

**УО «Белорусский государственный медицинский университет»
Кафедра патологической физиологии**

**РОЛЬ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ И
МОНООКСИДА АЗОТА В ПРОЦЕССАХ
ДЕТОКСИКАЦИИ И РАЗВИТИЯ
ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА У КРЫС
ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ
ИНТОКСИКАЦИИ РАЗЛИЧНОЙ
ТЯЖЕСТИ**



Лобанова В.В., Висмонт Ф.И.



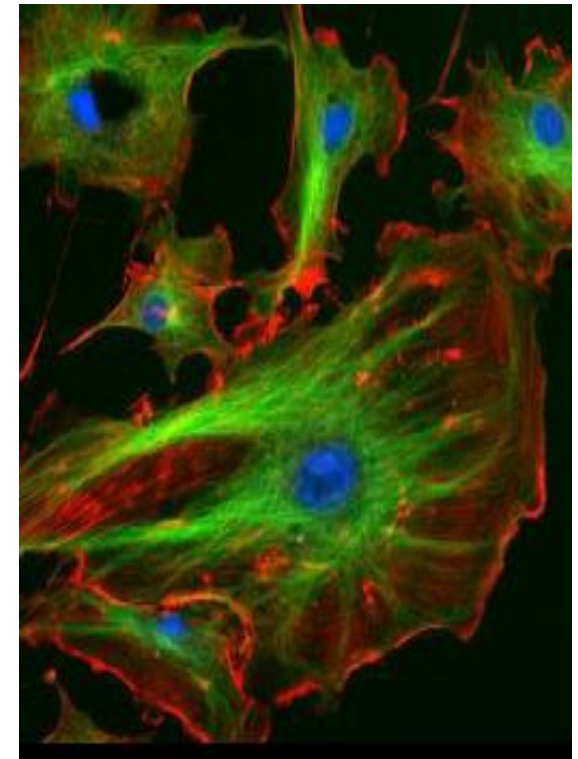
Современная медицина стоит перед проблемой неуклонного роста алкогольной патологии. Прогрессирует официально зарегистрированная заболеваемость алкоголизмом и у нас в республике [Разводовский Ю.Е., 2013; Немцов А.В., 2014; Боброва А.Г., 2017]. Проблема алкоголизма, алкогольной зависимости становится не только одной из актуальнейших проблем современной медицины, но и важнейшей государственной проблемой.

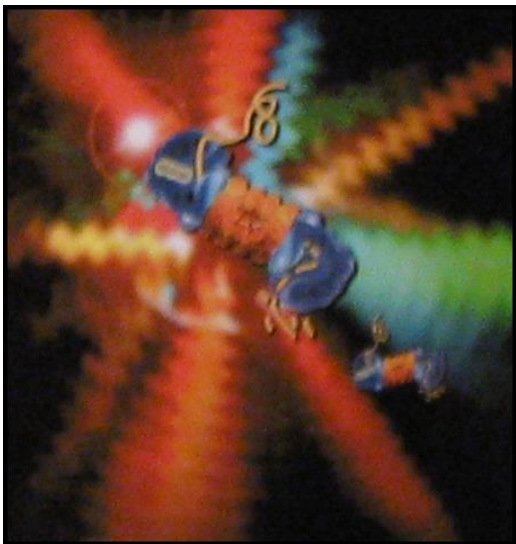
При этиологической ясности проблемы патогенетическая ее сущность до сих пор остается неразрешенной, дискуссионным вопросом.

Как известно, заболеваемость и смертность при регулярном потреблении алкогольных напитков связана с токсическим воздействием этанола на важнейшие органы человека и в первую очередь, печень.

К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении аргиназы печени в процессах детоксикации и жизнедеятельности организма в норме и при патологии [D. Mendez, H. De Haro, V.A. Conejo, 2006; А.Ф. Висмонт, Л.М. Лобанок, 2011].

Учитывая, что активность аргиназы печени лимитирует доступность L-аргинина для NO-синтазы [Hallemeesch M. et al. 2002; Lerzynski G., Suschek C.V., Kolb-Bachoten V., 2006], были основания полагать, что ее активность будет сказываться на синтезе NO, который играет важную роль в процессах жизнедеятельности, детоксикации, ПОЛ и терморегуляции [Gerstberger R., 1999; Scibior D., Czczot H., 2004; Висмонт Ф.И., 2020].



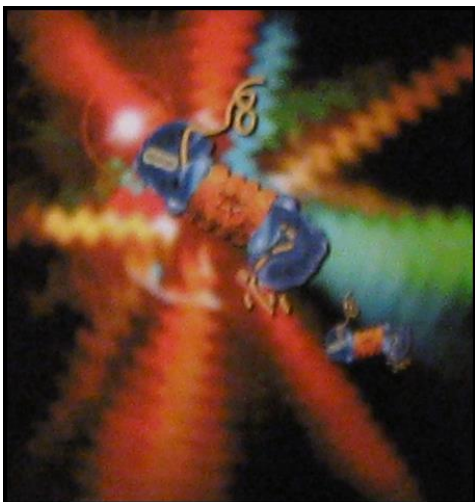


Цель исследования

Выяснить роль аргиназы печени и монооксида азота в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса у крыс при хронической алкогольной интоксикации различной тяжести.

Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Исследовать влияние хронической этаноловой интоксикации различной тяжести на процессы детоксикации, ПОЛ в крови и печени и температуру тела у крыс.
2. Определить уровень нитратов/нитритов и йодсодержащих гормонов в плазме крови у экспериментальных животных в условиях хронической этаноловой интоксикации различной тяжести.
3. Выяснить особенности процессов детоксикации, ПОЛ в крови и печени у крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести в условиях угнетения активности аргиназы печени.
4. Выяснить особенности процессов детоксикации, ПОЛ в крови и печени у крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести в условиях угнетения активности L-аргинин-NO системы.
5. Выяснить особенности изменения активности аргиназы печени, процессов детоксикации, ПОЛ, уровня $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ и трийодтиронина в крови у крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести в условиях депрессии клеток Купфера GdCl_3 .
6. Определить влияние экспериментального гипо- и гипертиреоза на активность аргиназы и детоксикационной функции печени у крыс при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести.



Объект исследования – взрослые белые беспородные крысы (самцы), изолированная из их организма печень, смешанная кровь (плазма).

Предмет Процессы детоксикации, перекисное окисление липидов в печени, уровень три- и тетраiodтиронины в плазме крови.

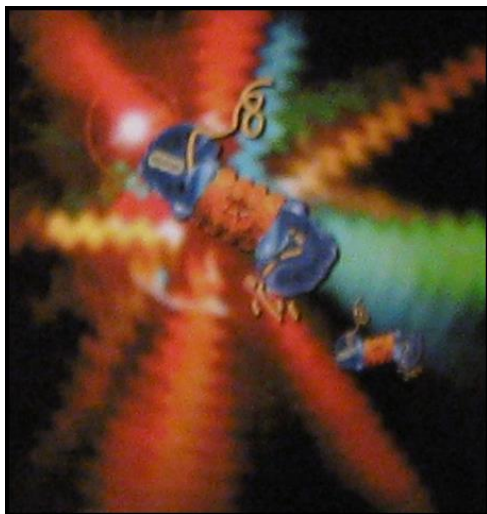
Экспериментальные модели:

Модель хронической алкогольной интоксикации воспроизводили на животных путем интрагастрального введения этанола. Одна группа животных получала ежедневно интрагастрально (и/г) 10%, а другая 30% водный раствор этанола (из расчета 1,0 г и 3,5 г 92% этанола на кг массы тела животного, соответственно) в течение 60 дней.

Экспериментальный гипертиреоз у крыс воспроизводили при помощи синтетического гормона трийодтиронина гидрохлорида (Lyothyronine, «Berlin Chemie», Германия). Препарат вводили в полость желудка на 1%-ном крахмальном растворе ежедневно в течение 60 дней в дозе 30 мкг/кг.

Экспериментальный гипотиреоз у животных воспроизводили путем использования тиреостатика мерказолила (НПО «Укрмедпрепараты», Украина), который в дозе 25,0 мг/кг на 1% крахмальном растворе вводили крысам и/г ежедневно в течение 60 дней.

Методы исследования:



С целью выяснения значимости аргиназы печени и NO в процессах детоксикации и развития оксидативного стресса при хронической алкогольной интоксикации использовали ингибитор аргиназы N^ω-гидрокси-нор-L-аргинин (nor-NOHA) фирмы BACHEM (Германия) и неселективный блокатор NO-синтазы – метиловый эфир N^G-нитро-L-аргинина (L-NAME) фирмы ACROS ORGANICS (США). Nor-NOHA в дозе 10,0 мг/кг вводили крысам внутривенно (в/в) ежедневно в течение 60 дней за 12 часов до введения этанола. L-NAME в дозе 25,0 мг/кг вводили ежедневно в/в за 30 мин до и/г введения животным этанола в течение 60 дней.

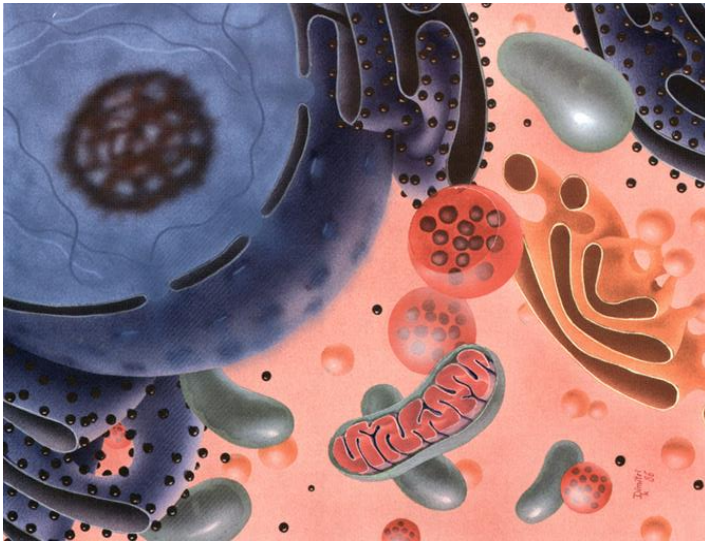
Активность аргиназы печени определяли спектрофотометрически [Geyer J. W., Dabich D., 1971]. Продукцию NO оценивали по суммарному уровню в плазме крови нитратов/нитритов (NO₃⁻/NO₂⁻) [Moshage H. [et al.], 1995].

Активность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в крови и печени оценивали по содержанию в них таких продуктов как малоновый диальдегид (МДА), диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ).

Концентрацию МДА, ДК и ОШ определяли спектрофотометрическим методом. Содержание α-токоферола (α-ТК) в крови и ткани печени определяли флуоресцентным методом. Для определения активности каталазы (КТ) в биологических средах применяли колориметрический метод.

Уровень в плазме крови три- и тетраiodтиронина определяли радиоиммунным методом с помощью тест-наборов химически опытного производства Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Полученные цифровые данные обработаны общепринятыми методами вариационной биологической статистики с помощью критерия Стьюдента. Достоверность результатов учитывали при p<0,05.

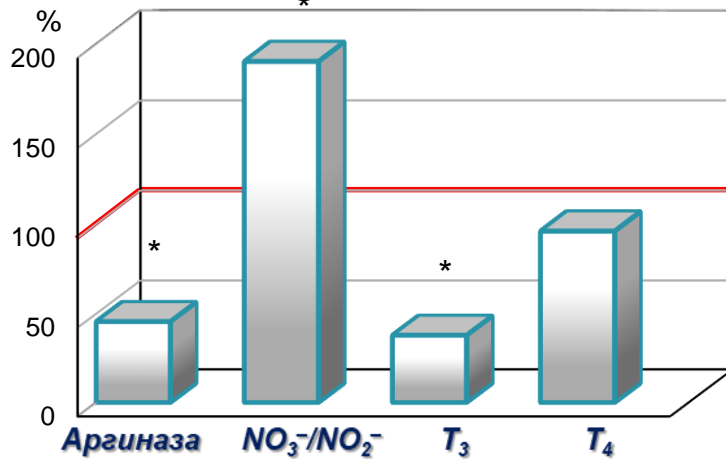


Хроническая алкоголизация крыс этанолом приводит к изменениям активности аргиназы и детоксикационной функции печени, уровня трийодтиронина и нитратов/нитритов в плазме крови, направленность и выраженность которых зависит от тяжести хронической этаноловой интоксикации.

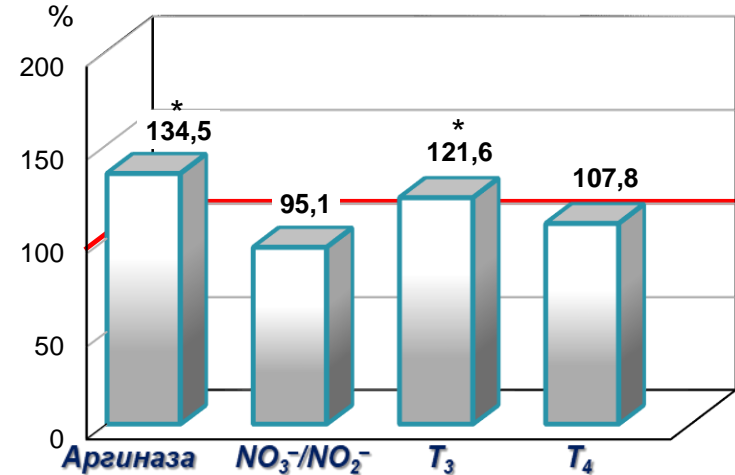
Хроническая интоксикация крыс этанолом, вызванная интрагастральным ежедневным введением в дозе 3,5 г/кг массы тела в течение 60 дней, приводит к снижению активности аргиназы, детоксикационной функции печени, температуры тела, уровня трийодтиронина в плазме крови и повышению в ней уровня нитратов/нитритов, продуктов ПОЛ и активности АлАТ и АсАТ. Интрагастральное введение животным этанола в дозе 1,0 г/кг массы тела в течение двух месяцев приводит к повышению активности аргиназы печени, процессов детоксикации и уровня трийодтиронина в плазме крови, без статистически значимого изменения температуры тела, уровня нитратов/нитритов и активности АлАТ и АсАТ в плазме крови.

ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В ТЕЧЕНИЕ 60 ДНЕЙ

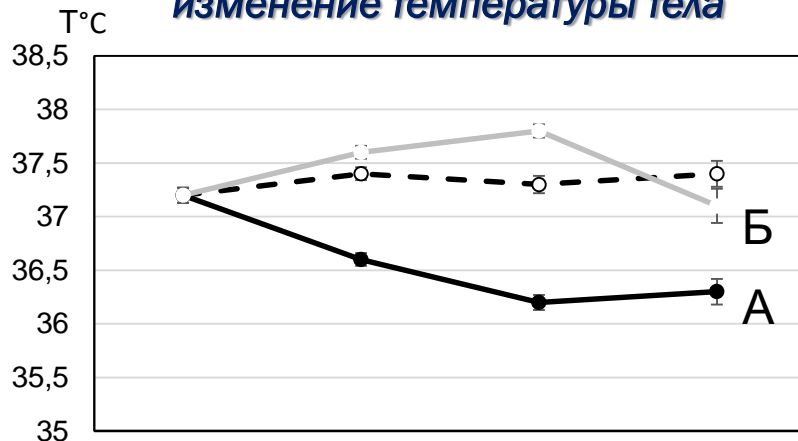
А этанол в дозе **3,5 г/кг** массы тела



Б этанол в дозе **1,0 г/кг** массы тела

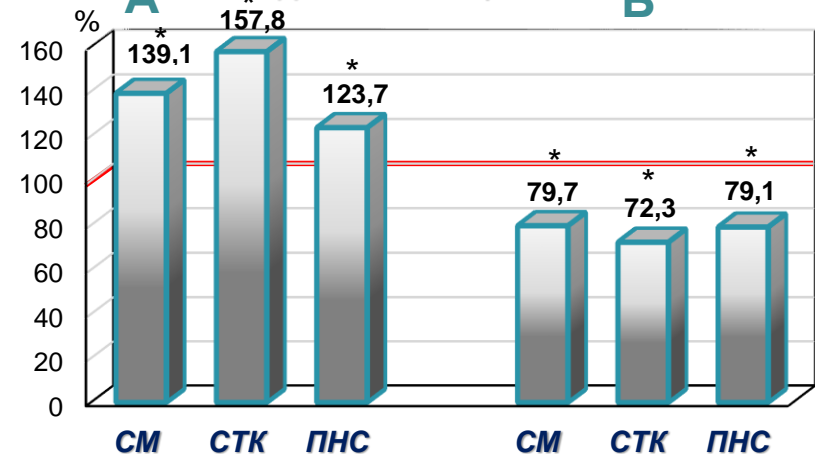


изменение температуры тела



Время (дни)

детоксикация

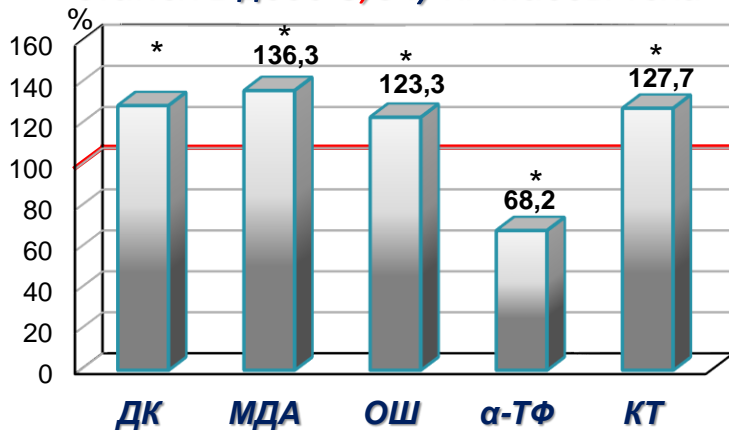


* – изменения достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$): физраствор и/г ежедневно 60 дней

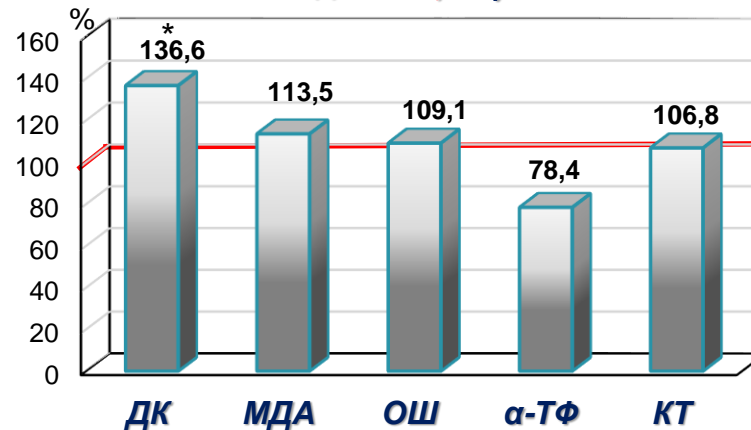
ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В ТЕЧЕНИЕ 60 ДНЕЙ

ПОЛ (печень)

ЭТАНОЛ В ДОЗЕ 3,5 г/кг МАССЫ ТЕЛА

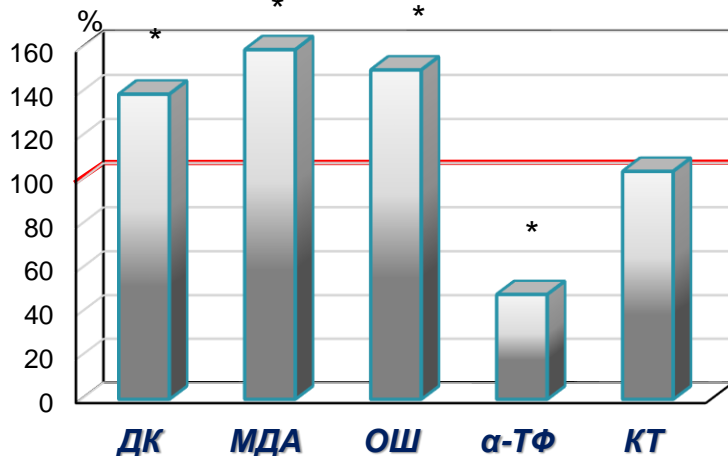


ЭТАНОЛ В ДОЗЕ 1,0 г/кг МАССЫ ТЕЛА

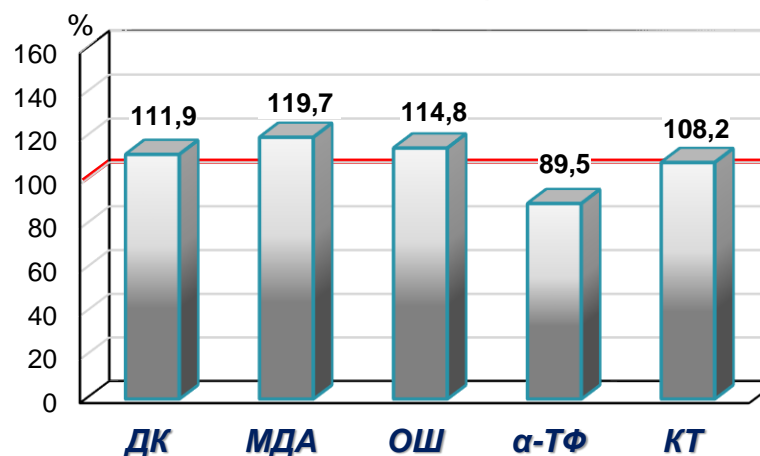


ПОЛ (плазма крови)

ЭТАНОЛ В ДОЗЕ 3,5 г/кг МАССЫ ТЕЛА



ЭТАНОЛ В ДОЗЕ 1,0 г/кг МАССЫ ТЕЛА



* – изменения достоверны по отношению к контролю ($p < 0,05$): физраствор и/г ежедневно 60 дней

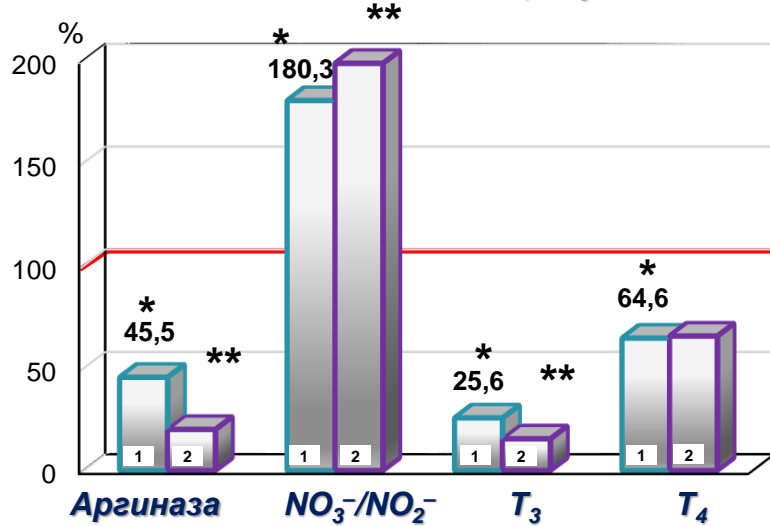


Характер и выраженность изменений процессов детоксикации, ПОЛ в крови и печени и уровня трийодтиронина в плазме крови при хронической этаноловой интоксикации различной тяжести зависят от активности аргиназы печени.

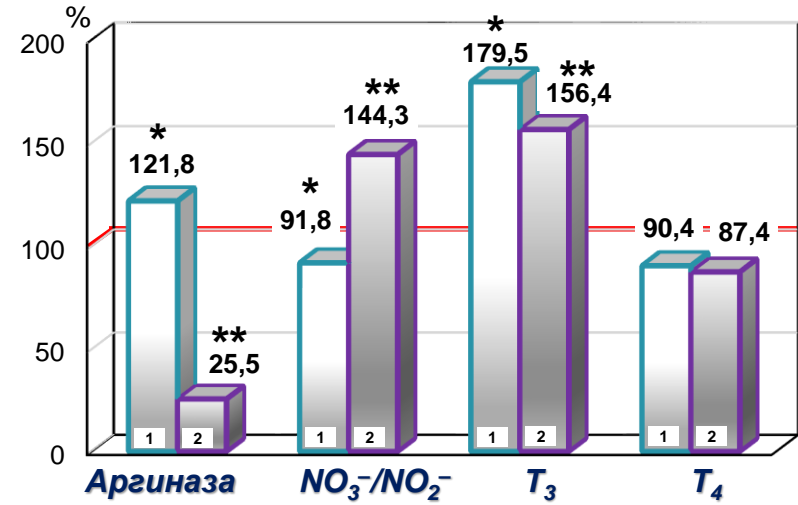
Действие в организме ингибитора аргиназы N^{ω} -гидрокси-нор-L-аргинина способствует развитию характерных изменений в процессах детоксикации (повышению уровня «средних молекул», степени токсичности крови и продолжительности наркотического сна), ПОЛ (повышению уровня диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и оснований Шиффа) и снижение концентрации трийодтиронина в плазме крови при хронической алкогольной интоксикации, вызываемой этанолом в дозе 3,5 г/кг массы тела в течение 60 дней и ослабляет их развитие на действие этанола в дозе 1,0 г/кг массы тела в течение 60 дней.

ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В УСЛОВИЯХ ДЕПРЕССИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ В ТЕЧЕНИЕ 60 ДНЕЙ

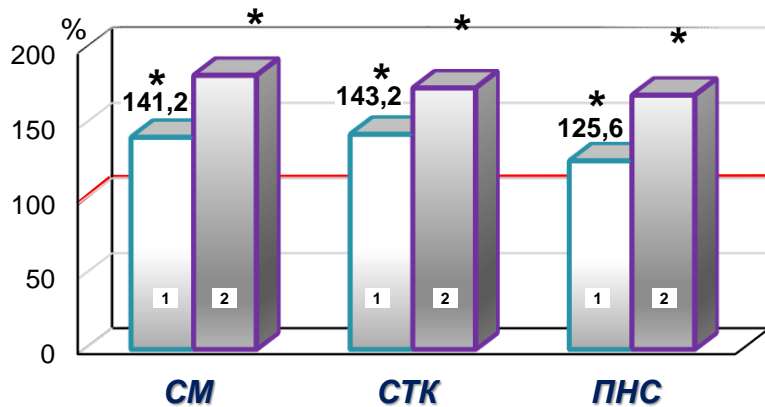
nor-NOHA + этанол 3,5 г/кг



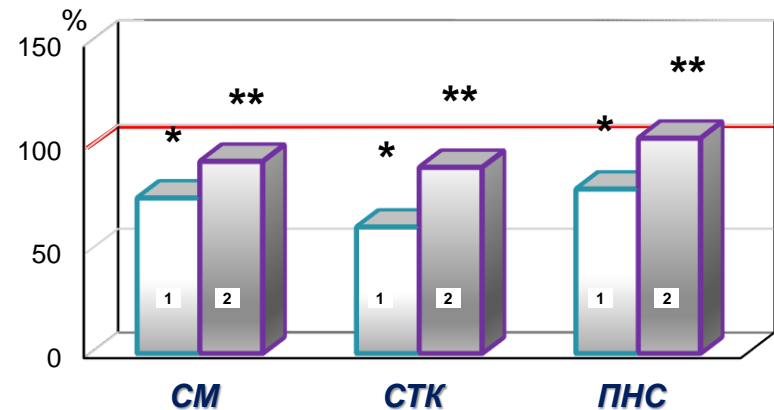
nor-NOHA + этанол 1,0 г/кг



nor-NOHA + этанол 3,5 г/кг



nor-NOHA + этанол 1,0 г/кг



* – изменения достоверны по отношению к контролю K_1 – физраствор в/бр + и/г ежедневно 60 дней

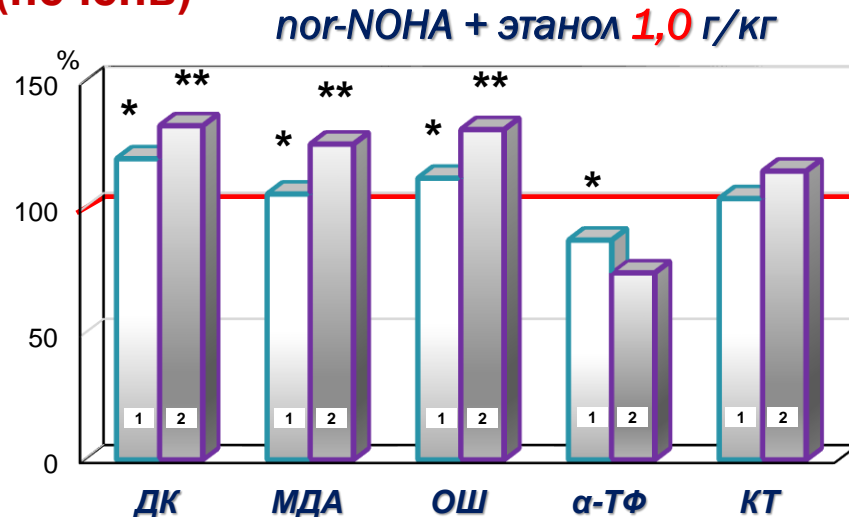
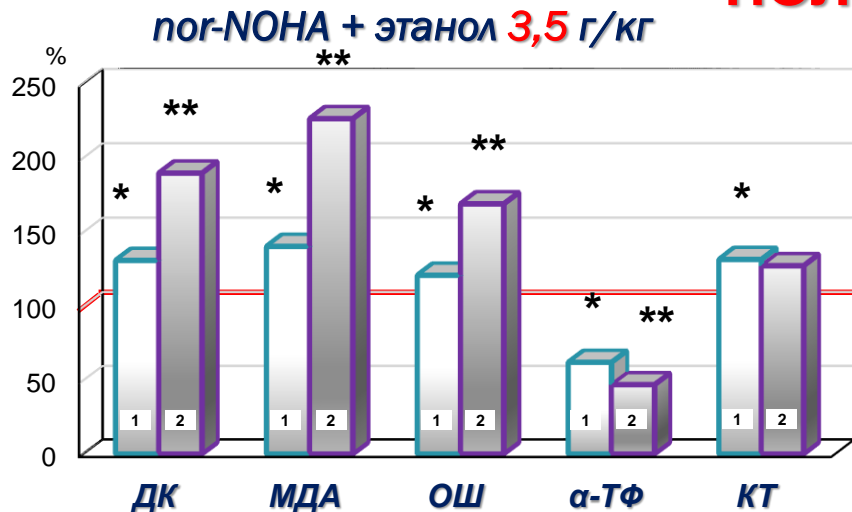
** - изменения достоверны по отношению к контролю K_3 – физраствор в/бр 1 раз в день 60 дней и этанол (3,5 г/кг) и/г ежедневно в течение 2 месяцев.

1 – физраствор в/бр 1 раз в день 60 дней и этанол (3,5 г/кг) и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=8);

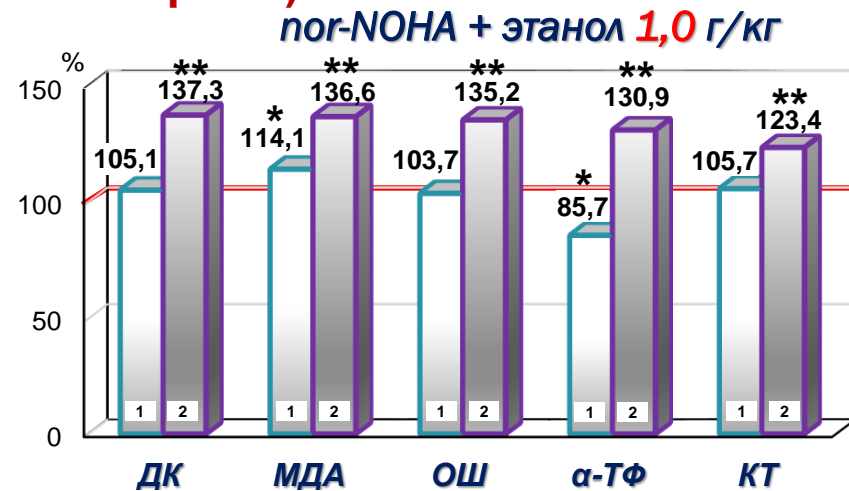
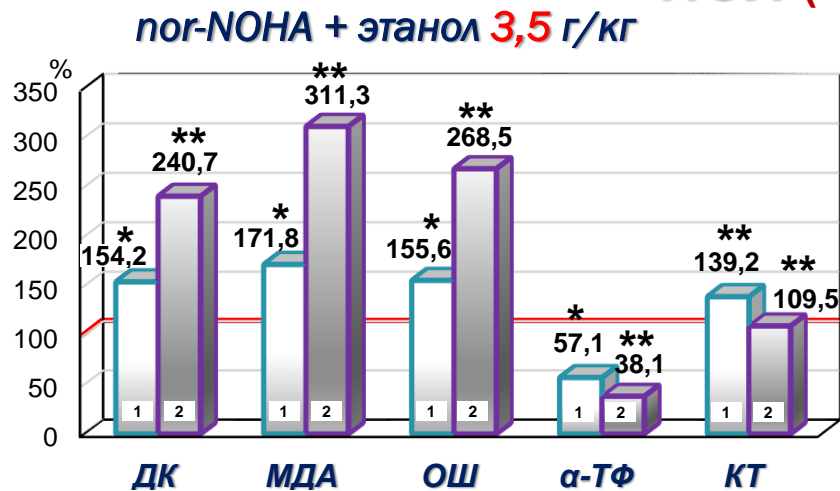
2 – *nor*-NOHA (10 мг/кг) в/бр, 1 раз в день 60 дней и этанол (3,5 г/кг) и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=10)

ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В УСЛОВИЯХ ДЕПРЕССИИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ В ТЕЧЕНИЕ 60 ДНЕЙ

ПОЛ (печень)



ПОЛ (плазма крови)

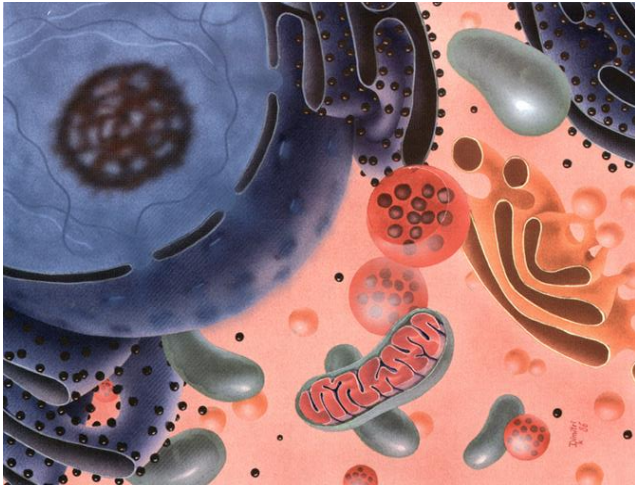


* – изменения достоверны по отношению к контролю К₁ – физраствор в/бр + и/г ежедневно 60 дней

** – изменения достоверны по отношению к контролю К₃ – физраствор в/бр 1 раз в день 60 дней и этанол (3,5 г/кг) и/г ежедневно в течение 2 месяцев.

1 – физраствор в/бр 1 раз в день 60 дней и этанол и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=8);

2 – por-NOHA (10 мг/кг) в/бр, 1 раз в день 60 дней и этанол и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=10)

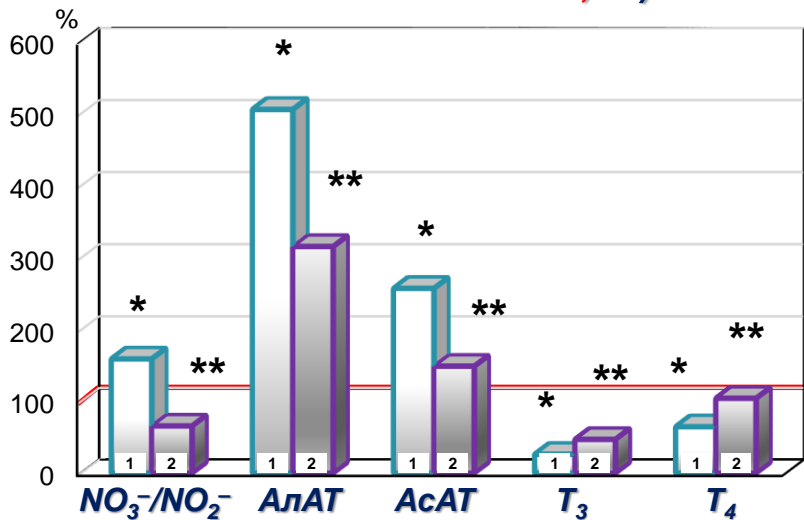


Активность L-аргинин-NO системы имеет значение в развитии изменений детоксикационной функции печени, ПОЛ в крови и печени и активности трансаминаз в плазме крови при хронической алкоголизации, вызванной этанолом и выраженность которых зависит от тяжести хронической алкогольной интоксикации.

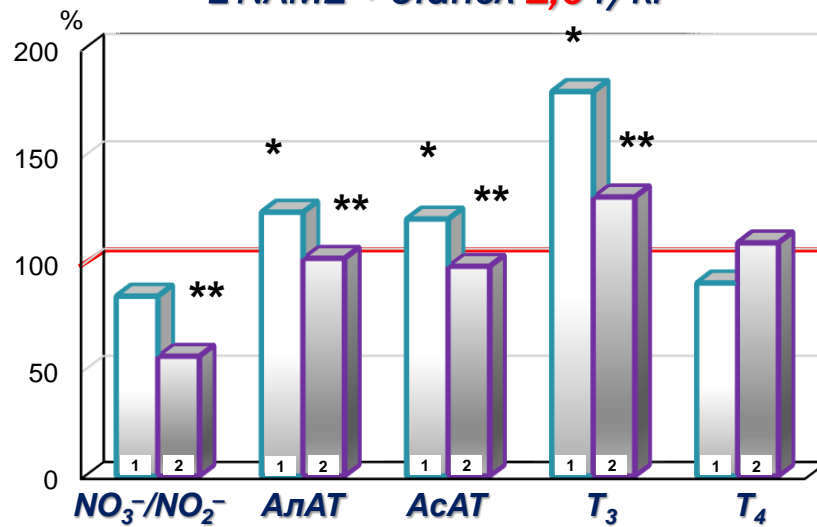
Развитие характерных изменений в процессах детоксикации и ПОЛ в условиях действия в организме ингибитора NO-синтазы метилового эфира N^G-нитро-L-аргинина сопровождается менее выраженным повышением степени токсичности крови, продолжительности наркотического сна, уровня «средних молекул», диеновых конъюгатов, малонового диальдегида и оснований Шиффа и менее значимым снижением уровня трийодтиронина в плазме крови при хронической алкоголизации, вызываемой этанолом в дозе 3,5 г/кг массы тела в течение 60 дней. Интрагастральное введение животным этанола в дозе 1,0 г/кг массы тела в течение двух месяцев в условиях угнетения активности NO-синтазы не приводит к повышению активности процессов детоксикации и уровня трийодтиронина в плазме крови.

ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В УСЛОВИЯХ УГНЕТЕНИЯ АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-НО СИСТЕМЫ

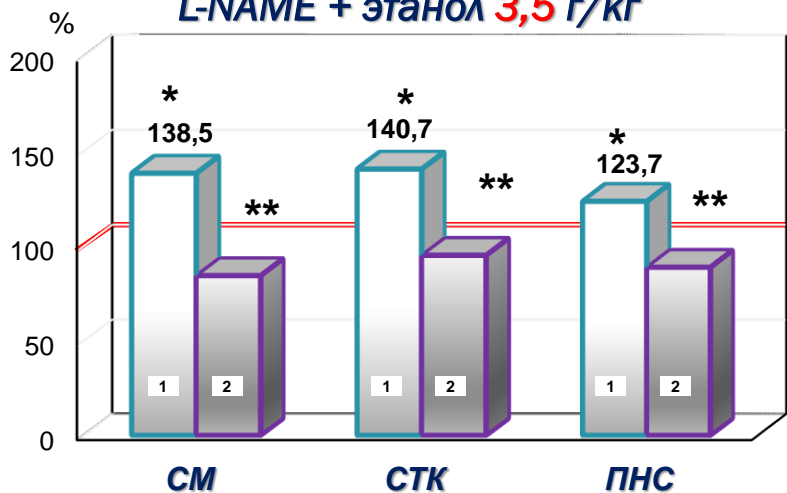
L-NAME + этанол 3,5 г/кг



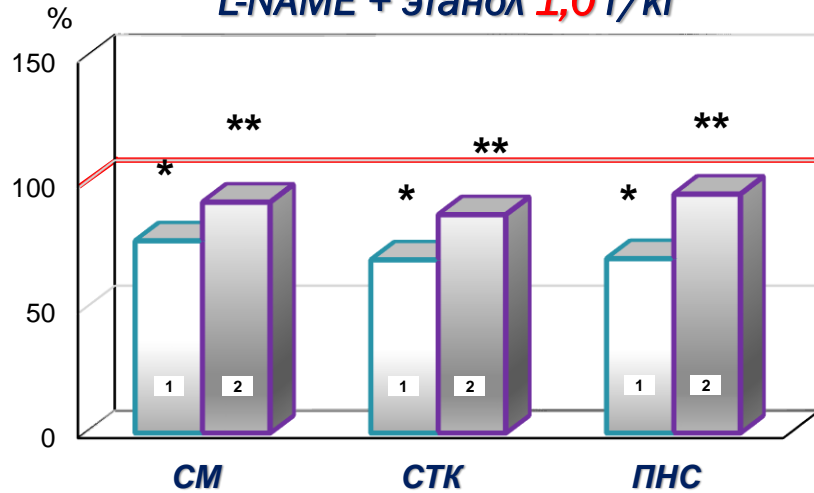
L-NAME + этанол 1,0 г/кг



L-NAME + этанол 3,5 г/кг



L-NAME + этанол 1,0 г/кг



* – изменения достоверны по отношению к контролю: физраствор в/бр + и/г ежедневно 60 дней

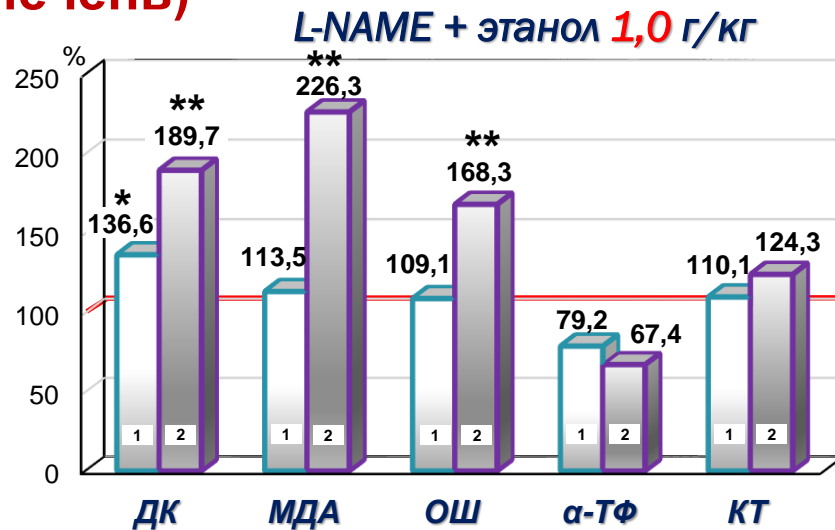
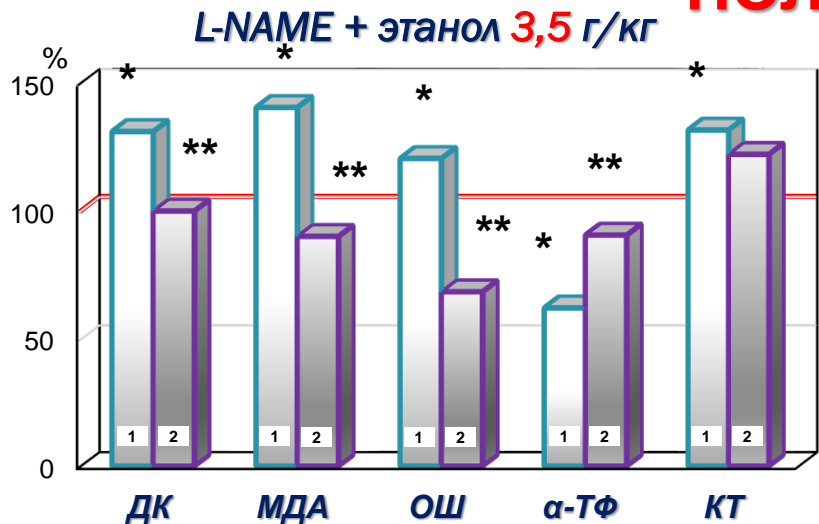
** – изменения достоверны по отношению к контролю: физраствор в/бр ежедневно и этанол и/г ежедневно в течение 2 месяцев

1 – физраствор в/бр 1 раз в день 60 дней и этанол и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=8);

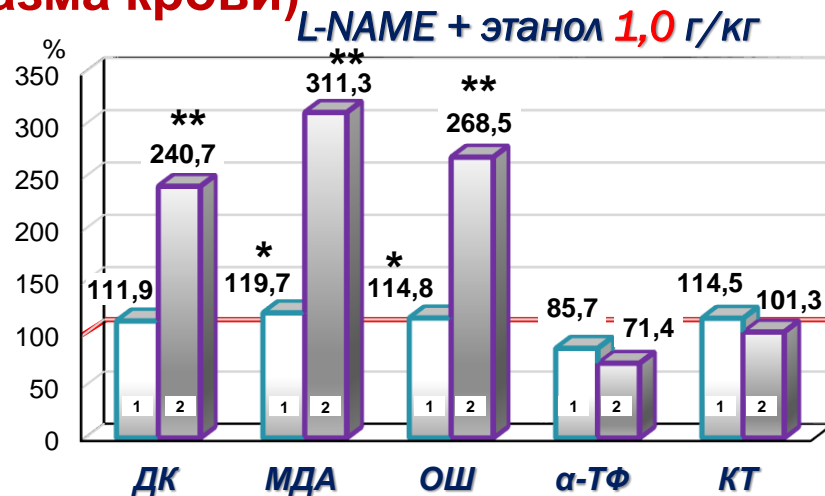
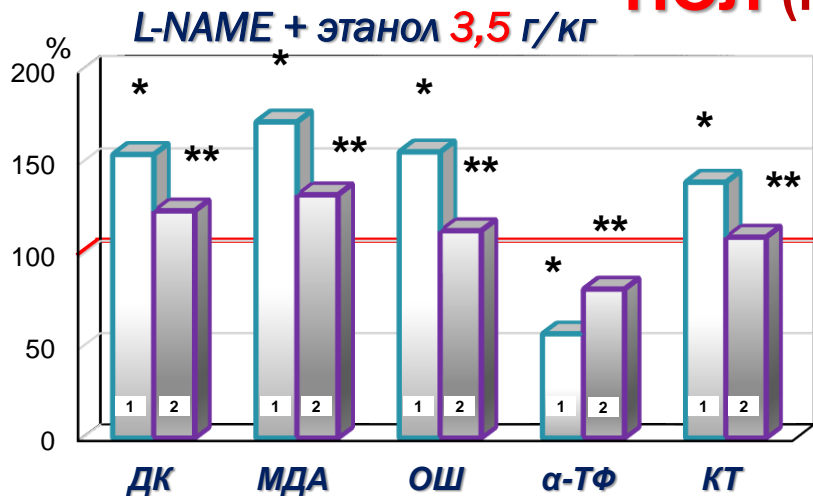
2 – L-NAME (10 мг/кг) в/бр, 1 раз в день и этанол и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=10)

ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В УСЛОВИЯХ УГНЕТЕНИЯ АКТИВНОСТИ L-АРГИНИН-НО СИСТЕМЫ

ПОЛ (печень)



ПОЛ (плазма крови)



* – изменения достоверны по отношению к контролю: физраствор в/бр + и/г ежедневно в течение 60 дней
 ** – изменения достоверны по отношению к контролю: физраствор в/бр ежедневно и этанол и/г ежедневно в течение 2 месяцев
 1 – физраствор в/бр ежедневно и этанол и/г ежедневно в течение двух месяцев (n=8);
 2 – L-NAME (10 мг/кг) в/бр, ежедневно и этанол и/г ежедневно в течение двух месяцев (n=10)

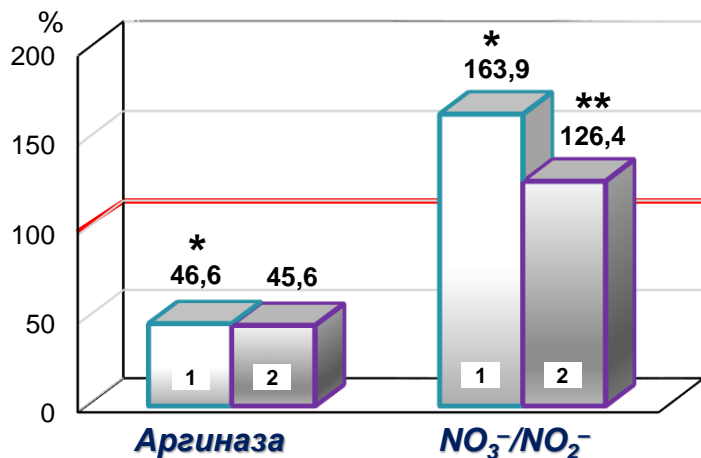


Выраженность изменений активности аргиназы и детоксикационной функции печени при хронической алкогольной интоксикации, вызванной интрагастральным введением этанола, зависит от уровня трийодтиронина в плазме крови.

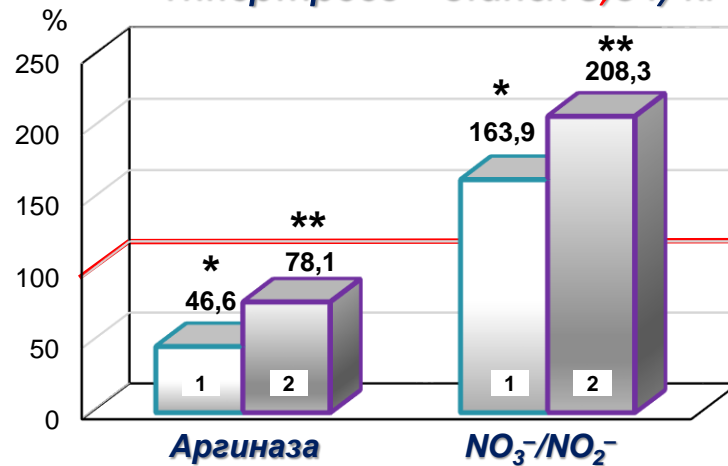
Хроническая алкогольная интоксикация, вызываемая ежедневным интрагастральным введением этанола в дозе 3,5 г/кг массы тела в течение двух месяцев у гипертиреоидных животных, сопровождается более выраженным угнетением активности аргиназы, детоксикационной функции печени, повышением уровня нитратов/нитритов в плазме крови и не приводит к повышению температуры тела. У гипотиреоидных животных введение этанола в аналогичной дозе в течение 60 дней сопровождается менее значимым угнетением активности аргиназы печени, процессов детоксикации и более выраженным повышением содержания нитратов/нитритов в плазме крови.

ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В УСЛОВИЯХ ГИПО- И ГИПЕРТИРЕОЗА

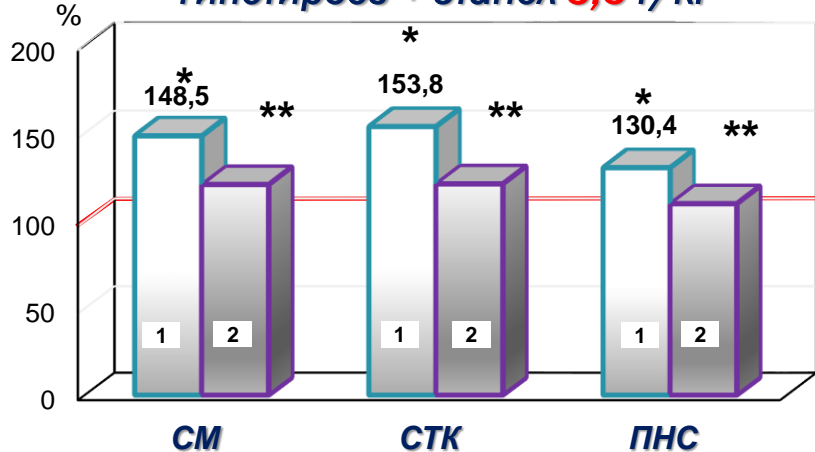
гипотиреоз + этанол 3,5 г/кг



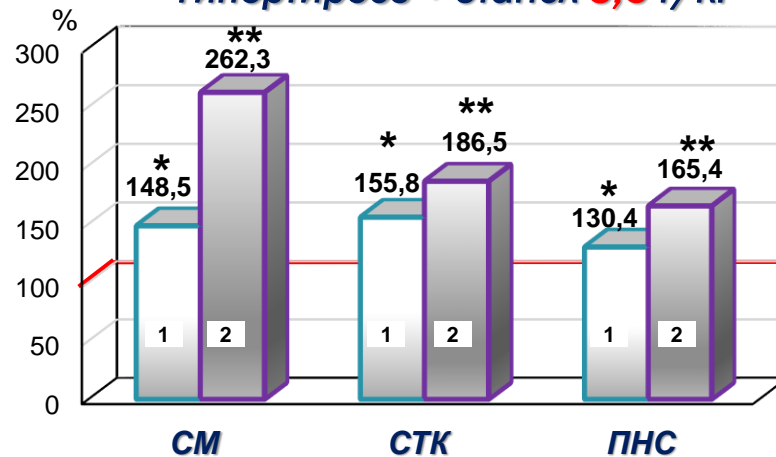
гипертиреоз + этанол 3,5 г/кг



гипотиреоз + этанол 3,5 г/кг



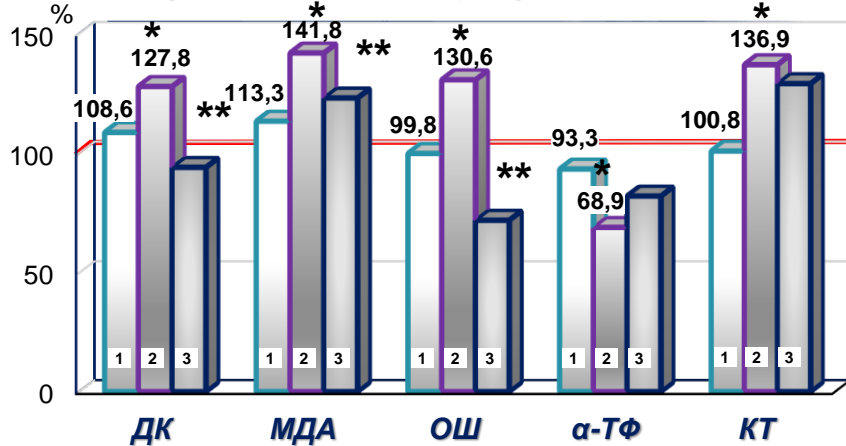
гипертиреоз + этанол 3,5 г/кг



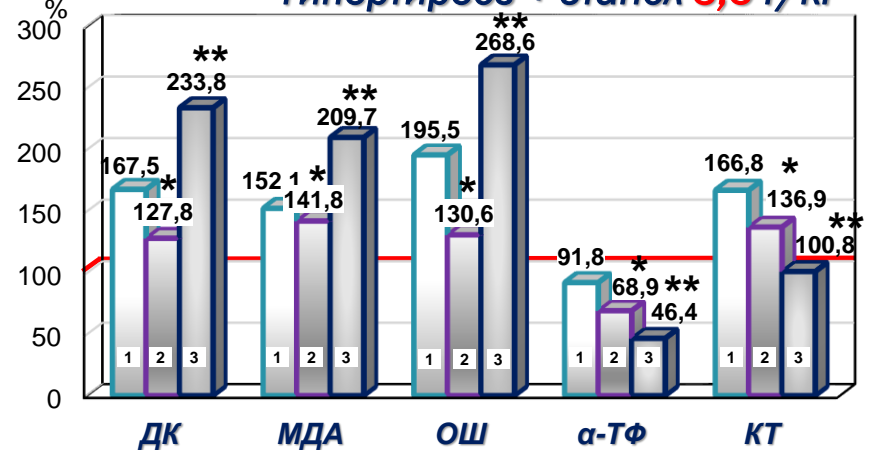
* – изменения достоверны по отношению к контролю: 1% крахмальный раствор и/г и физраствор и/г ежедневно 60 дней
 ** – изменения достоверны по отношению к контролю: физраствор в/бр ежедневно и этанол и/г ежедневно в течение 2 месяцев
 1 – 1% крахмальный раствор и/г ежедневно и этанол (3,5 г/кг) и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=8);
 2 – мерказолил и/г (или трийодтирони и/г) и этанол (3,5 г/кг) и/г ежедневно в течение 2 месяцев (n=10)

ХРОНИЧЕСКАЯ АЛКОГОЛЬНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ КРЫС ЭТАНОЛОМ В УСЛОВИЯХ ГИПО- И ГИПЕРТИРЕОЗА **ПОЛ (печень)**

гипотиреоз + этанол 3,5 г/кг

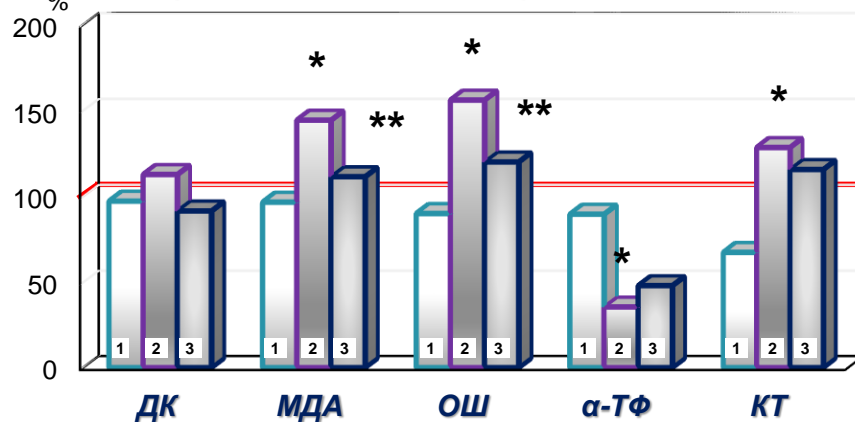


гипертиреоз + этанол 3,5 г/кг

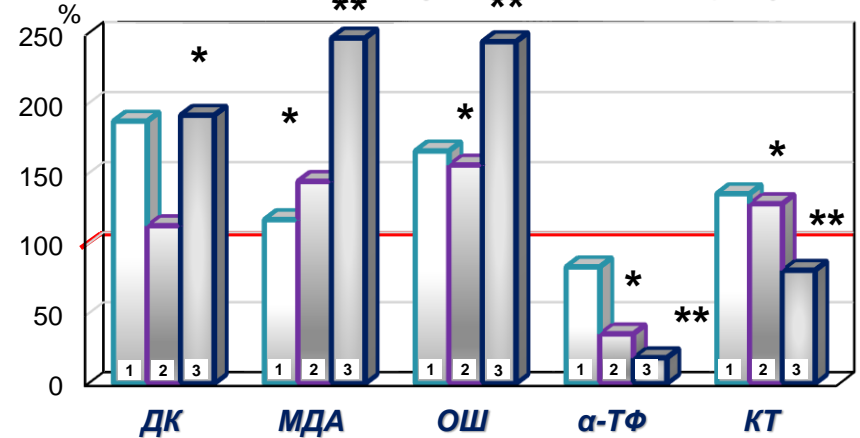


ПОЛ (плазма крови)

гипотиреоз + этанол 3,5 г/кг



гипертиреоз + этанол 3,5 г/кг



* – изменения достоверны по отношению к К (интактные животные), n – число животных;

** – 1% крахмальный p-r илг + 3,5 г/кг этанол илг ежедневно, 60 дней;

1 – T₃ (30 мкг/кг) илг + физраствор илг ежедневно, 60 дней (n=8);

2 – K₂ 1% крахмальный p-r илг + 3,5 г/кг этанол илг ежедневно, 60 дней (n=7);

3 – O T₃ (30 мкг/кг) илг + 3,5 г/кг этанол илг ежедневно, 60 дней (n=8)

Спасибо за внимание!