по обезвреживанию АФК, образующихся в том числе и при гипергликемии. Необходимо отметить, что глутатион вместе с GSSG и S-нитрозоглутатионом (GSNO) связывается с сайтом распознавания глутамата рецепторов NMDA и α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолепропионовой кислоты через их γ -глутамильные фрагменты. GSSG и GSNO могут являться эндогенными нейромодуляторами, оказывая церебропротективное и стимулирующее действие на ЦНС. При миллимолярных концентрациях они также могут модулировать окислительно-восстановительное состояние рецепторного комплекса NMDA [141]. Кроме того, было обнаружено, что глутатион связывается и активирует ионотропные рецепторы, которые отличаются от любых других рецепторов к возбуждающим аминокислотам. В связи с этим, поскольку N-ацетилцистеин является пролекарством глутатиона, он может модулировать все вышеупомянутые функции. L-цистеин служит предшественником цистина, который в свою очередь служит субстратом для антипортера цистин-глутамата на астроцитах, следовательно, увеличивает выброс глутамата во внеклеточное пространство, где он действует на рецепторы mGluR 2/3, а при более высоких дозах ацетилцистеина – mGluR 5.

По всей видимости, применение ацетилцистеина оказывает не только выраженное антиоксидантное действие (являясь предшественником глутатиона), но и может выступать в качестве нейротрансмиттера и нейромодулятора, регулируя окислительно-восстановительные процессы в рецепторном комплексе NMDA.

Помимо того, что адеметионин, как и ацетилцистеин, увеличивает запасы глутатиона [132, 187], он обладает противовоспалительным регуляторным действием, основанном на его влиянии на метилирование ДНК [186]. Так, введение адеметионина мышам с нарушением работы печени, вызванным введением ЛПС приводило к снижению синтеза TNF- α [185]. В условиях *in vitro*

доказано, что данное влияние приводит к усилению продукции NF-κB, усилению экспрессии NO-синтазы и продукции оксида азота [124].

Роль NO-ергической системы в регуляции углеводного обмена и функции эндотелия высока. Установлено, что β-клетки поджелудочной железы экспрессируют все три изоформы NOS. Нейрональная NOS обычно считается основной изоформой с многофункциональными свойствами в поджелудочной железе: она в основном обнаруживается в секреторных гранулах инсулина, но также в митохондриях и ядре [36, 119]. Оксид азота усиливает выработку инсулина как в условиях *in vivo* [153], так и *in vitro* [152]. Таким образом, адеметионин, усиливая синтез NO, способствует выделению инсулина, что может быть одной из причин его гипогликемического действия, обнаруженного в данном исследовании.

NADPH-оксидаза является ключевой молекулой в развитии эндотелиальной дисфункции. При всех состояниях, характеризующихся как интоксикации, приводящие к снижению запасов глутатиона, нарушается окислительно-восстановительный баланс, сопровождаемый увеличением образования АФК. Взаимодействие эндотелия сосудов с АФК приводит к снижению чувствительности гладкомышечных клеток к NO и снижению его вазодилатирующей функции. Также на фоне окислительного стресса снижается активность NOS и увеличивается деградация NO [163].

Таурин вообще не оказывал влияния на выраженность нейропатии у животных, подвергнутых длительной алкогольной интоксикации, и оказывал минимальное влияние на показатели тепловой аллодинии и гипералгезии (но не холодной или механической) у животных с моделью сахарного диабета. При этом таурин оказывал влияние на значения биохимических показателей, снижая уровень МДА и ТГ в печени крыс, подвергнутых снижению запасов глутатиона в печени. Важно отметить, что таурин в экспериментах с моделью сахарного диабета оказал явное гипогликемическое действие. Это наблюдение согласуется с

полученными ранее данными о том, что таурин оказывает протективное действие в отношении митохондрий и эндоплазматического ретикулума β -клеток поджелудочной железы. Так, таурин при предварительном введении крысам до индукции сахарного диабета с помощью стрептозотоцина [74] или аллоксана [178] препятствовал развитию гипергликемии.

Эти эффекты таурина вероятно связаны с тем, что при его введении изменяется экспрессия некоторых генов, регулирующих метаболизм глюкозы, в частности гена инсулина, PDX-1 (фактор транскрипции в кластере генов ParaHox, один из факторов развития поджелудочной железы и β -клеток) и переносчика ГЛЮТ-2 [213]. Установлено, что таурин снижает гипергликемию у крыс с инсулинрезистентным сахарным диабетом [205, 209]. Снижение запасов таурина может играть роль в развитии осложнений сахарного диабета, потому что его дефицит связан с нарушением функционирования некоторых тканей. Эти наблюдения распространяются на кошек, у которых метаболизм таурина играет существенную роль в работе фоторецепторных клеток [114] и сердечной деятельности [143]. В клинических исследованиях установлено, что таурин препятствует микроангиопатическим осложнениям сахарного диабета [27], снижая уровень модифицированных ЛПНП [167], и способствует улучшению моторики химически поврежденного пищевода, предположительно оказывая положительное влияние на центральную нейрорегуляцию и метаболизм поврежденных тканей [28]. Несмотря на то, что таурин обладает защитной функцией в отношении эндотелия, как и адеметионин, оказывая влияние на NO-зависимую вазодилатацию [167], таурин в первую очередь является соединением, участвующим в метаболизме жирных кислот и потому влияет на содержание ЛПНП и чувствительность лектиноподобных рецепторов окисленных ЛПНП [212]. Из этого следует, что прикладная точка его действия приходится на сердце [7, 211], почки [206] и сетчатку [86, 87, 95].

Таким образом, ацетилцистеин и адеметионин оказывали сопоставимое действие при длительной алкоголизации и сахарном диабете потому, что в

механизме их действия есть схожие звенья. Увеличение запаса глутатиона в печени при введении ацетилцистеина, с одной стороны, увеличивало метаболическую активность гепатоцитов, что позволяло более эффективно метаболизировать токсические продукты метаболизма этанола при постинтоксикационном состоянии и на модели хронической алкогольной интоксикации и препятствовало развитию кетоацидоза при сахарном диабете. С другой стороны, это приводило к снижению образования АФК, следствием которого является угнетение NO-зависимой вазодилатирующей функции эндотелия, играющей ключевую роль в развитии нейропатии при сахарном диабете. Влияние ацетилцистеина на функцию эндотелия проявлялось в меньшей степени, чем влияние адеметионина, так как ацетилцистеин не оказывает влияния на активность метилирования ДНК и не индуцирует работу NOS через данный механизм. NO-ергическое действие ацетилцистеина, по сути, ограничивается снижением количества АФК. Действие адеметионина в свою очередь в большей степени смещено в сторону влияния на NO-ергическую систему, играющую ключевую роль в развитии диабетической нейропатии. Согласно полученным результатам, адеметионин не увеличивал запасы глутатиона в печени настолько, чтобы можно было считать, что его эффект ограничен только механизмом повышения концентрации глутатиона. Так как для адеметионина установлена способность индуцировать NOS, его нейропротективное действие объясняется именно способностью улучшать вазодилатирующую функцию эндотелия. Таким образом, доказано, что оба соединения оказывают влияние на антиоксидантную и NO-ергические системы, но в разной степени выраженности.

Несущественное превосходство ацетилцистеина в эффективности терапии последствий длительной алкоголизации заключалось, по-видимому, в том, что в развитии алкогольной нейропатии роль метаболизма ацетальдегида и его прямого действия на нервную деятельность выше, чем роль NO-зависимой вазодилатации и повреждения сосудов. Превосходство адеметионина в эффективности терапии нейропатии, возникшей на фоне сахарного диабета, связано, наоборот, с большей

зависимостью выраженности гипералгезии и аллодинии от NO-ергической системы, влияние адеметионина на которую существеннее, чем у ацетилцистеина.

Таурин, оказывая влияние на метаболизм липидов и не оказывая существенного влияния на метаболизм ксенобиотиков в условиях окислительного стресса, облегчал токсическое поражение печени в экспериментах с хроническим введением этанола, при этом не оказывая существенного влияния на признаки неврологического дефицита. В сериях экспериментов с индуцированным сахарным диабетом смешанного типа таурин оказывал гипогликемическое действие и снижал выраженность токсического поражения печени, не влияя на количество глутатиона, а в тестах на температурную аллодинию и гипергликемию его введение привело к неоднозначным результатам об эффективности. По всей видимости, NO-ергическое действие таурина существенно ограничено, особенно в условиях недостаточности глутатиона, при которой его синтез снижается.

Кофеин стимулирует концентрацию внимания, входит в состав (иногда в сочетании с родственными ему веществами) энергетических напитков, которые часто употребляются с алкоголем. Исследования на животных показали способность метилксантинов, в том числе и кофеина, модулировать психофармакологические эффекты некоторых психоактивных веществ, таких как амфетамин [196], никотин [68], кокаин [91] и этанол [67].

Существует достаточно распространенное мнение о том, что кофеин может противодействовать опьяняющим эффектам алкоголя. Он косвенно модулирует активность многих нейромедиаторов и нейромодуляторов, в том числе дофамина, ацетилхолина или глутамата в различных областях мозга. Основное действие кофеина связано с антагонистической активностью в отношении аденозиновых рецепторов (A1 и A2A) в центральной нервной системе [67, 138]. Этанол увеличивает внеклеточные уровни аденозина за счет повышения его синтеза (этому способствует ацетат, образующийся в процессе метаболизма этанола), секреции и снижения поглощения в результате дисфункции переносчика

нуклеозидов [50]. Таким образом, кофеин может оказывать ободряющее действие в условиях посталкогольной интоксикации.

В экспериментальных исследованиях этанол и кофеин стимулировали двигательную активность с колоколообразной зависимостью наблюдаемого эффекта от дозы: низкие дозы ее стимулируют, а высокие – снижают [156]. Кофеин может влиять на двигательную активность двухфазным образом [195]. В низких дозах его острое введение может усилить стимулирующее действие этанола. Однако, когда дозы кофеина или этанола выше, отмечается выраженное подавляющее действие обоих веществ. Низкие дозы кофеина уменьшают дискоординационные эффекты этанола, а высокие их усиливают.

Аденозин опосредует опьяняющие эффекты этанола, такие как атаксия и седация [50]. Агонисты аденозина пролонгируют продолжительность сна, вызванного высокими дозами этанола, в то время как его антагонисты ее сокращают.

Совместное введение этанола и кофеина оказывает нейропротекторное действие на различных моделях поражения головного мозга [174, 169]. Однократное введение кофеинола (комбинация 10 мг/кг кофеина плюс 0,65 г/кг алкоголя, перорально) через 15 минут после черепно-мозговой травмы улучшило показатели животных в водном лабиринте Морриса. Эти данные имеют значение, поскольку известно, что риск развития сердечно-сосудистых осложнений увеличивается на фоне приема больших доз алкоголя и в состоянии постинтоксикационного состояния. Кофеин предотвращает потерю памяти, вызванную высокими дозами этанола. Учитывая потенциально благоприятные эффекты кофеина, его включили в состав исследуемой композиции.

Предварительное введение таурина замедляет вызванное этанолом повышение ацетальдегида у крыс и людей, не оказывая при этом влияния на уровень этанола в крови. В клиническом исследовании таурин использовали в дозе 20 мг/кг (за 1 час до и через 1 час после этанола), что привело к снижению

уровня ацетальдегида в крови на треть [137]. Таурин оказывает гепатопротекторное действие при алкогольных интоксикациях – снижает окислительный стресс, TNF- α , стеатоз. Таурин оказывал позитивное противовоспалительное и поддерживающее нормальную секрецию адипонектина действие на адипоциты, поврежденные этанолом [214]. Добавки таурина (1% в питьевой воде) предотвращают индукцию гипертонии у крыс, длительно получавших этанол (15% в питьевой воде) [159]. Таурин снижает концентрацию ацетальдегида в крови после перорального введения этанола [210]. Таурин на некоторых моделях оказывает антиатеросклеротический и антигипертензивный эффекты; ограниченные клинические данные свидетельствуют о том, что он также проявляет антигипертензивную активность [210], что важно, учитывая повреждающее действие высоких доз этанола в отношении сердечно-сосудистой системы. Также он оказывает стабилизирующее действие на тромбоциты, что ожидаемо снижает риск инфаркта миокарда или инсульта, и оказывает положительный инотропный эффект при застойной сердечной недостаточности [89]. В центральной нервной системе таурин препятствует развитию эксайтотоксичности, а его длительный прием препятствует возрастному снижению памяти у мышей [108]. Таким образом, таурин был выбран третьим компонентом комбинации.

Липоевая кислота поддерживает оптимальную активность альдегиддегидрогеназы 2 (АЛДГ-2), которая оказывает протективный эффект при окислительном стрессе, оказывающих негативное влияние на эффективность печеночной АЛДГ-2 и, следовательно, на метаболизм алкоголя и ацетальдегида. Несколько исследований на крысах показали, что введение липоевой кислоты защищает слизистую желудка, печень и развивающийся мозг от побочных эффектов алкоголя [54]. АЛДГ-2 обеспечивает метаболизм ацетальдегида и физиологически действует как антиоксидант, также участвует в метаболизме и обезвреживает определенные токсичные альдегиды, такие как 4-гидроксиноненаль (4-HNE), которые являются продуктами разложения

окисленных липидов мембран, что важно для защиты митохондрий от окислительного стресса [40, 41]. Курсовое профилактическое пероральное введение липоевой кислоты в дозе 100 мг/кг эффективно препятствует повреждению слизистой оболочки желудка в результате негативного воздействия этанол благодаря его антиоксидантному действию [54]. Липоевая кислота и таурин обладают защитным действием на моделях ишемии-реперфузии [47, 54]. Липоевая кислота повышает активность АЛДГ-2 в сердце, что оказывает протективное действие при постишемической реперфузии [47] и может быть перспективным средством для профилактики алкогольной кардиомиопатии [40].

Янтарная кислота представляет собой дикарбоновую кислоту, которая выполняет несколько биологических ролей. Она выступает качестве промежуточного продукта метаболизма, который участвует в производстве АТФ, и в качестве сигнальной молекулы, отражающей состояние клеточного метаболизма [229]. Сукцинат вырабатывается в митохондриях через цикл трикарбоновых кислот и функционирует в цитоплазме и во внеклеточном пространстве, изменяя паттерны экспрессии генов модулируя эпигенетический метаболизм или гормоноподобную передачу сигналов [229], связывая клеточный метаболизм, особенно в области образования АТФ. Передача сигналов сукцината часто происходит в ответ на состояние гипоксии. В печени сукцинат служит паракринным сигналом, выделяемым бескислородными гепатоцитами, и воздействует на звездчатые клетки через GPR91 [112]. Это приводит к активации звездчатых клеток и фиброгенезу. Сукцинат играет значительную роль в гомеостазе печени [112] и метаболизме алкоголя. Таким образом, липоевая и янтарная кислоты были включены в состав композиции в качестве веществ, обладающих выраженным антиоксидантным действием и некоторыми уникальными эффектами аналогично ацетилцистеину.

У пиридоксина и некоторых его производных (пиритиоксин и метадоксин) были отмечены гепатопротективные и нейропротективные свойства в условиях интоксикации. Внутримышечное введение пиридоксина крысам (187 мг/кг)

значительно снижало летальность от этанола и увеличивало LD₅₀ этанола с 4,46 до 5,19 г/кг ($p < 0,005$) [111]. Метадоксин (пиридоксинпирролидона карбоксилат) обладает гепатопротекторным действием у крыс в дозах 200 и 400 мг/кг при интоксикации алкоголем, тетрахлорметаном и парацетамолом, снижая окислительный стресс и предотвращая истощение сниженного уровня GSH [136]. Пиритинол (пиритиоксин) представляет собой комбинацию двух молекул витамина В6 (пиридоксина) с дисульфидной связью. Его фармакокинетический профиль имитирует профиль исходного соединения, легко проникает через гематоэнцефалический барьер и регулирует сигнальные пути различных нейротрансмиттеров, включая ацетилхолин, γ -аминомасляную кислоту, NMDA, а также действует как антиоксидант и противовоспалительный агент, снижая вязкость плазмы. Для пиритиоксина (пиритинола) была отмечена способность снижать выраженность симптомов постинтоксикационного состояния у людей в возрасте 21–40 лет при приеме вместе с алкоголем [126]. В экспериментальных исследованиях пиридоксин исследовался в широком диапазоне доз. При этом высокие дозы могут быть опасны при длительном применении, но, учитывая острый характер воспроизводимой патологии, доза 400 мг/кг была выбрана при монотерапии и 200 мг/кг в композиции.

Таким образом, комбинированное введение описанных выше веществ в дозах в 2 раза меньших, чем при их изолированном применении, эффективно ускоряло восстановление психоневрологических функций, нарушенных острым введением алкоголя. Необходимо отметить, что изолированное внутрижелудочное введение каждого из веществ, за исключением ацетилцистеина, не способствовало значимому снижению симптомов психоневрологического дефицита после острой интоксикации этанолом. Это очевидно связано с их недостаточной дозой, но при комбинировании этих веществ мы наблюдали значительную потенциацию протективного эффекта. Основным действующим веществом композиции, по нашему мнению, является ацетилцистеин, антиоксидантные эффекты которого потенцируются

пиридоксина, липоевой и янтарной кислотами, таурином, а введение кофеина оказывает психоактивирующее и психостимулирующее действие. Разработанная комбинация может применяться не только для предупреждения и/или коррекции постинтоксикационных психоневрологических нарушений, но и при состояниях, сопровождающихся нарушениями антиоксидантной системы организма.

ВЫВОДЫ

1. Проведено исследование фармакодинамики ацетилцистеина, адеметионина и таурина с оценкой биохимического механизма нейро- и гепатопротекторного действия этих серосодержащих лекарственных средств;

2. В экспериментах *in situ* в перфузируемой печени крысы, подвергнутой острой алкоголизации и экспериментах *in vitro* с оценкой изменений активности фракции S9 у крыс, подвергнутых хронической алкоголизации, установлено, что однократное внутрибрюшинное введение этанола в дозе 3 г/кг увеличивает содержание биохимических маркеров повреждения печени в ее перфузате (АСТ на 25%, АЛТ на 70,5%). при хроническом введении 15% водного раствора этанола наблюдали увеличение активности фракции S9, выделенной из печени животных, на 473%. Введение ацетилцистеина в модели острого отравления этанолом влияло только на активность АЛТ и концентрацию диеновых конъюгатов (снижение на 36 и 7,3% соответственно), а при хронической алкоголизации препятствовало увеличению активности фракции S9 и снижало ее активность на 6,5%;

3. Однократное пероральное введение ацетилцистеина в дозе 1 г/кг, адеметионина – в дозе 100 мг/кг или таурина в дозе 40 мг/кг после острого отравления этанолом препятствует развитию поведенческих нарушений в постинтоксикационном периоде, а также препятствует накоплению токсических метаболитов в печени, приводящему к нарушениям ее работы. Адеметионин облегчал неврологический дефицит на 40%, таурин – на 33%, а ацетилцистеин – на 27%. Исходя из гипотезы о связи нейро- и гепатопротекторного действия и восстановления запасов глутатиона провели дополнительную серию экспериментов с использованием комбинации на основе комбинации ацетилцистеина, таурина и метаболитических лекарственных средств;

4. Внутривентрикулярное введение ацетилцистеина в дозе 500 мг/кг/сут или адеметионина в дозе 50 мг/кг/сут существенно облегчало выраженность неврологического дефицита, признаков токсического поражения печени и нейропатии у животных, подвергнутых хронической алкоголизации. Адеметионин, ацетилцистеин и таурин препятствовали развитию нейропатии, подавляя тепловую аллодинию на 60, 33 и 34% соответственно, холодную гипералгезию – на 151, 129 и 43% соответственно и тепловую гипералгезию – на 93, 83 и 53% соответственно при сравнении с показателями у животных из группы положительного контроля. Внутривентрикулярное введение таурина в дозе 20 мг/кг/сут оказывало наименьшее среди оцениваемых соединений влияние на состояние животных, подвергнутых длительной алкоголизации;

5. В экспериментах по оценке влияния ацетилцистеина (500 мг/кг/сут), адеметионина (50 мг/кг/сут) или таурина (20 мг/кг/сут) при внутривентрикулярном введении на течение нейропатии, развивающейся у крыс при моделировании сахарного диабета смешанного типа, установлено, что все исследуемые вещества оказывали положительное влияние на биохимические показатели, отражающие интоксикацию, которые возникли на фоне сахарного диабета смешанного типа. К 6 неделе введение адеметионина облегчало механическую аллодинию на 373% относительно показателя в группе положительного контроля. К 8 неделе статистически значимое отличие от показателя у крыс без лечения наблюдали в группах адеметионина и ацетилцистеина (улучшение на 310 и 396% соответственно против 168% при использовании таурина);

6. На модели острой алкоголизации установлен синергизм комбинации, содержащей ацетилцистеин, таурин, кофеин, янтарную кислоту, липоевую кислоту и пиридоксин в отношении детоксикационного и антиоксидантного действия. Показатель неврологического дефицита улучшался в группе ацетилцистеина, таурина, янтарной кислоты, липоевой кислоты и пиридоксина на 66, 33, 16, 33 и 33% соответственно. Применение комбинации улучшило течение неврологического дефицита на 100%.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Целесообразно продолжить изучение других серосодержащих аминокислот на предмет наличия антиоксидантной, нейро- и гепатопротективной активности в условиях состояний, сопровождающихся снижением запасов глутатиона, таких как похмельный синдром, алкоголизм или сахарный диабет.
2. Целесообразно использовать описанные в работе методы и протоколы для проведения исследований эффективности серосодержащих аминокислот при других состояниях, сопровождающихся снижением запасов глутатиона, таких как отравление парацетамолом или токсическими компонентами ядовитых грибов (аманитины, фаллоидины, аманин).
3. Адеметионин, ацетилцистеин и таурин являются перспективными соединениями для дальнейшего доклинического изучения с целью разработки нового препарата для лечения похмелья или в качестве вспомогательного лекарственного средства при лечении и профилактике нейропатии, развившейся на фоне сахарного диабета.
4. Целесообразно дальнейшее клиническое изучение эффективности ацетилцистеина, таурина, адеметионина или их комбинаций с метаболическими лекарственными средствами у пациентов, находящихся в состоянии сниженного запаса глутатиона в печени, в первую очередь у пациентов с сахарным диабетом II типа.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АЛДГ-2	Альдегиддегидрогеназа 2
АЛТ	Аланинаминотрансфераза
АСТ	Аспаратаминотрансфераза
АТФ	Аденозинтрифосфат
АФК	Активные формы кислорода
АЦЦ	Ацетилцистеин
ДТНБ	5,5-дитиобис-(2-нитробензойная кислота)
МДА	Малоновый диальдегид
НАД	Никотинамидадениндинуклеотид
НАДН	Восстановленный никотинамидадениндинуклеотид
ПК-С	Протеинкиназа С
ПОЛ	Переокисное окисление липидов
СОД	Супероксиддисмутаза
ТБК	Тиобарбитуровая кислота
ТГ	Триглицериды
УРПИ	Условная реакция пассивного избегания
ЦНС	Центральная нервная система
ЭДТА	Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты
СYP	Цитохром P450 (cytochrome P450)
GSH	Восстановленная форма глутатиона
GSNO	Нитрозоглутатион (S-nitrosoglutathione)
GSSG	Окисленная форма глутатиона
LD ₅₀	Медианная летальная доза (median lethal dose)
mNSS	Модифицированная шкала неврологического дефицита (modified Neurological Severity Scores)
NMDA	N-метил-D-аспартат (N-methyl-D-aspartate)
NOS	Синтаза оксида азота (nitric oxide synthase)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алкоголь // Всемирная организация здравоохранения : сайт. – URL: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/alcohol> (дата обращения: 23.05.2020).
2. Анциферов, М.Б. Роль таурина и его дефицита в организме человека и животных / М.Б. Анциферов // Фарматека. – 2012. – Т. 16, № 249. – С. 60-78
3. Балаболкин, М.И. Диабетология: для использования в учебном процессе на кафедре послевузовского и дополнительного профессионального образования / М.И. Балаболкин. – Учебная литература. – Москва : Медицина, 2000. – 671 с.
4. Балаболкин, М.И. Лечение сахарного диабета и его осложнений: рук. для врачей: учеб. пособие для системы послевуз. проф. образования врачей / М.И. Балаболкин; Е.М. Клебанова, В.М. Креминская. – Учебная литература для слушателей системы последипломного образования. – Москва : Медицина, 2005. – 510 с.
5. Балаболкин, М.И. Роль окислительного стресса в патогенезе диабетической нейропатии и возможность его коррекции препаратами α -липоевой кислоты / М.И. Балаболкин, В.М. Креминская, Е.М. Клебанова // Проблемы Эндокринологии. – 2005. – Т. 3, № 53. – С. 22-32.
6. Влияние ацетилцистеина на психоневрологические показатели крыс после острой интоксикации этанолом / Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Л.П. Кнышова [и др.] // Вестник Волгоградского Государственного Медицинского Университета. – 2019. – № 3 (71). – С. 110-115. – ISSN 1994-9480
7. Влияние бисопролола и таурина на обратимую дисфункцию миокарда и толерантность к физической нагрузке у больных с ХСН ишемической этиологии / В.И. Петров, Д.Л. Тарасов, Н.В. Рязанцева [и др.] // Тезисы

- Ежегодной Всероссийской конференции Общества специалистов по сердечной недостаточности. – 2003. – № 1. – С. 7.
8. Влияние тиоктовой кислоты на глутатионовую антиоксидантную систему и активность некоторых НАДФН-генерирующих ферментов в сердце крыс при хронической алкогольной интоксикации / Т.Н. Попова, Х. Аллекрад, Т.И. Рахманова [и др.] // Химико-Фармацевтический Журнал. – 2011. – Т. 45, № 10. – С. 7-8. – ISSN 0023-1134
 9. Влияние экспериментальной хронической эндогенной алкогольной интоксикации на микрофлору кишечника / Л.П. Кнышова, С.В. Поройский, А.Т. Яковлев, Е.И. Морковин // Вестник Волгоградского Государственного Медицинского Университета. – 2016. – Т. 4, № 60. – С. 40-44. – ISSN 1994-9480
 10. Головачева, В.А. Лечение диабетической и алкогольной полинейропатий: возможности и перспективы фармакотерапии / В.А. Головачева, И.А. Строков // РМЖ. – 2014. – Т. 22, № 16. – С. 1193-1197. – ISSN 2225-2282.
 11. Здравоохранение в России // Федеральная служба государственной статистики : сайт. – URL: <https://rosstat.gov.ru/folder/210/document/13218> (дата обращения: 04.01.2024)
 12. Изменения кишечной микробиоты и биотрансформации ивабрадина у крыс при экспериментальной алкоголизации / Б.Е. Толкачев, Е.И. Морковин, Л.П. Кнышова [и др.] // Самарский Научный Вестник. – 2017. – Т. 6, № 3 (20). – С. 47-51.
 13. Изменения микробиоты кишечника при хронической алкоголизации / А.Т. Яковлев, С.В. Поройский, Л.П. Кнышова, Е.И. Морковин // Самарский научный вестник. – 2017. – Т. 6, № 3. – С. 64-67.
 14. Клинические рекомендации. Алкогольная болезнь печени у взрослых // Рубрикатор клинических рекомендаций : сайт. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/711_1 (дата обращения: 05.05.2022).

15. Клинические рекомендации. Цирроз и фиброз печени // Рубрикатор клинических рекомендаций : сайт. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/recomend/715_1 (дата обращения: 05.05.2022).
16. Коррекция психоневрологических проявлений алкогольного похмелья у крыс ацетилцистеином / Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко [и др.] // Фармация и Фармакология. – 2019. – Т. 7, № 5. – С. 291-299.
17. Коррекция токсических эффектов этанола у крыс при помощи перорального введения ацетилцистеина / Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Д.В. Куркин [и др.] // Волгоградский Научно-Медицинский Журнал. – 2019. – № 4. – С. 43-46. – ISSN 2658-4514
18. Критерии достоверности воспроизведения экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации / Л.П. Кнышова, С.В. Поройский, А.Т. Яковлев [и др.] // Волгоградский Научно-Медицинский Журнал. – 2016. – Т. 4, № 52. – С. 48-51. – ISSN 2658-4514
19. Курушина, О.В. Алкогольная полинейропатия: пути диагностики и терапии / О.В. Курушина, А.Е. Барулин, Е.П. Черноволенко // Медицинский Совет. – 2019. – № 1. – С. 58-63. – ISSN 2079-701X
20. Курушина, О.В. Применение парентеральных комплексов витаминов группы В в терапии полинейропатии / О.В. Курушина, А.Е. Барулин, О.И. Агаркова // Медицинский Совет. – 2018. – № 18. – С. 62-66.
21. Миронов, А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А.Н. Миронов. – Москва : Гриф и К, 2012. – 944 с. – ISBN 978-5-8125-1466-3.
22. Морковин, Е.И. Оценка психоневрологического дефицита у грызунов: основные методы / Е.И. Морковин, Д.В. Куркин, И.Н. Тюренков // Журнал Высшей Нервной Деятельности им. И. П. Павлова. – 2018. – Т. 68, № 1. – С. 3-15. – ISSN 0044-4677
23. Неврологический статус и предпочтение этанола у крыс при формировании алкогольной зависимости / А.С. Тарасов, Л.П. Кнышова, Е.И. Морковин [и др.]

- др.] // Казанский Медицинский Журнал. – 2018. – Т. 99, № 3. – С. 446-449. – ISSN 0368-4814
24. Оптимизация метода выделения микросомальной фракции печени крыс / Е.И. Морковин, А.М. Доценко, А.В. Стрыгин, А.С. Тарасов // Волгоградский Научно-Медицинский Журнал. – 2017. – № 1. – С. 42-44. – ISSN 2658-4514
25. Петров, В.И. Возбуждающие аминокислоты / В.И. Петров, Л.Б. Пиотровский, И.А. Григорьев. – Волгоград : Волгоградская Медицинская Академия, 1997. – 166 с.
26. Петров, В.И. Гепатопротекторное действие таурина у больных хроническими диффузными заболеваниями печени / В.И. Петров, М.Ю. Фролов // Фундаментальные исследования как основа создания лекарственных средств. – 1995. – № 1. – С. 331.
27. Петров, В.И. Опыт применения таурина при лечении больных сахарным диабетом типа 2 / В.И. Петров, В.В. Наумов // Эндокринология: Новости. Мнения. Обучение. – 2014. – № 1 (5). – С. 44-53.
28. Петров, В.И. Применение пикамилона и таурина в подготовке больных к пластике пищевода после химических ожогов / В.И. Петров, Б.В. Краснов, А.И. Саутенко // Актуальные проблемы современной хирургии . – Волгоград : Волгоградская Медицинская Академия, 2001. – С. 8-9.
29. Петров, В.И. Таурин. Физиологическая роль в организме и перспективы создания новых сердечно-сосудистых и психотропных препаратов / В.И. Петров, И.А. Григорьев // Крово-, лимфообращение и иммунокомпетентные органы . – Волгоград : Волгоградский Государственный Медицинский Университет, 1993. – С. 32-39.
30. Поведенческое фенотипирование крыс при экспериментальном моделировании хронического нарушения мозгового кровообращения / Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Д.В. Верхоляк [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, № 7. – С. 69-73.

31. Таурин как модулятор каталитической активности цитохрома P450 3A4 / В.В. Шумянцева, А.А. Махова, Т.В. Булко [и др.] // Биохимия. – 2015. – Т. 80, № 3. – С. 439-448.
32. Фокальная ишемия головного мозга у крыс на фоне недостаточности эстрогенов и эндотелиальной дисфункции / А.А. Литвинов, Е.В. Волотова, Д.В. Куркин [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, № 8. – С. 56-62. (Спецвыпуски) – DOI 10.17116/jnevro20171178256-62
33. Хныченко, Л.К. Фармакологическая активность аминокислоты таурина / Л.К. Хныченко, Н.С. Сапронов // Обзоры по Клинической Фармакологии и Лекарственной Терапии. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 15-19. – ISSN 1683-4100
34. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 / А.А. Спасов, М.П. Воронкова, Г.Л. Снигур [и др.] // Биомедицина. – 2011. – № 3. – С. 12-18. – ISSN 2074-5982
35. Экспериментальное обоснование применения таурина и глутаминовой кислоты при сердечной недостаточности / Г.В. Ковалев, В.И. Петров, К.Г. Гурбанов [и др.] // Фармакология Кардиотонических Средств . – Москва : Научно-исследовательский институт фармакологии АМН СССР, 1988. – С. 106-110.
36. A neuronal isoform of nitric oxide synthase expressed in pancreatic beta-cells controls insulin secretion / A. D. Lajoix, H. Reggio, T. Chardès [et al.] // Diabetes. – 2001. – Vol. 50, № 6. – P. 1311-1323.
37. A review of mechanisms underlying the protective effects of natural compounds against arsenic-induced neurotoxicity / N. Najafi, R. Rezaee, A. W. Hayes, G. Karimi // Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine. – 2023. – Vol. 36, № 4. – P. 799-813.
38. A systematic review of the next-day effects of heavy alcohol consumption on cognitive performance / C. Gunn, M. Mackus, C. Griffin [et al.] // Addiction (Abingdon, England). – 2018. – Vol. 113, № 12. – P. 2182-2193.

39. Acetylcysteine // PubChem : сайт. – URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12035> (дата обращения: 26.05.2020).
40. Activation of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) confers cardioprotection in protein kinase C epsilon (PKC ϵ) knockout mice / G.R. Budas, M.H. Disatnik, C.H. Chen [et al.] // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. – 2010. – Vol. 48, № 4. – P. 757-764.
41. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart / C. H. Chen, G. R. Budas, E.N. Churchill [et al.] // *Science (New York, N.Y.)*. – 2008. – Vol. 321, № 5895. – P. 1493-1495.
42. Alcohol consumption and employment: a cross-sectional study of office workers and unemployed people / S. De Sio, R. Tittarelli, G. Di Martino [et al.] // *PeerJ*. – 2020. – № 8. – P. 8774.
43. Alcoholic liver disease patients treated with S-adenosyl-L-methionine: an in-depth look at liver morphologic data comparing pre and post treatment liver biopsies / M. D. Le, E. Enbom, P. K. Traum [et al.] // *Experimental and Molecular Pathology*. – 2013. – Vol. 95, № 2. – P. 187-191.
44. Alcohol-induced blood-brain barrier impairment: an in vitro study / D. Carrino, J.J.V. Branca, M. Becatti [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2021. – Vol. 18, № 5. – P. 2683.
45. ALDH2 activity reduces mitochondrial oxygen reserve capacity in endothelial cells and induces senescence properties / G. Nannelli, E. Terzuoli, V. Giorgio [et al.] // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2018. – № 2018. – P. 9765027.
46. Alkandari, A.F. N-acetylcysteine amide against β -induced alzheimer's-like pathology in rats / A.F. Alkandari, S. Madhyastha, M.S. Rao // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2023. – Vol. 24, № 16. – P. 12733.
47. Alpha lipoic acid protects heart against myocardial ischemia-reperfusion injury through a mechanism involving aldehyde dehydrogenase 2 activation / L. He, B.

- Liu, Z. Dai [et al.] // *European journal of pharmacology*. – 2012. – Vol. 678, № 1-3. – P. 32-38.
48. Alpha-lipoic acid as an antioxidant strategy for managing neuropathic pain / M.D.M. Viana, P.S.S. Lauria, A.A. Lima [et al.] // *Antioxidants* (Basel, Switzerland). – 2022. – Vol. 11, № 12. – P. 2420.
49. Alpha-lipoic acid, auraptene, and particularly their combination prevent the metastasis of U87 human glioblastoma cells / A. Izadi, M. Soukhtanloo, F. Mirzavi [et al.] // *Evidence-based complementary and alternative medicine : eCAM*. – 2023. – № 2023. – P. 8618575.
50. An essential role for adenosine signaling in alcohol abuse / C.L. Ruby, C.A. Adams, E.J. Knight [et al.] // *Current Drug Abuse Reviews*. – 2010. – Vol. 3, № 3. – P. 163-174.
51. Anti-inflammatory effects of N-acetylcysteine and *Elaeagnus angustifolia* extract on acute lung injury induced by λ -carrageenan in rat / M. Mamashli, S. Nasser, Y. Mohammadi [et al.] // *Inflammopharmacology*. – 2022. – Vol. 30, № 5. – P. 1759-1768.
52. Anti-inflammatory mechanism of taurine against ischemic stroke is related to down-regulation of PARP and NF- κ B / M. Sun, Y. Zhao, Y. Gu, C. Xu // *Amino Acids*. – 2012. – Vol. 42, № 5. – P. 1735-1747.
53. Antioxidant and hepatopreventive effects of *Cassia angustifolia* extract against carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats / K. Bellassoued, H. Hamed, F. Ghrab [et al.] // *Archives of physiology and biochemistry*. – 2021. – Vol. 127, № 6. – P. 486-496.
54. Antioxidant effect of alpha-lipoic acid against ethanol-induced gastric mucosal erosion in rats / O. Sehirli, E. Tatlıdede, M. Yüksel [et al.] // *Pharmacology*. – 2008. – Vol. 81, № 2. – P. 173-180.
55. Antioxidants improve oxaliplatin-induced peripheral neuropathy in tumor-bearing mice model: role of spinal cord oxidative stress and inflammation / J.P. Agnes,

- V.W. Dos Santos, R.N. das Neves [et al.] // *The Journal of Pain*. – 2021. – № 8. – P. 996-1013.
56. Antioxidants N-acetylcysteine and vitamin c improve t cell commitment to memory and long-term maintenance of immunological memory in old mice / A. Meryk, M. Grasse, L. Balasco [et al.] // *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. – 2020. – Vol. 9, № 11. – P. 1152.
57. Arakawa, M. N-acetylcysteine and neurodegenerative diseases: basic and clinical pharmacology / M. Arakawa, Y. Ito // *Cerebellum*. – 2007. – Vol. 6, № 4. – P. 308-314.
58. Ayaz, M. SAH-induced electrophysiological changes of ventricular myocytes and role of n-acetylcysteine protection / M. Ayaz, S.B. Yanardag // *Journal of neurological surgery. Part A, Central European neurosurgery*. – 2019. – Vol. 80, № 2. – P. 72-80.
59. Barrell, K. Peripheral neuropathy / K. Barrell, A.G. Smith // *The Medical clinics of North America*. – 2019. – Vol. 103, № 2. – P. 383-397.
60. Behar, T.N. Redox regulation of neuronal migration in a Down Syndrome model / T.N. Behar, C.A. Colton // *Free radical biology & medicine*. – 2003. – Vol. 35, № 6. – P. 566-575.
61. Behavioral and metabolic effects of S-adenosylmethionine and imipramine in the Flinders Sensitive Line rat model of depression / S. Tillmann, D.F. Happ, P.F. Mikkelsen [et al.] // *Behavioural Brain Research*. – 2019. – № 364. – P. 274-280.
62. Beneficial effects of n-acetylcysteine on ischaemic brain injury / S. Cuzzocrea, E. Mazon, G. Costantino [et al.] // *British journal of pharmacology*. – 2000. – Vol. 130, № 6. – P. 1219-1226.
63. Benford, D.J. Metabolizing systems in cell culture cytotoxicity tests / D.J. Benford, H.J. Reavy, S.A. Hubbard // *Xenobiotica; the fate of foreign compounds in biological systems*. – 1988. – Vol. 18, № 6. – P. 649-656.
64. Beutner, F.U. Positive experiences with piracetam / F.U. Beutner // *Deutsches Arzteblatt international*. – 2020. – Vol. 116, № 7. – P. 116.

65. Bibliometric and visual analysis of global research on taurine, creatine, carnosine, and anserine with metabolic syndrome: from 1992 to 2022 / J. Sun, F. Guo, J. Ran [et al.] // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15, № 15. – P. 3374.
66. Biggs, H. G. A manual colorimetric assay of triglycerides in serum / H. G. Biggs, J. M. Erikson, W. R. Moorehead // *Clinical Chemistry*. – 1975. – Vol. 21, № 3. – P. 437-441.
67. Caffeine modulates voluntary alcohol intake in mice depending on the access conditions: Involvement of adenosine receptors and the role of individual differences / N. SanMiguel, L. López-Cruz, C.E. Müller [et al.] // *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*. – 2019. – № 186. – P. 172789.
68. Caffeine potentiates the discriminative-stimulus effects of nicotine in rats / M. Gasior, M. Jaszyna, P. Munzar [et al.] // *Psychopharmacology*. – 2002. – Vol. 162, № 4. – P. 385-395.
69. Cahill, P.A. Alcohol and cardiovascular disease--modulation of vascular cell function / P.A. Cahill, E.M. Redmond // *Nutrients*. – 2012. – Vol. 4, № 4. – P. 297-318.
70. Carson, E. Recent evidence examining efficacy and safety of aspirin for primary cardiovascular disease prevention / E. Carson, A.N. Hemenway // *The Annals of Pharmacotherapy*. – 2019. – Vol. 53, № 7. – P. 738-745.
71. Cederbaum, A. I. Alcohol metabolism / A. I. Cederbaum // *Clinics in liver disease*. – 2012. – Vol. 16, № 4. – P. 667-685.
72. Celik, A. Alpha-lipoic acid induced apoptosis of PC3 prostate cancer cells through an alteration on mitochondrial membrane depolarization and MMP-9 mRNA expression / A. Celik, F. Bakar-Ates // *Medical oncology (Northwood, London, England)*. – 2023. – Vol. 40, № 8. – P. 244.
73. Cerebral taurine levels are associated with brain edema and delayed cerebral infarction in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage / M. Kofler, A. Schiefecker, B. Ferger [et al.] // *Neurocritical Care*. – 2015. – Vol. 23, № 3. – P. 321-329.

- 74.Chang, K.J. Immunohistochemical localization of insulin in pancreatic beta-cells of taurine-supplemented or taurine-depleted diabetic rats / K.J. Chang, W. Kwon // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2000. – № 483. – P. 579-587.
- 75.Chen, H. H. The glutamatergic compounds sarcosine and N-acetylcysteine ameliorate prepulse inhibition deficits in metabotropic glutamate 5 receptor knockout mice / H. H. Chen, A. Stoker, A. Markou // *Psychopharmacology*. – 2010. – Vol. 209, № 4. – P. 343-350.
- 76.Chopra, K. Alcoholic neuropathy: possible mechanisms and future treatment possibilities / K. Chopra, V. Tiwari // *British journal of clinical pharmacology*. – 2012. – Vol. 73, № 3. – P. 348-362.
- 77.Chronic ethanol vapor exposure potentiates cardiovascular responses to acute stress in male but not in female rats / P.C. Bianchi, L. Gomes-de-Souza, W. Costa-Ferreira [et al.] // *Biology of sex differences*. – 2021. – Vol. 12, № 1. – P. 27.
- 78.Coexistence of SARS-CoV-2 and cerebrovascular diseases: does COVID-19 positivity trigger cerebrovascular pathologies? / O. Ates, I. Yilmaz, N. Karaarslan [et al.] // *Journal of infection in developing countries*. – 2022. – Vol. 16, № 6. – P. 981-992.
- 79.Cohen, B. M. S-adenosyl-L-methionine in the treatment of Alzheimer's disease / B. M. Cohen, A. Satlin, G. S. Zubenko // *Journal of clinical psychopharmacology*. – 1988. – Vol. 8, № 1. – P. 43-47.
- 80.Combs, D. J. Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol / D. J. Combs, L. G. D'Alecy // *Stroke*. – 1987. – Vol. 18, № 2. – P. 503-511.
- 81.Comparable efficacy of 100 mg aspirin twice daily and rivaroxaban for venous thromboembolism prophylaxis following primary total hip arthroplasty: a randomized controlled trial / Y. Ren, S.L. Cao, Z. Li, [et al.] // *Chinese Medical Journal*. – 2021. – Vol. 134, № 2. – P. 164-172.

82. Correction of psychological and neurological signs of alcohol hangover in rats with acetylcysteine / D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, N.A. Osadchenko [et al.] // *Pharmacy & Pharmacology*. – 2019. – Vol. 7, № 5. – P. 291-299.
83. Demyelination and decreased S-adenosylmethionine in 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase deficiency / K. Hyland, I. Smith, T. Bottiglieri [et al.] // *Neurology*. – 1988. – Vol. 38, № 3. – P. 459-462.
84. Development of a definition for the alcohol hangover: consumer descriptions and expert consensus / M. van Schrojenstein Lantman, A.J. van de Loo, M. Mackus, J.C. Verster // *Current drug abuse reviews*. – 2016. – Vol. 9, № 2. – P. 148-154.
85. Diabetic neuropathy / E. L. Feldman, B. C. Callaghan, R. Pop-Busui [et al.] // *Nature reviews. Disease primers*. – 2019. – Vol. 5, № 1. – P. 42.
86. Dietary taurine supplementation ameliorates diabetic retinopathy via anti-excitotoxicity of glutamate in streptozotocin-induced Sprague-Dawley rats / X. Yu, Z. Xu, M. Mi [et al.] // *Neurochemical research*. – 2008. – Vol. 33, № 3. – P. 500-507.
87. Dietary taurine supplementation prevents glial alterations in retina of diabetic rats / K. Zeng, H. Xu, M. Mi [et al.] // *Neurochemical research*. – 2009. – Vol. 34, № 2. – P. 244-254.
88. Dreser, H. Pharmakologisches über Aspirin (Acetylsalicylsäure) / H. Dreser // *Pflüger*. – 1899. – Vol. 76, № 5. – P. 306-318.
89. Effect of taurine supplementation on exercise capacity of patients with heart failure / M.R. Beyranvand, M.K. Khalafi, V.D. Roshan [et al.] // *Journal of Cardiology*. – 2011. – Vol. 57, № 3. – P. 333-337.
90. Effects of a preparation of combined glutathione-enriched yeast and rice embryo/soybean extracts on ethanol hangover / H. S. Lee, J. Song, T. M. Kim, [et al.] // *Journal of Medicinal Food*. – 2009. – Vol. 12, № 6. – P. 1359-1367.
91. Effects of adolescent caffeine consumption on cocaine self-administration and reinstatement of cocaine seeking / T. A. Larson, C. E. O'Neill, M. P. Palumbo, R.

- K. Bachtell // *Journal of Psychopharmacology* (Oxford, England). – 2019. – Vol. 33, № 1. – P. 132-144.
92. Effects of coenzyme Q10 and N-acetylcysteine on experimental poisoning by paracetamol in Wistar rats / R.H.S. da Silva, M. de Moura, L. de Paula [et al.] // *PloS one*. – 2023. – Vol. 18, № 8. – P. e0290268.
93. Effects of NAC and gallic acid on the proliferation inhibition and induced death of lung cancer cells with different antioxidant capacities / C. Y. Liao, T. C. Wu, S. F. Yang, J. T. Chang // *Molecules* (Basel, Switzerland). – 2021. – Vol. 27, № 1. – P. 75.
94. Effects of S-adenosylmethionine augmentation of serotonin-reuptake inhibitor antidepressants on cognitive symptoms of major depressive disorder / Y. Levkovitz, J. E. Alpert, C. E. Brintz [et al.] // *European psychiatry : the journal of the Association of European Psychiatrists*. – 2012. – Vol. 27, № 7. – P. 518-521.
95. Effects of taurine on glial cells apoptosis and taurine transporter expression in retina under diabetic conditions / K. Zeng, H. Xu, M. Mi [et al.] // *Neurochemical Research*. – 2010. – Vol. 35, № 10. – P. 1566-1574.
96. Effets de la S-adénosylméthionine et de la s-adénosylhomocystéine sur la synthèse, in vivo, de la noradrénaline et de la sérotonine dans différentes parties du cerveau de rat / P. Fonlupt, J. Barailler, M. Roche [et al.] // *Comptes rendus des seances de*. – 1979. – Vol. 288, № 2. – P. 283-286.
97. Efficacy and safety of ticagrelor and aspirin in patients with moderate ischemic stroke: an exploratory analysis of the THALES randomized clinical trial / Y. Wang, Y. Pan, H. Li [et al.] // *JAMA Neurology*. – 2021. – Vol. 78, № 9. – P. 1091-1098.
98. Efficacy of a food supplement based on S-adenosyl methionine and probiotic strains in subjects with subthreshold depression and mild-to-moderate depression: A monocentric, randomized, cross-over, double-blind, placebo-controlled clinical trial / H. Ullah, A. Di Minno, C. Esposito [et al.] // *Biomedicine & Pharmacotherapy*. – 2022. – № 156. – P. 113930.

99. Efficacy of n-acetylcysteine on endometriosis-related pain, size reduction of ovarian endometriomas, and fertility outcomes / E. Anastasi, S. Scaramuzzino, M.F. Viscardi [et al.] // *International Journal of Environmental Research and Public Health*. – 2023. – Vol. 20, № 6. – P. 4686.
100. Electrophysiological and behavioral changes by phosphodiesterase 4 inhibitor in a rat model of alcoholic neuropathy / K.H. Han, S.H. Kim, I.C. Jeong [et al.] // *Journal of Korean Neurosurgical Society*. – 2012. – Vol. 52, № 1. – P. 32-36.
101. Elucidation of molecular mechanism involved in neuroprotective effect of Coenzyme Q10 in alcohol-induced neuropathic pain / A. D. Kandhare, P. Ghosh, A. E. Ghule, S. L. Bodhankar // *Fundamental & clinical pharmacology*. – 2013. – Vol. 27, № 6. – P. 603-622.
102. Evaluation of ameliorative effect of quercetin in experimental model of alcoholic neuropathy in rats / K.S. Raygude, A.D. Kandhare, P. Ghosh [et al.] // *Inflammopharmacology*. – 2012. – Vol. 20, № 6. – P. 331-341.
103. Evaluation of taurine neuroprotection in aged rats with traumatic brain injury / R. Gupte, S. Christian, P. Keselman [et al.] // *Brain imaging and behavior*. – 2019. – Vol. 13, № 2. – P. 461-471.
104. Experimental model of alcohol-related peripheral neuropathy / M.L. Mellion, V. Nguyen, M. Tong [et al.] // *Muscle & Nerve*. – 2013. – Vol. 48, № 2. – P. 204-211.
105. Exploration of mice in a black and white test box: validation as a model of anxiety. / B. Costall, B. J. Jones, M. E. Kelly [et al.] // *Pharmacology, biochemistry, and behavior*. – 1989. – Vol. 32, № 3. – P. 777-785.
106. Expression of taurine transporter (TauT) is modulated by heat shock factor 1 (HSF1) in motor neurons of ALS / M. K. Jung, K. Y. Kim, N. Y. Lee [et al.] // *Molecular neurobiology*. – 2013. – Vol. 47, № 2. – P. 699-710.

107. Froger N. Taurine Deficiency and the Eye / N. Froger // Handbook of Nutrition, Diet and the Eye / V.R. Preedy, J. Sahel, S. Picaud. – Academic Press. – London : Elsevier, 2014. – 51. – P. 505-513. – ISBN 9780128152454
108. Functional implication of taurine in aging / A. El Idrissi, L. Boukarrou, K. Splavnyk [et al.] // Advances in experimental medicine and biology. – 2009. – № 643. – P. 199-206.
109. Gibson, P.C. Aspirin in the treatment of vascular diseases / P.C. Gibson // Lancet (London, England). – 1949. – Vol. 2, № 6591. – P. 1172-1174.
110. Global status report on alcohol and health 2018 // WHO : сайт. – URL: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241565639> (дата обращения: 21.02.2023).
111. Gonzalez, L. E. Pyridoxine acts in the brain to reduce ethanol toxicity in rats / L. E. Gonzalez, M. A. Parada, L. Hernandez // Alcohol (Fayetteville, N.Y.). – 1992. – Vol. 9, № 6. – P. 519-522.
112. GPR91: expanding the frontiers of Krebs cycle intermediates. / M. de Castro Fonseca, C.J. Aguiar, J.A. da Rocha Franco [et al.] // Cell communication and signaling. – 2016. – № 14. – P. 3.
113. GRAS Notices: GRN No. 586 (Taurine) // U.S. Food and Drug Administration : сайт. – URL: <https://www.cfsanappsexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=GRASNotices&id=586> (дата обращения: 04.03.2023).
114. Hayes, K.C. Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat / K.C. Hayes, R.E. Carey, S.Y. Schmidt // Science (New York, N.Y.). – 1975. – Vol. 188, № 4191. – P. 949-951.
115. Herbal Database Taurine uses, benefits & dosage // Drugs.com : сайт. – URL: <https://www.drugs.com/npp/taurine.html> (дата обращения: 12.04.2023).
116. Heroin self-administration and extinction increase prelimbic cortical astrocyte-synapse proximity and alter dendritic spine morphometrics that are

- reversed by N-acetylcysteine / B.M. Siemsen, A.R. Denton, J. Parrila-Carrero [et al.] // *Cells*. – 2023. – Vol. 12, № 14. – P. 1812.
117. Hryb, V. A. Combination of antioxidants and a hepatoprotector in the treatment of patients with diabetic distal symmetric polyneuropathy / V. A. Hryb // *Likars'ka sprava*. – 2010. – № 3-4. – P. 68-79.
118. ICH Q3C (R8) Residual solvents - Scientific guideline // European Medicines Agency : сайт. – URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3c-r8-residual-solvents-scientific-guideline> (дата обращения: 12.04.2023).
119. Increased neuronal nitric oxide synthase dimerisation is involved in rat and human pancreatic beta cell hyperactivity in obesity / K. Mezghenna, P. Pomiès, A. Chalançon [et al.] // *Diabetologia*. – 2011. – Vol. 54, № 11. – P. 2856-2866.
120. Interventions for treatment and/or prevention of alcohol hangover: Systematic review / R. Jayawardena, T. Thejani, P. Ranasinghe [et al.] // *Human psychopharmacology*. – 2017. – Vol. 32, № 5. – P. 26.
121. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats / J. Chen, P. R. Sanberg, Y. Li [et al.] // *Stroke*. – 2001. – Vol. 32, № 11. – P. 2682-2688.
122. Investigation of the protective effects of taurine against alloxan-induced diabetic retinal changes via electroretinogram and retinal histology with new zealand white rabbits / S. T. Chiang, S. M. Yeh, Y. C. Chen [et al.] // *International journal of endocrinology*. – 2014. – № 2014. – P. 631549.
123. Jeffreys, D. Aspirin: the remarkable story of a wonder drug / D. Jeffreys. – New York : Bloomsbury, 2004. – 364 с.
124. Jung, S. Lipopolysaccharide-induced innate immune responses are exacerbated by Prohibitin 1 deficiency and mitigated by S-adenosylmethionine in murine macrophages / S. Jung, J. Park, K. S. Ko // *PloS one*. – 2020. – Vol. 15, № 11. – P. e0241224.
125. Karadayian, A. G. Estrogen blocks the protective action of melatonin in a behavioral model of ethanol-induced hangover in mice / A. G. Karadayian, M. A.

- Mac Laughlin, R. A. Cutrera // *Physiology & behavior*. – 2012. – Vol. 107, № 2. – P. 181-186.
126. Khan, M. A. Alcohol-induced hangover. A double-blind comparison of pyritinol and placebo in preventing hangover symptoms / M. A. Khan, K. Jensen, H. J. Krogh // *Quarterly Journal of Studies on Alcohol*. – 1973. – Vol. 34, № 4. – P. 1195-1201.
127. Kirson, D. Taurine suppression of central amygdala GABAergic inhibitory signaling via glycine receptors is disrupted in alcohol dependence / D. Kirson, C. S. Oleata, M. Roberto // *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*. – 2020. – Vol. 44, № 2. – P. 445-454.
128. Kraeuter, A.K. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior / A.K. Kraeuter, P.C. Guest, Z. Sarnyai // *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*. – 2019. – № 1916. – P. 99-103.
129. Lawless, S. Better together? Treating traumatic brain injury with minocycline plus N-acetylcysteine / S. Lawless, P. J. Bergold // *Neural regeneration research*. – 2022. – Vol. 17, № 12. – P. 2589-2592.
130. Lloyd-Evans, S. Piracetam in chronic brain failure / S. Lloyd-Evans, J. C. Brocklehurst, M. K. Palmer // *Current medical research and opinion*. – 1979. – Vol. 6, № 5. – P. 351-357.
131. Losada, M. E. Acute effects of S-adenosyl-L-methionine on catecholaminergic central function / M. E. Losada, M. C. Rubio // *European Journal of Pharmacology*. – 1989. – Vol. 163, № 2-3. – P. 353-356.
132. Lu, S.C. S-Adenosylmethionine / S.C. Lu // *The international Journal of Biochemistry & Cell Biology*. – 2000. – Vol. 32, № 4. – P. 391-395.
133. Mann, J. *Murder, magic and medicine* / J. Mann. – Oxford : Oxford University Press, 1992. – 250 c.
134. Mann, S.P. Activation and inactivation of striatal tyrosine hydroxylase: the effects of pH, ATP and cyclic AMP, S-adenosylmethionine and S-

- adenosylhomocysteine / S.P. Mann, M.W. Hill // *Biochemical Pharmacology*. – 1983. – Vol. 32, № 22. – P. 3369-3374.
135. Maternal N-acetyl-cysteine prevents neonatal hypoxia-induced brain injury in a rat model / O. Gutziet, R. Iluz, H. Ben Asher [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 24. – P. 13629.
136. Mazraati, P. Hepatoprotective effect of metadoxine on acetaminophen-induced liver toxicity in mice / P. Mazraati, M. Minaiyan // *Advanced biomedical research*. – 2018. – № 7. – P. 67.
137. McCarty, M.F. Nutraceutical strategies for ameliorating the toxic effects of alcohol / M.F. McCarty // *Medical Hypotheses*. – 2013. – Vol. 80, № 4. – P. 456-462.
138. McLellan, T.M. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance / T.M. McLellan, J.A. Caldwell, H.R. Lieberman // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. – 2016. – № 71. – P. 294-312.
139. Misra, H.P. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutas / H.P. Misra, I. Fridovich // *The Journal of Biological Chemistry*. – 1972. – Vol. 247, № 10. – P. 3170-3175.
140. Mitochondrial Oxidative Damage Underlies Regulatory T Cell Defects in Autoimmunity / T. Alissafi, L. Kalafati, M. Lazari [et al.] // *Cell metabolism*. – 2020. – Vol. 32, № 4. – P. 591-604.
141. Modulation of glutamate receptor functions by glutathione / S.S. Oja, R. Janáky, V. Varga, P. Saransaari // *Neurochemistry international*. – 2000. – Vol. 37, № 2-3. – P. 299-306.
142. Morris, R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat / R. Morris // *Journal of Neuroscience Methods*. – 1984. – Vol. 11, № 1. – P. 47-60.
143. Myocardial failure in cats associated with low plasma taurine: a reversible cardiomyopathy / P.D. Pion, M.D. Kittleson, Q.R. Rogers, J.G. Morris, // *Science (New York, N.Y.)*. – 1987. – Vol. 237, № 4816. – P. 764-768.

144. N-acetylcysteine administration attenuates sensorimotor impairments following neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats / E. Kesidou, C. Bitsina, A. Chatzistiriou [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 24. – P. 16175.
145. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why / G. Aldini, A. Altomare, G. Baron [et al.] // *Free Radical Research*. – 2018. – № 7 (52). – P. 751-762.
146. N-acetylcysteine decreases reinforcing properties of ethanol and prevents glutathione depletion in a rat alcohol hangover model / E.I. Morkovin, D.V. Kurkin, L.P. Knysheva [et al.] // *European Neuropsychopharmacology*. – 2020. – Vol. 40, № 2. – P. 349-350.
147. N-acetylcysteine relieves neurologic signs of acute ethanol hangover in rats / D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, N.A. Osadchenko [et al.] // *Research Results in Pharmacology*. – 2021. – Vol. 7, № 1. – P. 75-83.
148. Nakayama, K. Blood vessels as a key mediator for ethanol toxicity: implication for neuronal damage / K. Nakayama, H. Hasegawa // *Life (Basel, Switzerland)*. – 2022. – Vol. 12, № 11. – P. 1882.
149. Nathan, D. M. The diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: overview / D. M. Nathan // *Diabetes care*. – 2014. – Vol. 37, № 1. – P. 9-16.
150. Neuroprotective effects of vitamin B1 on memory impairment and suppression of pro-inflammatory cytokines in traumatic brain injury / M. Husn, Z. Amin, Y. Al [et al.] // *Metabolic brain disease*. – 2023. – Vol. 38, № 6. – P. 2175-2184.
151. Neuroprotective functions through inhibition of ER stress by taurine or taurine combination treatments in a rat stroke model / H. Prentice, P.M. Gharibani, Z. Ma [et al.] // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2017. – № 975. – P. 193-205.

152. Nitric oxide stimulates insulin gene transcription in pancreatic beta-cells / S.C. Campbell, H. Richardson, W.F. Ferris [et al.] // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2007. – Vol. 353, № 4. – P. 1011-1016.
153. Nitrite increases glucose-stimulated insulin secretion and islet insulin content in obese type 2 diabetic male rats / S. Gheibi, F. Bakhtiarzadeh, S. Jeddi [et al.] // *Nitric oxide : biology and chemistry*. – 2017. – № 64. – P. 39-51.
154. Nouredin, M. Early treatment efficacy of S-adenosylmethionine in patients with intrahepatic cholestasis: A systematic review / M. Nouredin, S. Sander-Struckmeier, J.M. Mato // *World journal of hepatology*. – 2020. – Vol. 12, № 2. – P. 46-63.
155. Ohkawa, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction / H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi // *Analytical Biochemistry*. – 1979. – Vol. 95, № 2. – P. 351-358.
156. Open field locomotor effects in rats after intraventricular injections of ethanol and the ethanol metabolites acetaldehyde and acetate / M. Correa, M.N. Arizzi, A. Betz [и др.] // *Brain Research Bulletin*. – 2003. – Т. 62, № 3. – С. 197-202.
157. Open-label study of ademetionine for the treatment of intrahepatic cholestasis associated with alcoholic liver disease / V. T. Ivashkin, M. V. Maevskaya, Z. D. Kobalava [et al.] // *Minerva gastroenterologica e dietologica*. – 2018. – Vol. 64, № 3. – P. 208-219.
158. Oral administration of S-adenosylmethionine (SAME) and lactobacillus plantarum HEAL9 improves the mild-to-moderate symptoms of depression: a randomized, double-blind, placebo-controlled study / A. Saccarello, P. Montarsolo, I. Massardo [et al.] // *The Primary Care Companion for CNS Disorders*. – 2020. – Vol. 22, № 3. – P. 19m02578.
159. Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rats / H. Harada, K. Kitazaki, T. Tsujino [et al.] // *Hypertension*

- research : official journal of the Japanese Society of Hypertension. – 2000. – Vol. 23, № 3. – P. 277-284.
160. Otero-Losada, M.E. Acute changes in 5-HT metabolism after S-adenosyl-L-methionine administration / M.E. Otero-Losada, M.C. Rubio // *General Pharmacology*. – 1989. – Vol. 20, № 4. – P. 403-406.
161. Oxidative stress in diabetic peripheral neuropathy: pathway and mechanism-based treatment / Q. Lin, K. Li, Y. Chen [et al.] // *Molecular neurobiology*. – 2023. – Vol. 60, № 8. – P. 4574–4594.
162. Pain allaying epalrestat-loaded lipid nanoformulation for the diabetic neuropathic pain interventions: design, development, and animal study / V.K. Vishwakarma, S.K. Paswan, T. Arora [et al.] // *Current Drug Metabolism*. – 2022. – Vol. 23, № 7. – P. 571-583.
163. Paradoxical activation of endothelial nitric oxide synthase by NADPH oxidase / Q. Zhang, P. Malik, D. Pandey [et al.] // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. – 2008. – Vol. 28, № 9. – P. 1627-1633.
164. Paterson, R.L. The effect of N-acetylcysteine on nuclear factor-kappa B activation, interleukin-6, interleukin-8, and intercellular adhesion molecule-1 expression in patients with sepsis / R.L. Paterson, H.F. Galley, N.R. Webster // *Critical Care Medicine*. – 2003. – Vol. 31, № 11. – P. 2574-2578.
165. Patrignani, P. Selective cumulative inhibition of platelet thromboxane production by low-dose aspirin in healthy subjects / P. Patrignani, P. Filabozzi, C. Patrono // *The Journal of Clinical Investigation*. – 1982. – Vol. 69, № 6. – P. 1366-1372.
166. Pennathur, S. Oxidative stress and endothelial dysfunction in vascular disease / S. Pennathur, J. W. Heinecke // *Current Diabetes Reports*. – 2007. – Vol. 7, № 4. – P. 257-264.
167. Penning, R. Alcohol hangover symptoms and their contribution to the overall hangover severity / R. Penning, A. McKinney, J. C. Verster // *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*. – 2012. – Vol. 47, № 3. – P. 248-252.

168. Pharmacokinetic drug–drug interactions among antiepileptic drugs, including CBD, drugs used to treat COVID-19 and nutrients / M. Karaźniewicz-Łada, A. K. Główska, A. A. Mikulska, F. K. Główska // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22, № 17. – P. 9582.
169. Pilot dose-escalation study of caffeine plus ethanol (caffeinol) in acute ischemic stroke / P. Piriyawat, L.A. Labiche, W.S. Burgin [et al.] // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34, № 5. – P. 1242-1245.
170. Pilot study of the reducing effect on amyloidosis in vivo by three FDA pre-approved drugs via the Alzheimer's APP 5' untranslated region / S. Tucker, M. Ahl, A. Bush [et al.] // *Current Alzheimer Research*. – 2005. – Vol. 2, № 2. – P. 249-254.
171. Piracetam combined with lecithin in the treatment of Alzheimer's disease / J. H. Growdon, S. Corkin, F. Huff, T. J. Rosen // *Neurobiology of aging*. – 1986. – Vol. 7, № 4. – P. 269-276.
172. Piracetam treatment in patients with cognitive impairment / M.G. Rao, B. Holla, S. Varambally [et al.] // *General Hospital Psychiatry*. – 2013. – Vol. 35, № 4. – P. 451.e5-451.e6.
173. Plascencia-Villa, G. Roles of oxidative stress in synaptic dysfunction and neuronal cell death in Alzheimer's disease / G. Plascencia-Villa, G. Perry // *Antioxidants*. – 2023. – Vol. 12, № 8. – P. 1628.
174. Post-trauma administration of caffeine plus ethanol reduces contusion volume and improves working memory in rats / P. K. Dash, A. N. Moore, M. R. Moody [et al.] // *Journal of neurotrauma*. – 2004. – Vol. 21, № 11. – P. 1573-1583.
175. Proceeding of the 11th alcohol hangover research group meeting in Nadi, Fiji / E.O.C. Palmer, L. Arnoldy, E. Ayre [et al.] // *Proceedings*. – 2020. – Vol. 43, № 1. – P. 1.

176. Proceeding of the 9th alcohol hangover research group meeting / A. Merlo, S. Adams, S. Benson [et al.] // *Current Drug Abuse Reviews*. – 2017. – Vol. 10, № 1. – P. 68-75.
177. Protective effect of co-administration of curcumin and sildenafil in alcohol induced neuropathy in rats / M. Kaur, A. Singh, B. Kumar [et al.] // *European Journal of Pharmacology*. – 2017. – № 805. – P. 58-66.
178. Protective effect of taurine on rats with experimental insulin-dependent diabetes mellitus / L. K. Gavrovskaya, O. V. Ryzhova, A. F. Safonova [et al.] // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2008. – Vol. 146, № 2. – P. 226-228.
179. Protective functions of taurine against experimental stroke through depressing mitochondria-mediated cell death in rats / M. Sun, Y. Gu, Y. Zhao, C. Xu // *Amino Acids*. – 2011. – Vol. 40, № 5. – P. 1419-1429.
180. Quick, A.J. Bleeding-time after aspirin ingestion / A.J. Quick // *Lancet* (London, England). – 1968. – Vol. 1, № 7544. – P. 694.
181. Reactive oxygen species, toxicity, oxidative stress, and antioxidants: chronic diseases and aging / K. Jomova, R. Raptova, S.Y. Alomar [et al.] // *Archives of toxicology*. – 2023. – Vol. 97, № 10. – P. 2499-2574.
182. Reynolds E.H., Camey M.W.P., Toone B.K. Biochemical, pharmacological and clinical aspects of transmethylation 1987. № 2. C. 93–102.
183. Rushworth, G.F. Existing and potential therapeutic uses for N-acetylcysteine: the need for conversion to intracellular glutathione for antioxidant benefits / G.F. Rushworth, I.L. Megson // *Pharmacology & Therapeutics*. – 2014. – Vol. 141, № 2. – P. 150-159.
184. S-adenosylmethionine and Alzheimer's disease / E.H. Reynolds, P. Godfrey, T. Bottiglieri [et al.] // *Neurology*. – 1989. – Vol. 39, № 1. – P. 397.
185. S-Adenosylmethionine attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury by downregulating the Toll-like receptor 4 signal in Kupffer cells / P. Li, Z.

- Zhang, J. Gong [et al.] // *Hepatology international*. – 2014. – Vol. 8, № 2. – P. 275-284.
186. S-adenosylmethionine mediates inhibition of inflammatory response and changes in DNA methylation in human macrophages / A.C. Pfalzer, S.W. Choi, S.A. Tammen [et al.] // *Physiological Genomics*. – 2014. – Vol. 46, № 17. – P. 617-623.
187. S-Adenosylmethionine: a control switch that regulates liver function / J.M. Mato,, F.J. Corrales, S.C. Lu, M.A. Avila // *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. – 2002. – Vol. 16, № 1. – P. 15-26.
188. Safety and efficacy of aspirin, unfractionated heparin, both, or neither during endovascular stroke treatment (MR CLEAN-MED): an open-label, multicentre, randomised controlled trial / W. van der Steen, R.A. van de Graaf, V. Chalos [et al.] // *Lancet (London, England)*. – 2022. – Vol. 399, № 10329. – P. 1059-1069.
189. Samorajski, T. Piracetam plus lecithin trials in senile dementia of the Alzheimer type / T. Samorajski, G.A. Vroulis, R.C. Smith, // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 1985. – № 444. – P. 478-481.
190. Schuller-Levis, G.B. Taurine: new implications for an old amino acid / G.B. Schuller-Levis, E. Park // *FEMS microbiology letters*. – 2003. – Vol. 226, № 2. – P. 195-202.
191. Shaik, I.H. Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiol-masking reagent and the enzymatic recycling method: application to the rat liver and bile samples / I.H. Shaik, R. Mehvar // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2006. – Vol. 385, № 1. – P. 105-113.
192. Shanmugam, K.R. Effect of alcohol on blood glucose and antioxidant enzymes in the liver and kidney of diabetic rats / K.R. Shanmugam, K. Mallikarjuna, K.S. Reddy // *IndianJournal of Pharmacology*. – 2011. – Vol. 43, № 3. – P. 330-335.

193. Sleep after heavy alcohol consumption and physical activity levels during alcohol hangover / L. E. Devenney, K. B. Coyle, T. Roth, J. C. Verster // *Journal of clinical medicine*. – 2019. – Vol. 8, № 5. – P. 752.
194. Some features of DC concentration distribution in blood serum and tissues of rats / O.N. Pavlova, O.N. Gulenko, P.V. Boriskin [et al.] // *Proceedings of the International Conference “Health and wellbeing in modern society” (ICHW 2020)*. – 2020. – № 28. – P. 100-103. – ISSN 2468-5739
195. Spatiotemporal properties of locomotor activity after administration of central nervous stimulants and sedatives in mice / Q. Zhang, Y.P. Yu., Y.L. Ye [et al.] // *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*. – 2011. – Vol. 97, № 3. – P. 577-585.
196. Subchronic-intermittent caffeine amplifies the motor effects of amphetamine in rats / N. Simola, E. Tronci, A. Pinna, M. Morelli // *Amino Acids*. – 2006. – Vol. 31, № 4. – P. 359-363.
197. Sun, M. Neuroprotective mechanism of taurine due to up-regulating calpastatin and down-regulating calpain and caspase-3 during focal cerebral ischemia / M. Sun, C. Xu // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2008. – Vol. 28, № 4. – P. 593-611.
198. Surtees, R. Association of demyelination with deficiency of cerebrospinal-fluid S-adenosylmethionine in inborn errors of methyl-transfer pathway / R. Surtees, J. Leonard, S. Austin // *Lancet (London, England)*. – 1991. – Vol. 338, № 8782-8783. – P. 1550-1554.
199. Synergistic protective effects of lycopene and N-acetylcysteine against cisplatin-induced hepatorenal toxicity in rats / A. Elsayed, A. Elkomy, R. Elkammar [et al.] // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 13979.
200. Tardiolo, G. Overview on the effects of N-acetylcysteine in neurodegenerative diseases / G. Tardiolo, P. Bramanti, E. Mazzon // *Molecules (Basel, Switzerland)*. – 2018. – Vol. 23, № 12. – P. 3305.

201. Tariska, P. A piracetam tünetjavító hatása enyhe kognitív zavar és demencia tünetcsoportjában szenvedő betegeken / P. Tariska, A. Paksy // Orvosi hetilap. – 2000. – Vol. 141, № 22. – P. 1189-1193.
202. Taurine // DrugBank : сайт. – URL: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01956> (дата обращения: 04.03.2023).
203. Taurine // PubChem : сайт. – URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1123> (дата обращения: 04.03.2023).
204. Taurine administration recovers motor and learning deficits in an Angelman syndrome mouse model / S. Guzzetti, L. Calzari, L. Buccarello [et al.] // International journal of molecular sciences. – 2018. – Vol. 19, № 4. – P. 1088.
205. Taurine alters respiratory gas exchange and nutrient metabolism in type 2 diabetic rats / N. Harada, C. Ninomiya, Y. Osako [et al.] // Obesity research. – 2004. – Vol. 12, № 7. – P. 1077-1084.
206. Taurine ameliorates chronic streptozocin-induced diabetic nephropathy in rats / H. Trachtman, S. Futterweit, J. Maesaka [et al.] // The American Journal of Physiology. – 1995. – Vol. 269, № 3. – P. F429-F438.
207. Taurine attenuates hippocampal and corpus callosum damage, and enhances neurological recovery after closed head injury in rats / Y. Gu, Y. Zhao, K. Qian, M. Sun // Neuroscience. – 2015. – № 291. – P. 331-340.
208. Taurine improves functional and histological outcomes and reduces inflammation in traumatic brain injury / Y. Su, W. Fan, Z. Ma [et al.] // Neuroscience. – 2014. – № 266. – P. 56-65.
209. Taurine improves insulin sensitivity in the Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rat, a model of spontaneous type 2 diabetes / Y. Nakaya, A. Minami, N. Harada [et al.] // The American journal of clinical nutrition. – 2000. – Vol. 71, № 1. – P. 54-58.

210. Taurine in health and diseases: consistent evidence from experimental and epidemiological studies / Y. Yamori, T. Taguchi, A. Hamada [et al.] // *Journal of Biomedical Science*. – 2010. – Vol. 17, № 1. – P. 6.
211. Taurine may prevent diabetic rats from developing cardiomyopathy also by downregulating angiotensin II type2 receptor expression / C. Li, L. Cao, Q. Zeng [et al.] // *Cardiovascular drugs and therapy*. – 2005. – Vol. 19, № 2. – P. 105-112.
212. Taurine rescues vascular endothelial dysfunction in streptozocin-induced diabetic rats: correlated with downregulation of LOX-1 and ICAM-1 expression on aortas / L.J. Wang, Y.H. Yu, L.G. Zhang [et al.] // *European journal of pharmacology*. – 2008. – Vol. 597, № 1-3. – P. 75-80.
213. Taurine supplementation modulates glucose homeostasis and islet function / E.M. Carneiro, M.Q. Latorraca, E. Araujo [et al.] // *The Journal of nutritional biochemistry*. – 2009. – Vol. 20, № 7. – P. 503-511.
214. Taurine supplementation prevents ethanol-induced decrease in serum adiponectin and reduces hepatic steatosis in rats / X. Chen, B. M. Sebastian, H. Tang [et al.] // *Hepatology (Baltimore, Md.)*. – 2009. – Vol. 49, № 5. – P. 1554-1562.
215. Taurine treatment provides neuroprotection in a mouse model of manganism / M.M. Ommati, R. Heidari, V. Ghanbarinejad [et al.] // *Biological Trace Element Research*. – 2019. – Vol. 190, № 2. – P. 384-395.
216. The adhesive removal test: a sensitive method to assess sensorimotor deficits in mice / V. Bouet, M. Boulouard, J. Toutain [et al.] // *Nature protocols*. – 2009. – Vol. 4, № 10. – P. 1560-1564.
217. The effect of alcohol hangover on the ability to ride a bicycle / B. Hartung, H. Schwender, N. Mindiashvili [et al.] // *International journal of legal medicine*. – 2015. – Vol. 129, № 4. – P. 751-758.
218. The generation of nitric oxide from aldehyde dehydrogenase-2: the role of dietary nitrates and their implication in cardiovascular disease management / J.

- Maiuolo, F. Oppedisano, C. Carresi [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – Vol. 23, № 24. – P. 15454.
219. The impact of alcohol hangover on simulated driving performance during a 'commute to work'-zero and residual alcohol effects compared / C. Alford, C. Broom, H. Carver [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 9, № 5. – P. 1435.
220. The mechanism of taurine protection against endoplasmic reticulum stress in an animal stroke model of cerebral artery occlusion and stroke-related conditions in primary neuronal cell culture / P. M. Ghariban, J. Modi, C. Pan [et al.] // *Advances in experimental medicine and biology*. – 2013. – № 776. – P. 241-258.
221. The role of alcohol metabolism in the pathology of alcohol hangover / M. Mackus, A.J.V. Loo, J. Garssen [et al.] // *Journal of Clinical Medicine*. – 2020. – Vol. 9, № 11. – P. 3421.
222. The role of taurine in male reproduction: Physiology, pathology and toxicology. / Y. Li, Q. Peng, J. Shang [et al.] // *Frontiers in endocrinology*. – 2023. – № 14. – P. 1017886.
223. The treatment of painful diabetic neuropathy / G. Sloan, U. Alam, D. Selvarajah, S. Tesfaye // *Current diabetes reviews*. – 2022. – Vol. 18, № 5. – P. e070721194556.
224. The use of N-acetylcysteine in the prevention of hangover: a randomized trial / V. Coppersmith, S. Hudgins, J. Stoltzfus, H. Stankewicz // *Scientific reports*. – 2021. – Vol. 11, № 1. – P. 13397.
225. Therapeutic window of taurine against experimental stroke in rats / M. Sun, Y. Zhao, Y. Gu, C. Xu // *Translational Research: The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. – 2012. – Vol. 160, № 3. – P. 223-229.
226. Tiwari, V. Amelioration of functional, biochemical and molecular deficits by epigallocatechin gallate in experimental model of alcoholic neuropathy / V.

- Tiwari, A. Kuhad, K. Chopra // *European Journal of Pain* (London, England). – 2011. – Vol. 15, № 3. – P. 286-292.
227. Treatment of diabetic polyneuropathy with the antioxidant thioctic acid (alpha-lipoic acid): a two year multicenter randomized double-blind placebo-controlled trial (ALADIN II). Alpha lipoic acid in diabetic neuropathy / M. Reljanovic, G. Reichel, K. Rett [et al.] // *Free Radical Research*. – 1999. – Vol. 31, № 3. – P. 171-179.
228. Treatment of Lesch-Nyhan disease with S-adenosylmethionine: experience with five young Malaysians, including a girl / B. C. Chen, S. Balasubramaniam, I. N. McGown [et al.] // *Brain & development*. – 2014. – Vol. 36, № 7. – P. 593-600.
229. Tretter, L. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis / L. Tretter, A. Patocs, C. Chinopoulos // *Biochimica et biophysica acta*. – 2016. – Vol. 1857, № 8. – P. 1086-1101.
230. TUG1 aggravates intracerebral hemorrhage injury by inhibiting angiogenesis in an miR-26a-dependent manner / F. Li, H.X. Jiang, H.K. Zhang, Q.X. Chen // *American journal of translational research*. – 2023. – Vol. 15, № 1. – P. 175-183.
231. Turmeric extract (*Curcuma longa* L.) regulates hepatic toxicity in a single ethanol binge rat model / H. Y. Lee, G. H. Lee, T. H. Hoang [et al.] // *Heliyon*. – 2022. – Vol. 8, № 9. – P. e10737.
232. Turner, R.C. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). VIII. Study design, progress and performance / R.C. Turner // *Diabetologia*. – 1991. – Vol. 34, № 12. – P. 877-890.
233. Use of aspirin to reduce risk of initial vascular events in patients at moderate risk of cardiovascular disease (ARRIVE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial / J. M. Gaziano, C. Brotons, R. Coppolecchia [et al.] // *Lancet* (London, England). – 2018. – Vol. 392, № 10152. – P. 1036-1046.

234. Walter, T.J. Microglial depletion alters the brain neuroimmune response to acute binge ethanol withdrawal / T.J. Walter, F.T. Crews // *Journal of Neuroinflammation*. – 2017. – Vol. 14, № 1. – P. 86.
235. Yang, Y. Efficacy and safety of clopidogrel and/or aspirin for ischemic stroke/transient ischemic attack: An overview of systematic reviews and meta-analysis / Y. Yang, Z. Huang, X. Zhang // *Medicine*. – 2021. – Vol. 100, № 50. – P. e27804.
236. Zhang, Z. Neuroprotection of taurine through inhibition of 12/15 lipoxygenase pathway in cerebral ischemia of rats / Z. Zhang, R. Yu, L. Cao // *Neurological Research*. – 2017. – Vol. 39, № 5. – P. 453-458.
237. Zündorf, U. Aspirin, 100 years: the future has just begun / U. Zündorf. – Langenfeld : Bayer AG, 1997. – 131 c.