УДК 617.731+547.261-092.4

© О.В. Недзвецька, Д.О. Петрушенко, 2012.

ЕЛІМІНАЦІЯ ЕТАНОЛУ ТА АЦЕТАЛЬДЕГІДУ З СКЛОВИДНОГО ТІЛА, РЕТРОБУЛЬБАРНОЇ КЛІТКОВИНИ ТА КРОВІ ПІСЛЯ ВІДМІНИ АЛКОГОЛЮ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ХРОНІЧНІЙ АЛКОГОЛЬНІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ

О.В. Недзвецька *, Д.О. Петрушенко**

Харківська медична академія післядипломної освіти, кафедра офтальмології (зав. кафедрою – професор, д.м.н. Дьомін Ю. А.), м. Харків, КЗ «Сумська обласна клінічна лікарня»(головний лікар – В.В. Горох), м. Суми**.*

ELIMINATION OF ETHANOL AND ACETALDEHYDE FROM VITREOUS HUMOUR, RETROBULBAR TISSUE AND BLOOD AFTER ALCOHOL DEPRIVATION IN EXPERIMENTAL CHRONIC ALCOHOLIC INTOXICATION

O.V. Nedzvetska, D.O. Petrushenko

SUMMARY

The investigation was performed in 42 male Chinchilla rabbits. Control group consisted of 6 rabbits. 36 rabbits were in conditions of chronic alcoholic intoxication for 8 weeks. Elimination of ethanol and acetaldehyde from blood, vitreous humour and retrobulbar tissue after 4 weeks of alcohol deprivation as well as the impact of polyoxidonium on that processes were studied. The study found that in chronic alcoholic intoxication acetaldehyde deposition in retrobulbar tissue occurs and the combined treatment with polyoxidonium by endonasal electrophoresis and intravenous infusion promotes its elimination. Optimal concentration of the solution of polyoxidonium for endonasal electrophoresis is 0,15%.

ЭЛИМИНАЦИЯ ЭТАНОЛА И АЦЕТАЛЬДЕГИДА ИЗ СТЕКЛОВИДНОГО ТЕЛА, РЕТРОБУЛЬБАРНОЙ КЛЕТЧАТКИ И КРОВИ ПОСЛЕ ОТМЕНЫ АЛКОГОЛЯ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

О.В. Недзвецкая, Д.А. Петрушенко

РЕЗЮМЕ

Исследование проведено на 42 кроликах самцах породы Шиншилла. 6 кроликов составили контрольную группу. 36 кроликов находились в условиях хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) 8 недель. Изучали элиминацию этанола и ацетальдегида из стекловидного тела, ретробульбарной клетчатки и крови через 4 недели после отмены алкоголя и влияние полиоксидония на эти процессы. Выявлено, что при ХАИ происходит депонирование ацетальдегида в ретробульбарной клетчатке, а комбинированное введение полиоксидония в виде эндоназального электрофореза и внутривенной капельной инфузии способствует его элиминации. Оптимальной концентрацией раствора полиоксидония для эндоназального электрофореза является 0,15%.

Ключові слова: этанол, ацетальдегид, хронічна алкогольна інтоксикація, поліоксидоній

Відомо, що при хронічній алкогольній інтоксикації (ХАІ) вражається зоровий нерв. [1, 7]. Лікування токсичної оптичної нейропатії алкогольного генезу залишається актуальним завданням, що визначає доцільність вивчення її патогенетичних механізмів. Етанол (Е) в організмі підлягає окисленню за допомогою алкогольдегідрогенази з утворенням ацетальдегіду (АА), який головним чином і зумовлює токсичні ефекти алкоголю. Саме АА має прямий нейротоксичний вплив та вважається основним медіатором нейротоксичності з усіх метаболітів Е. [10]. Доведено, що в процесі розвитку хронічного алкоголізму відбувається зростання в крові етанолу та АА, при чому зростає співвідношення АА/Е [8]. Саме з накопиченням АА пов'язують локальну органотоксичність Е при його хронічному вживанні. [5,6]. Ступінь накопичення АА в жировій тканині є маркером ХАІ, що використовують в судово-медичній експертизі. При визначенні вмісту АА в субепікардіальній жировій клітковині більше за 5 мг/кг факт ХАІ вважають доведеним [2,11]. Оскільки жирова тканина є складовою ретробульбарної клітковини (РБК), є підстави припустити, що при ХАІ депонування АА відбувається і в РБК, що може призводити до пролонгування токсичного впливу АА на зоровий нерв навіть за умов відмови від вживання алкоголю і таким чином сприяти розвитку алкогольної оптичної нейропатії. На користь

цієї гіпотези також свідчить факт, що найбільш глибокі патанатомічні зміни в тканині зорового нерву при ХАІ відбуваються саме в ретробульбарній та внутрішньоканальній частині зорового нерву [1, 4, 7]. Дослідження АА в РБК при ХАІ раніше не проводили, втім ми вважаємо це доцільним для поповнення даних про патогенез токсичного ураження зорового нерву та обгрунтування нових методів лікування.

Мета - вивчити особливості елімінації Е та АА з крові, скловидного тіла (СТ) та РБК після відміни алкоголю при ХАІ та вплив поліоксидонію на ці процеси в експерименті.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Моделювання ХАІ здійснювалося таким чином: 36 кролів породи шиншила (самці) віком 5-6 місяців вагою 3-4 кг отримували інтрагастрально через зонд Е 96% у розведенні 1:3 з водою в дозі 2,5-3,0 мл/кг на добу чистого алкоголю щодня протягом 8 тижнів. [9]. Контрольну групу (група 0) склали 6 кролів самців породи шиншила відповідного віку та маси. Піддослідні тварини були розділені на 6 груп по 6 кролів у кожній. Усі тварини знаходились на однаковому раціоні харчування, в стандартних умовах віварію та виводились з експерименту методом повітряної емболії у стані глибокого наркозу (для наркозу використовували тіопентал натрію 10% у дозі 1 мл/кг внутрішньовенно). Через 8 тижнів ХАІ 6 кролів (група 1) були виведені з експерименту. 30 кролів, що залишились, склали групи 2, 3, 4, 5 та 6. Група 2 не отримувала алкоголь протягом 4 тижнів. Групи 3, 4 та 5 не отримували алкоголь протягом 4 тижнів та з першого дня після припинення вживання алкоголю отримували поліоксидоній в/в краплинно з 50 мл фізіологічного розчину та у вигляді ендоназального електрофорезу в сумарній добовій дозі 0,3 мг/кг через день N.5. При чому група 3 отримувала поліоксидоній шляхом ендоназального електрофорезу у вигляді 0,3%-го розчину (6 мг препарату розчиняли в 2 мл фізіологічного розчину), група 4 – 0,15%-го розчину (6 мг поліоксидонію в 4 мл фізіологічного розчину), група 5 - 0,1%-го розчину (6 мг поліоксидонію в 6 мл фізіологічного розчину). Група 6 не отримувала алкоголь протягом 4 тижнів та з першого дня після припинення вживання алкоголю отримувала поліоксидоній тільки в/в краплинно в дозі 0,3 мг/кг у 50 мл фізіологічного розчину через день N. 5. Вміст Е та АА у цільній крові визначали перед початком експерименту (значення відповідали таким у контрольній групі), через 8 тижнів та через 12 тижнів від початку експерименту. Кров забирали вранці натщесерце через 24 години після останнього прийому алкоголю. Вміст Е та АА в СТ та в гомогенаті РБК визначали після виведення тварин з експерименту.

Рівень АА та Е в цільній крові (ЦК), СТ та гомогенаті РБК визначали методом капілярної газової хроматографії. Дослідження виконані за допомогою хроматографу «Кристалл 2000М» з капілярною колонкою HP-FFAP 50м х 0,32 мм х 0,52 мкм. Умови хроматографічного розподілу: температура колонок 75° С, температура випарника 200°С, детектора 250°С. Газ-носій – гелій; ділення потоку – 1:10. Внутрішній стандарт – n-пропанол. Час хроматографування – 9 хвилин.

ЦК, СТ та РБК забирали при температурі $+4^0$С в герметизовані та попередньо охолоджені при температурі 0^0С - $+5^0$С скляні пробірки. Відбирали 0,5 мл цільної гепаринізованої крові та додавали 0,1 мМ н-пропанол у рівних пропорціях у якості внутрішнього стандарту. Для зниження розчинності Е та АА додавали 0,2 г NaCl, вносили в скляні флакони з резиновими пробками об'ємом 20 мл і термостатували 15 хвилин при 65^0С, відбирали 0,5 мл газової фази скляним шприцем та вводили в хроматограф. До скловидного тіла додавали вищезазначені реактиви у відповідних пропорціях. Наважку тканини РБК 1 г гомогенізували в скляному гомогенізаторі з 2 мл дистильованої води та 0,1 мМ н-пропанолу, центрифугували 20 хвилин при 4000 g та $+4^0$С у пробірках, закритих пробками. 1 мл супернатанту вносили в скляні флакони з резиновими пробками об'ємом 20 мл і термостатували 15 хвилин при 65^0С, відбирали 0,5см^3 газової фази скляним шприцем та вводили в хроматограф.

Статистична обробка даних здійснювалася за допомогою пакету програм "SPSS 15.0 for Windows".

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В контрольній групі тварин до початку експерименту в ЦК вміст Е складав у середньому 1,000±0,1291 х 10^{-3} г/л, АА не визначався, що відповідає літературним даним [6], при чому рівень Е та АА крові достовірно не змінювався через 8 та 12 тижнів від початку експерименту, що дозволяє виключити вплив умов утримування та харчування тварин на дані експерименту. Значення середніх рівнів Е та АА в усіх досліджуваних групах до початку експерименту статистично не відрізнялося, що свідчить про однотипове вихідне функціонування етанолметаболізуючих ферментних систем тварин усіх груп.

У ЦК кролів (таб. 1) рівень Е протягом експерименту достовірно не змінювався. При одномірному дисперсійному аналізі виявлено, що рівень значимості різності між середніми значеннями рівня Е в СТ й РБК та АА в усіх досліджуваних середовищах в групах достовірний ($p<0,01$), що дозволяє аналізувати їх методом попарного порівняння.

Після 8 тижнів ХАІ (група 1) рівень Е в СТ й РБК та АА ЦК, СТ й РБК достовірно зростав (таб.1). Найбільш вираженим було зростання рівня Е в СТ – до 2945,0 х 10^{-3} г/л (проти 1,402±0,0295 х 10^{-3} г/л у контрольній групі), оскільки Е у СТ зберігається довше, ніж у крові й має зв'язок з максимальною концентрацією Е ЦК при гострій алкогольній

Таблиця 1

Динаміка вмісту етанолу (Е) та ацетальдегіду (АА) у цільній крові (ЦК), скловидному тілі (СТ) та ретробульбарній клітковині (РБК), ×10^{-3} г/л у кролів (в кожній групі n=6)

		Контрольна група	Після інтоксикації	4 тижні алкогольної депривації	4 тижні алкогольної депривації + поліоксидоній			
Група		0	1	2	3	4	5	6
Кількість тижнів від початку експерименту		12	8	12	12	12	12	12
ЦК	Е	1,000±0,1291	1,300±0,1183	1,100±0,1390	1,003±0,0441	1,198±0,0212	1,105±0,0291	1,103±0,0056
	АА	0	1,105±0,0255*	0^	0 ^	0^	0^	0^
СТ	Е	1,402±0,0295	2945,002±72,796*	1,498±0,0677^	1,602±0,0521^	1,600±0,0949^	1,402±0,0250^	1,500±0,1322^
	АА	0,101±0,0029	0,200±0,0069*	0,102±0,0030^	0,096±0,0047^	0,105±0,0038^	0,101±0,0037^	0,098±0,0047^
РБК	Е	12,005±0,4306	15,802±0,5700*	12,702±0,4204^	11,497±0,6241^	11,603±0,4170^	12,003±0,5232^	11,798±0,5595^
	АА	0,600±0,2259	6,702±0,1022*	6,405±0,1606*	0,997±0,0410^	1,072±0,1163^	4,405±0,0613*	5,005±0,1933*

*- Достовірність різниці з контрольною групою $p<0,05$

^ - Достовірність різниці з рівнем після інтоксикації $p<0,05$

інтоксикації [3]. Але рівень Е в СТ й РБК та АА в ЦК й СТ в групі 2 знижалися до рівня, що достовірно не відрізнявся від рівня контрольної групи, що вказує на повну природну метаболізацію надлишкових рівнів Е та АА у вищезазначених середовищах через 4 тижні алкогольної депривації.

Таблиця 2

Попарне порівняння рівня АА в РБК у досліджуваних групах тварин (критерій Bonferroni)

J / I	0	1	2	3	4	5	6
0		6,102*	5,805*	0,397	0,472	3,805*	4,405*
1	-6,102*		- 0,297	-5,705*	-5,630*	-2,297*	-1,697*
2	-5,805*	0,297		-5,408*	-5,333*	-2,000*	-1,400*
3	-0,397	5,705*	5,408*		0,075	-3,408*	-4,008*
4	-0,472	5,630*	5,333*	-0,075		-3,333*	-3,933*
5	-3,805*	2,297*	2,000*	3,408*	3,333*		-0,600*
6	-4,405*	1,697*	1,400*	4,008*	3,933*	0,600*	

* – різниця достовірна, $p<0,05$

I, J – групи, що порівнювали

Рівень АА в РБК, що після 8 тижнів ХАІ достовірно підвищувався в 11,11 рази порівняно з відповідним рівнем у контрольній групі (група 1), через 4 тижні алкогольної депривації без лікування (група 2) достовірно не зменшився (таб. 1, 2), що свідчить про депонування АА в РБК. В групах 3, 4, 5 та 6 (після лікування поліоксидонієм) спостерігалося достовірне зниження рівня АА РБК порівняно з групою 2 (після 8 тижнів ХАІ), що вказує на те, що застосування поліоксидонію сприяє видаленню АА з РБК. При чому в групах 3, 4, 5, в яких використовували комбіноване введення поліоксидонію у вигляді ендоназального електрофорезу та внутрішньовенної крапельної інфузії, зниження рівня АА РБК порівняно з групою 2 (після 8 тижнів ХАІ) було більш вираженим, ніж у групі 6 (критерій Bonferroni -5,705, -5,630 та -2,297 проти -1,697 відповідно), що свідчить про те, що ендоназальний електрофорез є ефективним шляхом введення поліоксидонію щодо прискорення елімінаціїї АА з РБК. Але ж у групах 5 та 6 АА РБК знижувався до рівня, що достовірно перевищував рівень контрольної групи (критерій Bonferroni 3,805 та 4,405 відповідно); а в групах 3 та 4, різниця між якими була не достовірною, АА РБК достовірно не відрізнявся від рівня контрольної групи (критерій Bonferroni 0,397 та 0,492 відповідно). Таким чином, найбільш оптимальним є застосування поліоксидонію для ендоназального електрофорезу у вигляді 0,15%-го розчину.

ВИСНОВКИ

1. В ретробульбарній клітковині при ХАІ депонується ацетальдегід, що є високотоксичним метаболітом етанолу (через 8 тижнів ХАІ в ретробульбарній клітковині спостерігали зростання ацетальдегіду в 11,11 рази, етанолу – в 1,32 рази), який не метаболізується звідти природним шляхом протягом значного періоду часу (у кролів - більшого за 4 тижні), що пролонгує токсичний вплив цього метаболіту на оточуючі тканини навіть після припинення вживання алкоголю.

2. Застосування комбінованого введення поліоксидонію у вигляді ендоназального електрофорезу та внутрішньовенної крапельної інфузії є більш ефективним для елімінації ацетальдегіду з ретробульбарної клітчатки, ніж тільки внутрішньовенна крапельна інфузія тієї ж дози препарату, отже ендоназальний електрофорез поліоксидонію сприяє елімінації ацетальдегіду з ретробульбарної клітчатки.

3. Експериментальне дослідження показало, що оптимальним для елімінації ацетальдегіду з ретробульбарної клітчатки є введення поліоксидонію шляхом ендоназального електрофорезу в концентрації 0,15%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гусова М. К. Токсическое поражение зрительного нерва при интоксикации алкоголем: дис. … канд. мед. наук : 14.00.08 / Мадина Казбековна Гусова. – Москва, 2008. – 116 с.

2. Ивашкин В. Т. Алкогольная кардиомиопатия / В. Т. Ивашкин, О.М. Драпкина, Я.И. Ашихмин // Медицинская помощь. – 2006. – №3. – С.11-15

3. Коротун В. Н. Судебно-медицинская диагностика алкогольной интоксикации исследованием синовиальной жидкости в постмортальном периоде : дис. … канд. мед. наук : 14.00.08 : 14.00.24 / Валерий Николаевич Коротун. – Москва. – 2008. – 173 с.

4. Недзвецкая О.В. Влияние препарата полиоксидоний на процессы репарации зрительного нерва при экспериментальной хронической алкогольной интоксикации / О.В. Недзвецкая, Д.А. Петрушенко // Офтальмологический журнал. – 2011. – №2. – С. 58-61

5. Пиголкина Е. Ю. Ацетальдегид: нейромодулятор алкогольной интоксикации / Е. Ю. Пиголкина, Ю. Е. Морозов // Судебно-медицинская экспертиза. – 2002. – №4. – С.40-45.

6. Пронько П.С. Роль ацетальдегида в механизмах метаболической адаптации организма к алкогольной интоксикации: Автореф. дис. … д.б.н. / Павел Сергеевич Пронько. – Гомель. – 2004. - 46 с.

7. Трон Е.Ж. Заболевания зрительного пути / Е.Ж. Трон – Л.: Медицина. – 1968. – 551с.

8. Харченко Н. К. Особливості метаболічних і психофізіологічних зрушень у хворих на різних стадіях хронічного алкоголізму / Н. К. Харченко // Фізіологічний журнал. - Київ, 1999. - Т. 45, № 3. - С. 79-86

9. Ярош А.А. Влияние хронической алкогольной интоксикации на течение процессов дегенерации и регенерации в нервных стволах / А.А. Ярош, Т. И. Ильяш // Врачебное дело. – 1977. - №2. – С.115-117

10. Koike H. Alcoholic neuropathy / H. Koike, G. Sobue // Current Opinion in Neurology. – 2006. – Vol.19. – № 5. – P. 481-486

11. Riedl O. Klinicka toxikologie. Toxikologie leku, potravin, jedovatych zivocichu a rostlin a jinych / O. Riedl, V. Vondracek . – Praha: Avicenum. – 1980. – 820+43 s.