

ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ПРОИЗВОДНЫХ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ НА ПРОГРЕССИРОВАНИЕ АЛКОГОЛЬНОЙ НЕЙРОПАТИИ У КРЫС

Назар Андреевич Осадченко^{1✉}, Анна Михайловна Доценко^{1,2}, Инна Сергеевна Прокопченко¹,
Полина Викторовна Горошко¹, Евгений Игоревич Морковин^{1,2,3},
Денис Владимирович Куркин^{1,3}, Андрей Валерьевич Стрыгин^{1,2,3}, Анна Олеговна Стрыгина¹,
Анна Николаевна Цыбина

¹ Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

² Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия

³ Научный центр инновационных лекарственных средств Волгоградского
государственного медицинского университета, Волгоград, Россия

✉ unsaturated@gmail.com, ev8278@mail.ru, prokopchenko.inna2016@yandex.ru,
goroshkopolina@yandex.net, e.i.morkovin@gmail.com, strannik986@mail.ru, drumsav@mail.ru,
strygachenok@gmail.com, antsybina@yandex.ru

***Аннотация.** В работе рассмотрены результаты доклинического исследования влияния перорального введения ацетилцистеина, адеметионина и таурина на прогрессирование нейропатии, вызванной у крыс длительной алкоголизацией. Неврологические нарушения, возникавшие у животных, были представлены ухудшением координации движений в тесте хождения по перекладине и изменениями походки, а нейропатия проявлялась возникновением температурной аллодинии, а также холодовой и тепловой гипералгезии. Ежедневное 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.*

***Ключевые слова:** алкоголь, нейропатия, серосодержащие аминокислоты, адеметионин*

Алкоголь представляет собой психоактивное вещество с выраженным аддитивным потенциалом, употребление которого может приводить к социально значимым последствиям как для экономики, так и здравоохранения [1]. 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 [2].

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 эндогенных интоксикаций [3].

Для предупреждения развития полинейропатии или ее лечения применяют патогенетическое и симптоматическое лечение. Основным методом патогенетической терапии у больных сахарным диабетом является контроль гликемии, в то время как при алкогольной нейропатии

главным фактором становится отказ от употребления этанола.

С учетом роли свободнорадикальных процессов в развитии патологических изменений в нервной ткани необходимым становится использование метаболических средств, в частности, тиоктовой (α -липоевой) кислоты или ингибиторов альдоредуктазы, бенфотиамин (аналога тиамин) [3]. С другой стороны, перспективна и разработка средств, ускоряющих метаболизм ацетальдегида. Среди соединений, обладающих подобным действием, можно выделить ацетилцистеин, который является предшественником глутатиона, важнейшего регулятора окислительно-восстановительных процессов в клетках, в том числе и в гепатоцитах. Согласно доступным доклиническим данным, у крыс с экспериментальной хронической эндогенной интоксикацией, обусловленной хроническим пероральным употреблением 15%-го раствора этанола, возникающие нарушения затрагивали не только поведение, функционирование печени и антиоксидантных систем, но и состояние микробиоценоза кишечника, ведущее к изменению липидного и углеводного обмена [4–8]. В то же время как профилактическое, так и терапевтическое введение ацетилцистеина оказалось способным ускорять восстановление животных после интоксикации [9–12]. 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.

Цель работы

Изучить влияние серосодержащих аминокислот на динамику развития экспериментальной алкогольной нейропатии у крыс.

Методика исследования

Эксперимент проводили на самцах крыс линии «Вистар» (исходная масса тела 200–230 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%-й раствор этанола в воде для моделирова-

ния хронической алкоголизации [4], в то время как крысы из оставшейся группы оставались интактными до конца эксперимента. Через 4 недели животным, получавшим этанол, начинали ежедневно внутривенно вводить ацетилцистеин (500 мг/кг/сут.), адометионин (50 мг/кг/сут.), таурин (20 мг/кг/сут.) или носитель – изотонический раствор натрия хлорида (5 мл/кг/сут.). Данный этап длился 4 недели; таким образом, общая продолжительность эксперимента составила 8 недель.

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 $(55 \pm 1)^\circ\text{C}$, и регистрировали латентный период (ЛП) до начала проявления ноцицептивного поведения (вокализаций и/или вылизывания лап). 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 $[(2 \pm 1)^\circ\text{C}]$, регистрируя ЛП до отдергивания хвоста. Если ноцицептивное поведение не возникало в течение 20 с, животное возвращали в домашнюю клетку [13, 14].

Оценку температурной аллодинии, т. е. 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 $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$, 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 [13, 14].

Наличие симптомов поражения нервной системы оценивали, используя модифицированную шкалу неврологического дефицита (modified Neurological Severity Scores, 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 [4, 6, 15]. В использованной версии шкалы 1–6 баллов соответствовали легкому, 7–12 – умеренному, 13–18 – тяжелому неврологическому дефициту.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики с использованием программного обеспечения GraphPadPrism 5.0. Распределение количественных показателей оценивали с использованием критериев Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка. Межгрупповые различия оценивали при помощи однофакторного или двухфакторного 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 интеркварти-

тного 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).

Результаты исследования и их обсуждение

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. 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 эксперимента длительность удержания снижалась в 2 раза (табл. 1). Проводимое лечение повышало результативность крыс; наиболее стремительное восстановление координации также наблюдали у животных из групп «Этанол + Адеметионин» и «Этанол + Ацетилцистеин».

Таблица 1

Результаты статистической обработки данных о динамике неврологического дефицита и болевой чувствительности

Неделя	Группа				
	Контроль	Этанол + ФР	Этанол + АЦ	Этанол + АМ	Этанол + ТН
Неврологический дефицит, баллы (медиана и интерквартильный размах)					
0	1 (0–2)	0,5 (0–2)	1 (0–2)	0,5 (0–2)	0,5 (0–2)
2	0,5 (0–1,25)	4 (2,75–5) ^к	3,5 (2–5) ^к	4 (2,75–5) ^к	3,5 (2–5) ^к
4	1 (0–2)	5 (4–6,25) ^к	6 (4,75–7) ^к	5,5 (4–7) ^к	6 (4–7) ^к
6	0,5 (0–1,25)	7 (6–8) ^к	4,5 (3,75–5) ^{к, 3}	3 (2–4) ^{к, 3}	7 (6–8) ^к
8	0,5 (0–1,25)	6,5 (6–8) ^к	4 (3–5) ^{к, 3}	3 (2–4) ^{к, 3}	6 (5–7) ^к
Удержание на вращающемся стержне, с (среднее арифметическое ± стандартное отклонение)					
0	18,4 ± 1,35	18,4 ± 1,35	18,5 ± 1,27	18,4 ± 1,27	18,4 ± 1,17
2	18,7 ± 1,16	9,4 ± 2,01 ^к	8,3 ± 1,70 ^к	9,5 ± 1,58 ^к	9,2 ± 1,75 ^к
4	18,3 ± 1,16	8,6 ± 2,07 ^к	8,3 ± 1,57 ^к	8,3 ± 1,64 ^к	8,6 ± 1,84 ^к
6	19,2 ± 0,78	7,8 ± 1,75 ^к	14,6 ± 3,41 ^{к, 3}	13,7 ± 2,36 ^{к, 3}	9,3 ± 1,77 ^к
8	19,4 ± 0,70	7,9 ± 1,73 ^к	13,4 ± 2,12 ^{к, 3}	14,8 ± 2,62 ^{к, 3}	11,3 ± 1,70 ^{к, 3}

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 эксперимента у животных из контрольной группы ($p < 0,05$); ³ – статистически значимые различия при сравнении с показателями, зарегистрированными на соответствующей неделе эксперимента у животных, получавших этанол и физиологический раствор ($p < 0,05$).

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

температурам без существенных различий между животными из групп терапии. С другой стороны, результаты, полученные при оценке холодовой чувствительности, оказались однозначными: эффект таурина был заметно менее выраженным, чем эффекты адеметионина и ацетилцистеина (табл. 2).

Таблица 2

**Результаты статистической обработки данных
о динамике неврологического дефицита и болевой чувствительности**

Неделя	Группа				
	Контроль	Этанол + ФР	Этанол + АЦ	Этанол + АМ	Этанол + ТН
Латентный период в тесте «горячая пластина», с (среднее арифметическое ± стандартное отклонение)					
0	14,4 ± 1,27	14,2 ± 1,23	14,4 ± 1,17	14,5 ± 1,27	14,6 ± 1,27
2	14,2 ± 1,23	8,2 ± 2,35 ^к	8,6 ± 2,37 ^к	7,9 ± 2,33 ^к	8,7 ± 2,41 ^к
4	14,0 ± 1,05	7,1 ± 2,42 ^к	7,3 ± 2,45 ^к	6,4 ± 2,17 ^к	7,1 ± 2,28 ^к
6	14,2 ± 1,23	6,2 ± 1,62 ^к	8,2 ± 2,35 ^к	6,3 ± 2,26 ^к	7,2 ± 1,99 ^к
8	14,3 ± 1,16	4,9 ± 1,60 ^к	10,9 ± 2,85 ^{к,з}	11,5 ± 2,76 ^{к,з}	8,8 ± 2,04 ^{к,з}
Латентный период в тесте отдергивания хвоста, с (среднее арифметическое ± стандартное отклонение)					
0	19,1 ± 8,76	18,9 ± 0,88	19,0 ± 0,82	19,0 ± 0,82	18,9 ± 0,88
2	18,9 ± 0,88	12,0 ± 2,36 ^к	12,3 ± 2,21 ^к	12,0 ± 2,31 ^к	10,1 ± 3,07 ^к
4	18,9 ± 0,88	9,5 ± 1,96 ^к	9,4 ± 1,90 ^к	9,2 ± 1,93 ^к	9,1 ± 2,03 ^к
6	19,1 ± 0,88	6,9 ± 1,85 ^к	11,2 ± 3,26 ^{к,з}	13,3 ± 2,31 ^{к,з}	11,6 ± 2,46 ^{к,з}
8	19,0 ± 0,82	6,6 ± 2,07 ^к	13,2 ± 2,44 ^{к,з}	13,3 ± 1,16 ^{к,з}	8,8 ± 1,62 ^{к,з}
Латентный период в тесте тепловой аллодинии, с (среднее арифметическое ± стандартное отклонение)					
0	24,2 ± 1,32	24,3 ± 1,16	24,6 ± 1,27	24,4 ± 1,17	24,2 ± 1,23
2	24,5 ± 1,27	12,3 ± 2,98 ^к	13,2 ± 2,94 ^к	12,0 ± 2,94 ^к	12,4 ± 2,68 ^к
4	24,3 ± 1,25	12,3 ± 3,43 ^к	12,1 ± 3,35 ^к	11,5 ± 3,03 ^к	10,7 ± 3,27 ^к
6	24,6 ± 1,27	10,6 ± 2,50 ^к	14,2 ± 1,99 ^{к,з}	15,0 ± 2,36 ^{к,з}	12,1 ± 2,60 ^к
8	24,5 ± 1,27	12,4 ± 2,84 ^к	16,7 ± 2,31 ^{к,з}	19,7 ± 2,98 ^{к,з}	16,9 ± 3,28 ^{к,з}
Длительность реакции в тесте холодовой аллодинии, с (среднее арифметическое ± стандартное отклонение)					
0	0,8 ± 0,79	1,1 ± 0,88	1,2 ± 0,92	0,9 ± 0,88	0,6 ± 0,84
2	0,9 ± 0,88	2,6 ± 1,65 ^к	2,8 ± 1,62 ^к	2,8 ± 1,40 ^к	2,6 ± 1,43 ^к
4	0,8 ± 0,79	5,4 ± 1,90 ^к	5,6 ± 1,78 ^к	5,5 ± 1,58 ^к	5,9 ± 1,66 ^к
6	0,5 ± 0,71	6,8 ± 1,62 ^к	6,0 ± 1,49 ^к	4,2 ± 1,23 ^{к,з}	6,3 ± 1,89 ^к
8	0,9 ± 0,99	7,2 ± 1,32 ^к	4,2 ± 0,92 ^{к,з}	3,2 ± 1,14 ^{к,з}	5,4 ± 1,35 ^{к,з}

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

Заключение

В рамках настоящей работы было выполнено моделирование алкогольной зависимости у крыс с использованием описанной в научной литературе модели добровольной алкоголизации 15%-м раствором этанола. Развитие экспериментальной патологии сопровождалось постепенным увеличением медианной оценки по шкале mNSSy крыс, подвергнутых алкоголи-

зации, 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, проявлявшаяся возникновением температурной аллодинии, а также

холодовой и тепловой гипералгезии, по-видимому, происходила без связи с возможным алиментарным дефицитом тиамина, поскольку динамика массы тела в экспериментальных группах в ходе эксперимента существенно не отличалась от таковой у животных из контрольной группы.

Ежедневное пероральное введение ацетилцистеина, адemetионина или таурина оказывало протективное действие на прогрессирование алкогольной нейропатии. На фоне введения ацетилцистеина или адemetионина, 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 ле-

карственных средств сглаживать проявления неврологического дефицита. Введение адemetионина, ацетилцистеина или таурина позволяло снизить ноцицептивное действие повышенных температур, но при оценке холодовой чувствительности эффект таурина был заметно менее выраженным, чем эффекты адemetионина и ацетилцистеина.

Таким образом, введение ацетилцистеина, адemetионина или таурина оказывает протективное действие на прогрессирование алкогольной нейропатии; наиболее выраженные эффекты на выбранной экспериментальной модели проявлял адemetионин, что может быть связано с его нейротропной активностью.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Всемирная организация здравоохранения. Алкоголь. URL: <https://www.who.int/ru/news-room/factsheets/detail/alcohol>
2. Курушина О. В., Барулин А. Е., Черноволенко Е. П. Алкогольная полинейропатия: пути диагностики и терапии // Медицинский совет. 2019. № 1. С. 58–63.
3. Treatment of painful diabetic neuropathy / S. S. Javed, I. N. Petropoulos, U. Alam, R. A. Malik. // Ther Adv Chronic Dis. 2015. № 6 (1). P. 15–28.
4. Критерии достоверности воспроизведения экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации / Л. П. Кнышова, С. В. Поройский, А. Т. Яковлев и др. // Волгоградский научно-медицинский журнал. 2016. № 4 (52). С. 48–51.
5. 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. № 4 (60). С. 40–44.
6. Неврологический статус и предпочтение этанола у крыс при формировании алкогольной зависимости / А. С. Тарасов, Л. П. Кнышова, Е. И. Морковин и др. // Казанский медицинский журнал. 2018. Т. 99, № 3. С. 446–449.
7. 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.
8. Изменения микробиоты кишечника при хронической алкоголизации / А. Т. Яковлев, С. В. Поройский, Л. А. Кнышова, Е. И. Морковин // Самарский научный вестник. 2017. Т. 6, № 3 (20). С. 64–67.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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 // Fundam. Clin. Pharmacol. 2013. Vol. 27, № 6. P. 603–622.
14. Protective effect of co-administration of curcumin and sildenafil in alcohol induced neuropathy in rats / M. Kaur, A. Singh, B. Kumar et al. // Eur. J. Pharmacol. 2017. Vol. 805. P. 58–66.

15. 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.

Информация об авторах

Н. А. Осадченко – аспирант кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ВолгГМУ

А. М. Доценко – ассистент кафедры фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ, научный сотрудник лаборатории клинической фармакологии ВМНЦ

И. С. Прокопченко – студент-исследователь

П. В. Горошко – студент-исследователь

Е. И. Морковин – доцент кафедры фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ, с. н. с. лаборатории клинической фармакологии ВМНЦ, заведующий лабораторией психофармакологии НЦИЛС

Д. В. Куркин – профессор кафедры клинической фармакологии и интенсивной терапии ВолгГМУ, заместитель директора НЦИЛС

А. В. Стрыгин – заведующий кафедрой фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ, с. н. с. лаборатории клинической фармакологии ВМНЦ, заместитель директора НЦИЛС

А. О. Стрыгина – ассистент кафедры иммунологии и аллергологии ВолгГМУ

А. Н. Цыбина – студент-исследователь

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 26.10.2021;

одобрена после рецензирования 26.10.2021;

принята к публикации 26.10.2021