

ISSN 1995-4441



Медико-биологические
и социально-психологические
проблемы безопасности
в чрезвычайных ситуациях

№ 3 2014

Medico-Biological and Socio-Psychological
Problems of Safety in Emergency Situations

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕЙРОТОКСИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ ЭТАНОЛА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПЕПТИДНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова (Россия, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6)

В экспериментах на крысах изучены нейротоксические эффекты, развивающиеся при острой крайне тяжелой интоксикации этанолом, а также проведена сравнительная оценка эффективности пептидных препаратов «Моликсана» и «Семакса» в качестве средств коррекции этих нарушений. Функции центральной нервной системы (двигательную и исследовательскую активность, скорость принятия решения, способность к пространственной ориентации, состояние поисковой и исследовательской активности, физическую выносливость) изучали по методикам «открытое поле», «крестообразный лабиринт», «вертикальный стержень» на 2-, 5-, 7-е и 14-е сутки после введения этанола. Этanol в виде 40 % раствора вводили внутривенно в дозе 1,5 ЛД₅₀ (12 г/кг), моликсан – внутривенно в разовой дозе 30 мг/кг, семакс – интраназально в разовой дозе 3 мг/кг. Использовали лечебно-профилактическую (за 1 ч до и сразу после введения этанола) схему применения препаратов. Установлено, что этанол вызывает у крыс нарушение двигательной, исследовательской и поисковой активности, скорости принятия решений, пространственной ориентации и физической выносливости, которые регистрируются в течение 2 нед после начала интоксикации. Применение моликсана, семакса и их сочетания ускоряло восстановление функций центральной нервной системы, нарушенных вследствие введения высоких доз этанола. Монотерапия алкогольной интоксикации семаксом, моликсаном и комбинированная терапия совместным применением обоих препаратов не отличались по эффективности друг от друга.

Ключевые слова: этанол, интоксикация, нейротоксичность, пептиды, терапия, двигательная и исследовательская активность, пространственная ориентация, физическая выносливость.

Введение

Чрезвычайные ситуации, связанные с отравлениями этанолом и его суррогатами, часто встречаются как на территории Российской Федерации, так и в зарубежных странах.

По данным Российской ассоциации общественного здоровья, уровень потребления алкоголя в России является одним из самых высоких в мире, а медико-социальные, демографические и экономические последствия острой алкоголизации в нашей стране выходят на одно из первых мест. Неумеренное потребление алкоголя в течение короткого периода времени способно вызвать острое отравление этанолом, являющееся зачастую основной причиной смертельных исходов [13, 16]. В последнее десятилетие в России ежегодно регистрируются от 20 до 45 тыс. смертельных случаев от отравления алкоголем, часто связанных с групповыми и массовыми интоксикациями [8, 29].

Отравления этанолом и его суррогатами получили широкое распространение и на террито-

рии зарубежных стран: только за короткий период в 2011–2012 гг. жертвами массовых алкогольных отравлений стали 470 человек, из них с летальным исходом в Чехии – 27, в Словакии – 17, в Эквадоре – 21 человек [4].

В современной терапии неотложных состояний, связанных с употреблением алкоголя, широко используются средства с нейрометаболической активностью – ГАМК-ergicические, серотонинергические, дофаминергические, холинергические модуляторы и модификаторы метаболизма спиртов [2, 24]. В лечении алкогольных интоксикаций также применяют ноотропы и антигипоксанты, которые оказывают нейропротекторное, а именно, церебропротекторное действие, а также стимулируют неспецифическую резистентность организма [11, 15]. Однако препараты этих групп не могут в полной мере решить проблемы эффективного восстановления функций центральной нервной системы (ЦНС), нарушенных вследствие алкогольной интоксикации [22, 23, 27], в связи с чем поиск

Гребенюк Александр Николаевич – д-р мед. наук проф., нач. каф. воен. токсикологии и мед. защиты Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6), гл. токсиколог-радиолог Минобороны России; e-mail: grebenyuk_an@mail.ru;

Рейнюк Владимир Леонидович – д-р мед. наук, доц. каф. воен. токсикологии и мед. защиты Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6); e-mail: vladton@mail.ru;

Халютин Денис Александрович – адъюнкт каф. воен. токсикологии и мед. защиты Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6); e-mail: hal-denis81@yandex.ru;

Давыдова Елена Владимировна – канд. мед. наук, доц. каф. воен. токсикологии и мед. защиты Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6); e-mail: davilena@yandex.ru;

Ховпачёв Алексей Андреевич – слушатель фак. подготовки врачей Воен.-мед. акад. им. С.М. Кирова (Россия, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, д. 6); e-mail: hov@yahoo.ru.

новых групп препаратов и расширение спектра их клинического применения в области лечения острых тяжелых отравлений этанолом остается актуальной проблемой современной токсикологии и фармакологии.

Обнадеживающие результаты доказанной эффективности пептидных соединений при критических состояниях, сопровождающихся нарушением функций ЦНС, позволяют рассматривать группу пептидных препаратов как потенциально-эффективную [17, 19, 25].

Цель исследования – изучить функции центральной нервной системы, обеспечивающие двигательную, исследовательскую и поисковую активность, скорость принятия решений, пространственную ориентацию и физическую выносливость при острой крайне тяжёлой интоксикации этиловым спиртом и обосновать возможность применения пептидных препаратов «Моликсана» и «Семакса» для коррекции нейротоксических эффектов этанола.

Материалы и методы

Экспериментальные исследования выполнены на 67 белых беспородных крысах-самцах массой 200–220 г, полученных из питомника «Рапполово» (Ленинградская обл.). Животных содержали в однополых группах в условиях вивария, не более 6 особей в одной клетке при свободном доступе к воде и пище в условиях инвертированного света с 8 до 20 ч при температуре (22 ± 2) °C. За 1 сут до эксперимента животных не кормили. Экспериментальные исследования проводили в осенне-зимний период. При проведении исследований выполняли требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним [12, 18].

Крысы были разделены на 5 групп:

1-я – интактные животные, которых не подвергали фармакологическим и токсическим воздействиям ($n = 7$ на протяжении всего эксперимента);

2-я – животные, которым вводили этанол и физиологический раствор в объемах, равных вводимым препаратам (изначальная выборка состояла из 24 животных, размещенных по 6 крыс в 4 клетках; после введения этанола коматозное состояние развилось у 20 животных, а к 2-м суткам наблюдения выжили 7 крыс, 29 %, которые и участвовали в дальнейшем эксперименте);

3-я – животные, которым вводили этанол и моликсан (изначальная выборка состояла из 12 животных, размещенных по 6 крыс в 2 клетках;

после введения этанола и моликсана коматозное состояние развилось у 6 животных, а к 2-м суткам наблюдения выжили 7 крыс, 58 %, которые и участвовали в дальнейшем эксперименте);

4-я – животные, которым вводили этанол и семакс (изначальная выборка состояла из 12 животных, размещенных по 6 крыс в 2 клетках; после введения этанола и семакса коматозное состояние развилось у 7 животных, а к 2-м суткам наблюдения выжили 7 крыс, 58 %, которые и участвовали в дальнейшем эксперименте);

5-я – животные, которым вводили этанол, моликсан и семакс (изначальная выборка состояла из 12 животных, размещенных по 6 крыс в 2 клетках; после введения этанола, моликсана и семакса коматозное состояние развилось у 4 животных, к 2-м суткам наблюдения выжили 8 крыс, 67 %, 7 из которых участвовали в дальнейшем эксперименте).

Таким образом, к началу исследования функций ЦНС у отравленных этанолом животных (т.е. 2-е сутки наблюдения) в каждой экспериментальной и контрольной группе было по 7 крыс.

40 % этанол вводили внутрижелудочно при помощи зонда в дозе 1,5 ЛД₅₀ (12 г/кг массы тела); в связи с большим объемом вводимого раствора дозу делили поровну на два введения через 15 мин [18]. Категории токсодоз и дозировка этанола были установлены в ходе предварительных экспериментов и соответствуют данным литературы [8, 14, 21]. При введении 1,5 ЛД₅₀ этанола, растворенного в изотоническом растворе хлористого натрия (т.е. без фармакологической коррекции), летальность крыс составила 71 %, а гибель животных наступала в течение 1-х суток интоксикации, что совпадает с результатами других авторов [1, 9, 10].

В качестве средств фармакологической коррекции нейротоксических эффектов этанола использовали пептидные препараты «Моликсан» и «Семакс».

«Моликсан» является комплексным препаратом глутатиона с пептидным компонентом. Представляет собой органическую соль, включающую инозин (пуриновый компонент) и глицил-цистеинил-глутамат динатрия (пептидный компонент) в соотношении 1:1. В эксперименте использовали субстанцию препарата производства ЗАО «Фарма ВАМ», которую разводили в физиологическом растворе и вводили в виде 0,3 % раствора внутрибрюшинно в разовой дозе 30 мг/кг в объеме 1 мл на 100 г массы тела животного.

«Семакс» – синтетический пептидный препарат, являющийся аналогом фрагмента адрено-

кортикотропного гормона (АКТГ 4–10: метионил-глутамил-гистидил-фенилаланил-пролил-глицил-пролин), полностью лишенный гормональной активности. Препарат в виде 1% раствора назальных капель производства ЗАО «Инновационный научно-производственный центр „Пептоген“» вводили интраназально в разовой дозе 3 мг/кг.

В предыдущих исследованиях было показано, что наиболее эффективной схемой введения препаратов для терапии острой тяжелой алкогольной интоксикации была лечебно-профилактическая [5], поэтому использовали схему двукратного введения препарата – за 1 ч до и сразу после введения этанола. Животные контрольных групп получали растворители по тем же схемам и в том же объеме, что и крысы экспериментальных групп.

Для оценки функций ЦНС у лабораторных животных использовали поведенческие методики. Двигательную и исследовательскую активность оценивали с помощью методики «открытое поле» [7]. Скорость принятия решения, способность к пространственной ориентации, состояние поисковой и исследовательской активности оценивали, используя методику «крестообразный лабиринт» [3]. Физическую выносливость оценивали с помощью вертикального стержня [12].

Наблюдение за лабораторными животными в ходе эксперимента осуществляли на протяжении 30 сут. Учитывая, что в течение 1-х суток после введения высоких доз этанола животные находились в коме, оценку изучаемых показателей функциональной активности ЦНС у выживших крыс проводили на 2-, 5-, 7-е и 14-е сутки после введения этанола.

Полученные данные подвергали стандартной статистической обработке с вычислением среднего значения показателя и его ошибки. Достоверность различий средних значений показателей в экспериментах проводили с помощью t-критерия Стьюдента. Вероятность ошибки $p \leq 0,05$ считали достаточной для вывода о статистической значимости различий полученных данных.

Результаты и их анализ

Установлено, что этанол вызывает у крыс нарушения двигательной и поисковой активности, а также физической выносливости, которые регистрируются в течение 14 сут от начала интоксикации, а применение моликсана, семакса и их сочетания позволяют ускорить восстановление нарушенных этанолом функций ЦНС.

Таблица 1
Общая двигательная активность крыс, число перемещений ($M \pm m$)

Группа животных	Срок наблюдения, сут			
	2-е	5-е	7-е	14-е
1-я	13,8 ± 1,4	5,2 ± 0,6	3,1 ± 0,9	2,2 ± 0,4
2-я	7,0 ± 2,4	8,4 ± 1,7	14,6 ± 2,6*	51,3 ± 16,8*
3-я	35,3 ± 4,7*#	20,9 ± 3,9*#	18,6 ± 5,1*#	13,7 ± 3,9*#
4-я	40,0 ± 3,9*#	23,1 ± 3,8*#	14,3 ± 3,6*#	8,1 ± 2,2*#
5-я	34,3 ± 6,8*#	27,3 ± 2,5*#	19,7 ± 9,1*#	14,1 ± 4,6*#

Здесь и в табл. 2–4:

* по сравнению с 1-й группой, $p < 0,05$;

по сравнению со 2-й группой, $p < 0,05$.

Таблица 2
Количество горизонтальных перемещений у крыс ($M \pm m$)

Группа животных	Срок наблюдения, сут			
	2-е	5-е	7-е	14-е
1-я	10,8 ± 1,2	4,1 ± 0,7	2,4 ± 0,7	1,6 ± 0,2
2-я	4,3 ± 1,4	6,7 ± 1,4	12,9 ± 2,4	30,0 ± 9,3
3-я	29,4 ± 3,3*	11,7 ± 3,2	11,1 ± 2,9	12,1 ± 1,8
4-я	30,4 ± 4,5*	17,3 ± 3,5*	12,0 ± 4,5	19,1 ± 2,9
5-я	23,7 ± 4,0*	14,4 ± 2,3*	13,1 ± 7,2	10,6 ± 8,7

Так, в тесте «открытое поле» в 1-й группе животных общее количество перемещений при каждом последующем измерении уменьшалось с 30 перемещений через 12 ч после введения дистиллированной воды до 2 перемещений на 14-е сутки проведения эксперимента. У животных из 2-й группы общее количество вертикальных и горизонтальных перемещений, напротив, возрастало. Применение моликсана и/или семакса позволяло восстановить эти виды активности до показателей у животных 1-й группы (табл. 1). При этом статистически значимых отличий по эффективности монотерапии отдельными пептидными препаратами как между собой, так и с их совместным применением в любые сроки наблюдения не отмечалось.

Снижение общей двигательной активности у животных, подвергнутых острой интоксикации этанолом в высоких дозах, в основном происходило за счет уменьшения горизонтальных перемещений животного, что свидетельствует о нарушении в большей степени исследовательской, нежели двигательной активности крыс (табл. 2). Терапия моликсаном, семаксом и их комбинацией (3-, 4-я и 5-я группы) также способствовала эффективному восстановлению этого показателя практически до уровня интактных животных.

Скорость принятия решения, способность к пространственной ориентации, состояние поисковой и исследовательской активности оценивали, используя методику «крестообразный лабиринт» (табл. 3).

При первом помещении крыс 2-й группы, подвергнутых воздействию высоких доз этанола без фармакологической коррекции, в крес-

9. Лисицкий Д.С. [и др.]. Фармакологическая коррекция нейротоксических поражений у белых крыс после тяжелой формы острой алкогольной интоксикации // Токсикол. вестн. – 2013. – № 1. – С. 19–23.
- 10.Лисицкий Д.С. [и др.]. Применение пикамилона и ноопепта, а также их сочетания у белых крыс для устранения последствий тяжёлой степени острой алкогольной интоксикации // Вестн. Рос. воен.-мед. акад. – 2014. – № 1. – С. 156–159.
11. Маркизова Н.Ф., Гребенюк А.Н., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю. Спирты. – СПб. : Фолиант, 2004. – 112 с.
12. Миронов Н.А. [и др.]. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств : в 2 ч. – М. : Гриф и К, 2012. – Ч. 1. – 944 с.
13. Немцов А.В. Алкогольная история России: новейший период. – М. : Либроком, 2009. – 320 с.
14. Нужный В.П. [и др.]. Сравнительное экспериментальное исследование острого и подострого токсического действия коньяка и виски // Наркология. – 2002. – № 10. – С. 46–52.
15. Острые отравления этанолом и его суррогатами / ред. Ю.Ю. Бонитенко. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2005. – 225 с.
16. Осыченко А.С., Донника А.Д. Особенности статистических данных отравлений алкоголем // Adv. Curr. Nat. Sci. – 2011. – № 8. – С. 128–130.
17. Рохлина М.Л. [и др.]. Принципы фармакотерапии опийной наркомании// Наркология. – 2002. – № 11. – С. 28–30.
- 18.Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / ред. Р.У. Хабриев. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : Медицина, 2005. – 832 с.
- 19.Шабанов П.Д. Психодармакология. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2008. – 416 с.
- 20.Шабанов П.Д. Фармакология пептидных препаратов // Мед. акад. журн. – 2008. – Т. 8, № 4. – С. 3–23.
- 21.Ehrlich D., Pirchl M., Humpel C. Effects of long-term moderate ethanol and cholesterol on cognition, cholinergic neurons, inflammation, and vascular impairment in rats// Neuroscience. – 2012. – Vol. 205. – P. 154–166.
- 22.Garcia-Moreno L., Cimadevilla J. Acute and chronic ethanol intake: Effects on spatial and non-spatial memory in rats // Alcohol. – 2012. – Vol. 46, N 8. – P. 757–762.
- 23.Irwin C. [et al.]. The effects of dehydration, moderate alcohol consumption, and rehydration on cognitive functions // Alcohol. – 2013. – Vol. 47, N 3. – P. 203–213.
- 24.Johnson B.A. [et al.]. Oral topiramate reduces the consequences of drinking and improves the quality of life of alcohol-dependent individuals: a randomized controlled trial // Arch. Gen. Psychiatry. – 2004. – Vol. 61, N 9. – P. 905–912.
- 25.Sewald N., Jakubke H. Peptides: chemistry and biology. – Wiley-VCH, 2002. – 543 p.
- 26.Tsai S.J. [et al.]. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4–10), is a potential agent for the treatment of attention-deficit hyperactivity disorder and Rett syndrome // Med. Hypotheses. – 2007. – Vol. 68, N 5. – P. 1144–1146.
- 27.Walker B.M. [et al.]. Effects of prolonged ethanol vapor exposure on forced swim behavior, and neuropeptide Y and corticotropin-releasing factor levels in rat brains // Alcohol. – 2010. – Vol. 44, N 6. – P. 487–493.
- 28.Witt E.D. Research on alcohol and adolescent brain development: opportunities and future directions // Alcohol. – 2010. – Vol. 44, N 1. – P. 119–124.
- 29.Zaridze D. [et al.]. Alcohol and cause-specific mortality in Russia: a retrospective case – control study of 48 557 adult deaths // Lancet. – 2009. – Vol. 373, N 9682. – P. 2201–2214.

Mediko-biologicheskie i sotsial'no-psikhologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh [Medical-Biological and Socio-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations]. 2014. N 3. P. 70–77.

Grebenuk A.N., Reinyuk V.L., Khalyutin D.A., Davydova E.V., Khovpachev A.A. Eksperimental'naya otsenka neerotoksicheskikh effektov etanola i ikh korrektsiya peptidnymi preparatami [Experimental evaluation of neurotoxic effects of ethanol and their correction by peptide preparations]

The Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6)

Grebenuk Aleksandr Nikolaevich – Dr. Med. Sci. Prof., Head of the Department of Military Toxicology and Medical Defense, Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: grebenuk_an@mail.ru

Reinyuk Vladimir Leonidovich – Dr. Med. Sci., Assistant Prof. of the Department of Military Toxicology and Medical Defense, Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: vladton@mail.ru;

Khalyutin Denis Aleksandrovich – post-graduate student of the Department of Military Toxicology and Medical Defense, Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: halenis8@yandex.ru;

Davydova Elena Vladimirovna – PhD Med. Sci., Assistant Prof. of the Department of Military Toxicology and Medical Defense, Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: davilena@yandex.ru;

Khovpachev Aleksei Andreevich – student, Kirov Military Medical Academy (Russia, 194044, Saint-Petersburg, Academica Lebedeva Str., 6); e-mail: hov@yandex.ru.