

Эффективность аскорбата лития на модели хронической алкогольной интоксикации

Остренко К.В.¹, Громова О.А.², Сардарян И.С.³, Демидов В.И.², Жидоморов Н.Ю.², Торшин И.Ю.⁴, Пронин А.В.², Кривоногов В.А.², Карпунина Ю.В.²

¹ – ФГБНУ «ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных», Калужская обл., г. Боровск

² – ФГБОУ ВО «Ивановская государственная медицинская академия», г. Иваново

³ – ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет», г. Санкт-Петербург

⁴ – ФГАОУ ВО «Московский физико-технический институт (государственный университет)», г. Долгопрудный

Резюме. Исследовано действие аскорбата лития на модели хронической алкогольной интоксикации. Воздействие алкоголя приводит к возникновению девиантного поведения у животных, повышает агрессию и вызывает необратимые дегенеративные изменения в печени и ЦНС. Аскорбат лития в дозе 5 мг/кг, как и в более высоких дозах (10 и 30 мг/кг), активирует адаптивные механизмы, нормализуя поведенческие реакции в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Гистологический анализ показал, что использование аскорбата лития минимизировало уровень ишемического повреждения нейроцитов до уровня обратимого состояния. В целом, применение аскорбата лития способствует купированию абстинентного синдрома, блокирует возникновение судорог и способствует сохранности функции ЦНС в модели хронической алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, аскорбат лития, нормотим

The effectiveness of lithium ascorbate on chronic alcohol intoxication model

Ostrenko K.V.¹, Gromova O.A.², Sardaryan I.S.³, Demidov V.I.², Zhidomorov N.Yu.²,

Torshin I.Yu.⁴, Pronin A.V.², Krivonogov V.A.², Karpunina Yu.V.²

¹ – FGBNU «Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition of Animals», Kaluga region., Borovsk

² – Ivanovo State Medical Academy», Ivanovo

³ – FFSBI HPE «Saint Petersburg State Pediatric Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg

⁴ – Moscow Institute of Physics and Technology (State University), Dolgoprudny

Resume. The alcohol leads to deviant behavior in animals, increases aggression and irreversible degenerative changes in the liver and in the central nervous system. Lithium ascorbate in dose of 5 mg/kg, as well as higher doses (10 and 30 mg/kg), activates adaptive mechanisms normalizing behavioral responses in the tests «open field» and «elevated plus-maze». Histological analysis showed that lithium ascorbate minimize ischemic damage of neurocytes to a reversible state. In general, the use of lithium ascorbate contributes to relief of withdrawal symptoms, inhibited the occurrence of seizures and contributed to preservation of the function of the central nervous system in the model of chronic alcohol intoxication.

Keywords: alcohol intoxication, lithium ascorbate, Normotim

Автор, ответственный за переписку:

Громова Ольга Алексеевна – д.м.н., профессор кафедры фармакологии и клинической фармакологии ФГБОУ ВО ИвГМА МЗ России; 153012, г. Иваново, Шереметевский пр., 8; тел. +7 (4932) 41-65-25; e-mail: unesco.gromova@gmail.com

Введение

Механизмы развития алкогольной зависимости включают нарушения функционирования дофаминергической и других медиаторных систем головного мозга [1], гуморальных и нейротрофических факторов [2]. Перспективным направлением исследований является изучение ролей обеспеченности макро- и микроэлементами в формировании, профилактике и лечении алкогольной зависимости, т.к. микроэлементный статус организма может высокоспецифично регулироваться специальными препаратами, содержащими микроэлементы.

Ионы лития играют важные роли в регуляции нейромедиаторного баланса, поддержании баланса нейротрофических факторов и многих других физиологических процессах, важных для ЦНС. В соответ-

ствии с имеющимися публикациями по биологическим ролям лития (около 40 000 к настоящему времени), наиболее изучены фармакологические применения сверхвысоких доз карбоната лития при психиатрических расстройствах [3]. Однако спектр биологических ролей лития гораздо шире.

Установлено участие ионов лития в метаболизме простых сахаров (в т. ч. регуляции секреции инсулина [4]), участие ионов лития в обмене липидов [5], регуляции артериального давления [6], кроветворения [7]. Ионы лития способствуют ингибированию циклооксигеназы-2, что снижает концентрации пирогенного простагландина E2 в головном мозге и в других тканях и приводит к противовоспалительному действию препаратов лития [8].

Особо следует подчеркнуть важность участия ионов лития в гомеостазе нейромедиаторов. Ионы лития избирательно накапливаются в ЦНС и оказывают

существенное воздействие на гомеостаз многих нейротрансмиттеров. Так, *ионы лития влияют на метаболизм и активность рецепторов ацетилхолина*, активность ацетилхолинэстеразы и секрецию ацетилхолина в коре головного мозга [9]. В эксперименте *ионы лития* регулировали уровни энкефалинов в гипофизе [10]. Ионы лития ингибируют накопление циклического АМФ в нейронах мозга, происходящего при активации адренергических рецепторов [11].

Важно отметить, что ионы лития воздействуют на *гомеостаз допамина* [12], активность *рецепторов серотонина* [13], повышают уровни рецепторов ГАМК, ослабляют активность сигнальных каскадов, активируемых посредством NMDA-рецепторов [14], тормозят формирование зависимости от каннабиноидов посредством модуляции сигнальных путей цАМФ, ERK1/2 и GSK-3. Изучаются и другие гормональные эффекты лития: установлено воздействие ионов лития на нейроактивные стероиды и нейропластичность [15]. Все эти биохимические механизмы, так или иначе, нарушаются при воздействии алкоголя.

Для усиления противоалкогольных биологических эффектов лития (например, за счёт улучшения транспорта ионов лития внутрь нейронов) могут использоваться органические анионы — в частности, аскорбат-анион. Хемореактомное моделирование эффектов аскорбата лития в сравнении с другими органическими солями лития показало, что аскорбат-аниону, по сравнению с контрольными молекулами (никотинатом, оксибутиратом, коменатом) свойственно большее родство к дофаминовым, серотониновым, бензодиазепиновым, адренергическим рецепторам. Более высокое родство к рецепторам, указывает, во-первых, на возможность модуляции активности этих рецепторов аскорбатом лития и, во-вторых, на более интенсивный транспорт аскорбата лития внутрь нейронов. Аскорбат-анион также может проявлять анксиолитический, умеренный антикоагуляционный, антигиперлипидемический и антигипергликемический эффекты, что также способствует нормализации гемодинамики ЦНС при алкогольной интоксикации [16].

Таким образом, аскорбат лития может способствовать существенному улучшению состояния ЦНС при моделировании алкогольной интоксикации.

Цель исследования — определение минимально эффективных доз аскорбата лития, предупреждающих развитие алкогольной зависимости у крыс линии Вистар и изучение эффективности терапии алкогольной интоксикации.

Материалы и методы

В качестве модельного объекта были использованы самцы белых крыс линии Вистар массой 200–250 г ($n=168$). Все процедуры и опыты на крысах проводились в соответствии с международными правилами обращения с животными и в соответствии с заклю-

чением этического комитета ГБОУ ВПО ИвГМА МЗ РФ (протокол № 2 от 27 апреля 2016 г.). Животные содержались в одинаковых комнатах, в клетках по 7 крыс в каждой, при температуре 19–21 °С. Животных ежедневно кормили комбикормом из расчёта 40–50 г на особь.

Создание модели алкогольной зависимости. Критерием отбора крыс, наряду с отсутствием видимых отклонений в состоянии и поведении, являлось исходное предпочтение 6% раствора этилового спирта перед водопроводной водой. Для выявления этого предпочтения в течение 3 дней проводился предварительный эксперимент в индивидуальных клетках со свободным доступом к обеим жидкостям. После отбора в качестве единственного источника жидкости предлагался 6% раствор этилового спирта, через неделю концентрация спирта была увеличена до 15%. Через 2 недели спирт заменялся водопроводной водой.

Дозировка и применение препарата. Эксперимент проводился в двух сериях — «профилактика» и «лечение», по четыре группы в каждой серии: 1) доза 30 мг/кг (опытная группа 1); 2) доза 10 мг/кг (опытная группа 2); 3) доза 5 мг/кг (опытная группа 3); 4) группа плацебо. В серии экспериментов «профилактика» препарат вводился параллельно с созданием модели, а в серии экспериментов «лечение» — после создания модели. В каждую группу входило 21 животное. В течение 14 дней препарат вводился в растворённом виде внутривентрикулярно, с помощью зонда, 1 раз в сутки в объёме 0,5 мл на каждое животное.

Неврологическое тестирование. Проводилась общая оценка соматического и неврологического статуса животных всех исследованных групп. Оценка уровня тревожности, адаптогенности и негативного воздействия алкоголя на ЦНС осуществляли путём наблюдения за поведением животных в тестах открытое поле (ОП) и приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) через 7 и 14 дней введения аскорбата лития.

В тесте *открытое поле* регистрировалась вертикальная двигательная активность, горизонтальная двигательная активность, количество заглядываний в отверстия (т.н. «норочный рефлекс»), число актов груминга, количество выходов в центральную зону. В тесте ОП животное помещали в один и тот же квадрат, расположенный возле стенки. Время экспозиции каждого животного в модели составило 5 мин. Круглое ОП представляет собой арену 1 м в диаметре, с высотой стенки 0,4 м, дно которой имело деления на сектора. В открытом поле было очерчено 3 зоны: центральная, промежуточная (6 секторов), периферическая (12 секторов). Освещение производится 2 лампами, мощностью по 60 Вт, которые располагались на высоте 1,5 м от дна камеры над центральными сегментами поля. В тесте фиксировалась горизонтальная активность в центральной и периферической зоне, вертикальная активность, количество актов груминга, количество актов дефекации, норковые рефлекс. После каждого

животного стенки и дно обрабатывались влажной и сухой салфеткой.

В тесте *приподнятого крестообразного лабиринта* регистрировали время нахождения животных в открытых (ОР) и закрытых рукавах (ЗР) и в центре лабиринта, длительность груминга в закрытом рукаве, количество эпизодов груминга в закрытом рукаве. Объект помещали в центр ПКЛ, носом к открытому рукаву. Время тестирования животных в ПКЛ составляло 5 мин. Тест ПКЛ представлял установку, имеющую два рукава, в месте пересечения которых находилась открытая площадка. Один из рукавов лабиринта имел закрытые отсеки. Лабиринт устанавливали на высоте одного метра от пола. Регистрировалось время нахождения в открытом и закрытом рукаве, количество актов груминга, количество вертикальных стоек.

Измерения биохимических показателей. На день «0» и день «14» у животных всех групп определялись биохимические показатели: аланиновая трансминаза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), малоновый диальдегид (МДА), дофамин, норадреналин, адреналин, серотонин в сыворотке крови и алкогольдегидрогеназы (АДГ) в клетках печени. Отбор крови производился из подъязычной вены при помощи подрезки подъязычной уздечки. Из цельной крови получали сыворотку согласно «Руководству по назначению и интерпретации биохимических анализов крови» (Е. Сидоров, 2015 г.). Определение проводилось на автоматическом биохимическом анализаторе «Konelab-20i» (Финляндия—США). Клетки печени для определения АДГ отбирались у животных после проведения эксперимента. Активность АДГ в гепатоцитах определялась фотометрическим методом.

АЛТ и АСТ (в мкмоль/мл/ч) определялись на автоматическом фотометрическом анализаторе CHEM WELL 2910 (C) (Combi) (США) при помощи стандартных наборов производства ООО «Эйлитон» (Россия) «АЛТ – UTS» и «АСТ – UTS» соответственно, МДА в нмоль/мл [17] и ААД, в нмоль/мг белка/мин [18] – на микроспектрофотометре NanoDrop™ 2000. Серотонин определялся по методу Майкея. Катехоламины (в нмоль/мл) определялись на жидкостном хроматографе Waters 590 с амперометрическим детектором (НПО «Химавтоматика») (материал рабочего электрода – стеклоуглерод), колонка Ascentic C18 (5 мкм, 4,6×250 мм). Электрофоретическое определение проводилось на системе капиллярного электрофореза «Капель-105» (ООО «НПФ Люмэкс») со спектрофотометрическим детектором, немодифицированный кварцевый капилляр, общая длина – 60 см, эффективная длина – 50 см, внутренний диаметр – 50 мкм.

Гистологический анализ нервной ткани. После краниотомии головной мозг извлекался целиком и фиксировался в 10% растворе нейтрального формалина, через 1 сут с помощью фронтальных разрезов выделялась зона прецентральной извилины переднего мозга. Проводка нервной ткани осуществлялась по

стандартной схеме (обезживание в этиловом спирте, ксилоле) с последующим изготовлением парафиновых блоков. Изготовленные на санном микротоме «Microm» гистологические срезы толщиной 5–6 мкм окрашивались гематоксилином и эозином. Дубликаты срезов с помощью набора реактивов компании «Бивитрум» были окрашены по методу Ниссля и импрегнированы серебром. Морфометрическое исследование гистологических срезов проводилось на анализаторе изображения «BioVision» (Австрия) и заключалось в подсчёте повреждённых нейроцитов пирамидного слоя коры полушарий переднего мозга в 10 различных полях зрения с последующей статистической обработкой результатов. Микрофотографии получены с помощью исследовательского микроскопа «Micros» и цифровой окулярной камеры DCM 900.

Обработка результатов. Результаты обрабатывали с использованием программных пакетов Excel 2003 и Statistica 8.0. Достоверность различий между группами определяли по непараметрическому U-критерию – тесту Вилкоксона–Манна–Уитни.

Результаты

В результате исследования было установлено, что аскорбат лития был эффективен в терапии и профилактике последствий алкогольной интоксикации. Показатели неврологических тестов и биохимического анализа крови достоверно улучшались уже при использовании наименьшей из исследованных доз аскорбата лития (5 мг/кг). Увеличение дозы аскорбата лития (10 мг/кг, 30 мг/кг) не приводило к существенному улучшению исследованных показателей состояния. Гистологический анализ подтвердил результаты неврологических тестов и биохимических анализов и показал, что аскорбат лития снижает ишемию нервной ткани, способствует сохранности нервных путей.

Модель алкогольной интоксикации

Интактные животные демонстрировали нормальные показатели при неврологическом тестировании (табл. 1), имели блестящую, гладкую шерстку, были активны.

Замена воды на 6%, а затем 15% спиртовой раствор, в течение двух недель приводила к нарушению поведенческих реакций у крыс. У крыс контрольной группы, получавших только спиртовой раствор, при тестировании в тестах открытое поле и приподнятый крестообразный лабиринт отмечается повышение горизонтальной периферической активности при полном исключении захождения в центр. У животных отмечалась тусклая шерстка с очагами аллопеции. Животные двигались хаотично, вдоль стенки, не проявляя исследовательского поведения и поисковых навыков. Это может свидетельствовать о превалировании у животных чувств тревоги и страха на фоне интоксика-

Таблица 1

Поведение интактных животных

Поведение животных в тесте Открытое поле						
группы	вертикальная двигательная активность	горизонтальная двигательная активность		количество заглядываний в отверстие	число актов груминга	количество болюсов, шт.
		центральная	периферическая			
1-я группа (30 мг/кг)	3,0	2,9	12,3	6,0	2,3	1,0
2-я группа (10 мг/кг)	2,9	2,6	12,1	6,1	1,9	0,9
3-я группа (5 мг/кг)	3,2	3,0	13,1	6,5	2,6	1,2
контрольная	2,9	2,4	11,9	6,3	2,0	1,0
Поведение животных в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт						
группы	время пребывания в открытом рукаве, с	время пребывания в закрытом рукаве, с	количество актов груминга	вертикальная активность		
1-я группа (30 мг/кг)	40,15	258,34	3,04	2,3		
2-я группа (10 мг/кг)	42,24	244,13	2,95	1,94		
3-я группа (5 мг/кг)	50,12	246,16	3,10	2,8		
контрольная	46,24	250,45	3,01	2,1		

Таблица 2

Изменения показателей неврологического тестирования и биохимического анализа крови при хронической алкогольной интоксикации

Показатель	M±m день «0»	M±m день «14»	P
<i>Открытое поле</i>			
Горизонтальная активность периферическая	13,00±1,63	19,00±6,06	0,013182
Вертикальная двигательная активность	3,00±1,63	0,29±0,49	0,000601
Горизонтальная активность центральная	2,86±1,77	0,00±0,00	0,00055
Отверстия	6,00±1,83	0,29±0,49	1,88E-06
Груминг	2,29±1,60	7,57±2,88	0,000569
Болюсы	1,00±1,15	16,43±6,50	2,36E-05
<i>Приподнятый крестообразный лабиринт</i>			
Груминг	3,00±1,15	7,71±2,06	9,66E-05
Вертикальная активность	2,86±1,07	0,29±0,49	4,31E-05
Время ОР	42,24±2,37	0,55±0,21	3,25E-15
Время ЗР	250,74±4,80	299,31±0,34	2,32E-12
<i>Биохимические показатели</i>			
АДГ	4,93±0,43	8,40±1,29	1,04E-05
АЛТ	2,74±0,57	6,12±0,74	2,9E-07
АСТ	1,50±0,22	4,78±0,76	6,11E-08
МДА	2,04±0,10	6,22±1,13	2,16E-07
ДОФ	54,30±3,78	84,16±1,56	1,04E-10
НОРАДР	46,23±2,55	86,22±3,30	4,26E-12
АДР	33,40±0,95	95,76±5,47	6,56E-13
СЕРТ	1070,29±9,07	857,12±5,23	5,5E-16

ции алкоголем. На данном фоне заметно увеличение актов дефекации и груминга. Более подробно изменения показателей неврологического тестирования и биохимического анализа крови, происходившие при создании модели, представлены в табл. 2.

Гистологический анализ показал, что при моделировании хронической алкогольной интоксикации во всех наблюдениях контрольной группы выявлены нарушения кровообращения, которые характеризовались гемостазом в капиллярах и венулах с развитием выраженного периваскулярного отёка нервной ткани (рис. 1А). В условиях нарушения гемоциркуляции на уровне МЦР постепенно нарастал перичеллюлярный отёк белого вещества больших полушарий и ствола головного мозга (рис. 1Б). В коре больших полушарий и стволовом отделе головного мозга выявлены мелкоочаговые кровоизлияния (рис. 1В). Токсическое повреждение нейроцитов коры больших полушарий характеризовалось острым набуханием пирамидных клеток с округлением клеточного тела, набуханием аксона, гомогенизацией цитоплазмы с исчезновением грануляций Ниссля, нарушением контуров ядра (рис. 1Г).

Необратимые изменения нейронов коры больших полушарий сопровождалась гиперхроматозом, пикнозом нейроцитов с последующим глыбчатым распадом и формированием нейрофагических узелков (рис. 2А, 2Б). При изучении зон головного мозга, содержащих проводящие пути, выявлено набухание волокон с неравномерным распределением миелина, варикозными утолщениями по ходу волокон (рис. 2В). Таким образом, при создании модели алкогольной интоксикации отмечаются выраженные неврологические и биохимические нарушения, которые соответствуют тяжёлой патологии нервной ткани.

Результаты профилактического применения аскорбата лития при алкогольной интоксикации

Совместное введение со спиртовым раствором аскорбата лития в различных дозировках заметно изменяло картину интоксикации у подопытных животных. Курсовое введение в течение 2 недель в различных дозировках аскорбата лития, на фоне алкогольной интоксикации увеличивало в тестах вертикальную

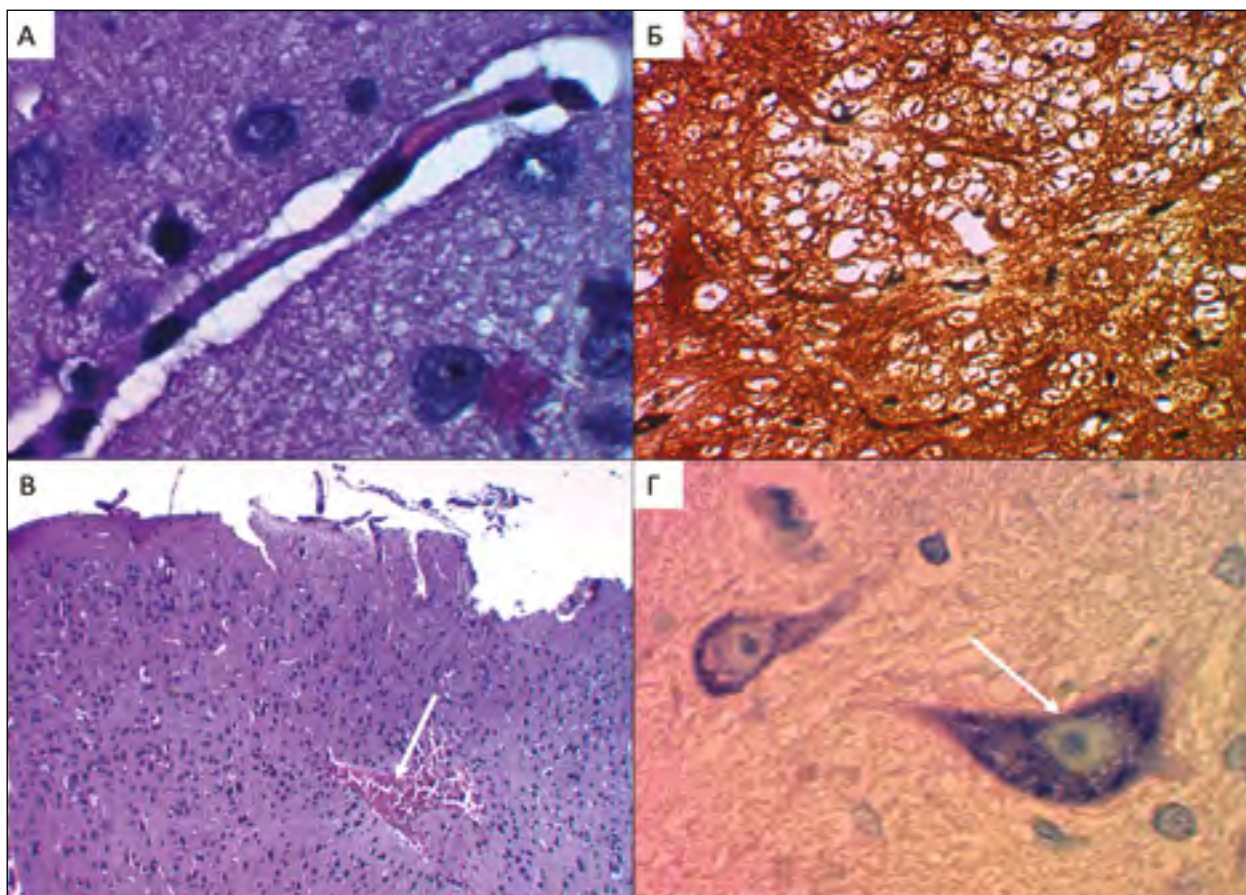


Рис. 1. Гистология нервной ткани в модели алкогольной интоксикации. А) Агрегация эритроцитов, перикапиллярный отёк серого вещества коры переднего мозга. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1\,200$; Б) Выраженный перичеллюлярный отёк ствола головного мозга. Импрегнация серебром. Увеличение $\times 480$; В) Мелкоочаговое кровоизлияние в пирамидном слое коры больших полушарий. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 120$; Г) Острое набухание пирамидной нервной клетки коры с явлением хроматолиза. Окраска толуидиновым синим по Ниссля. Увеличение $\times 1\,200$

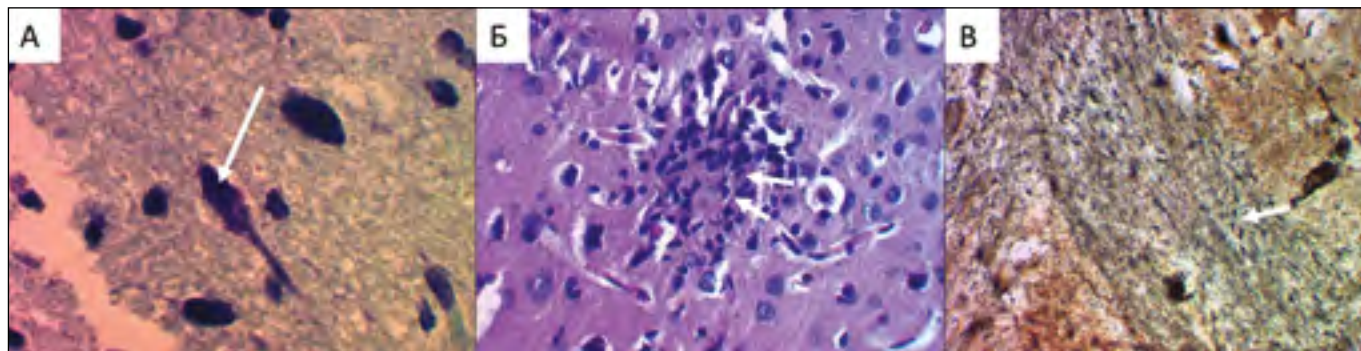


Рис. 2. Необратимые изменения нейронов коры больших полушарий. А) Глубчатый распад гиперхромного сморщенного нейрона. Окраска толуидиновым синим по Нисслю. Увеличение $\times 1200$; Б) Формирование нейрофактического узелка в коре больших полушарий. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 480$; В) Комиссуральные волокна коры головного мозга имеют размытые контуры с фрагментами миелина. Импрегнация серебром. Увеличение $\times 1200$

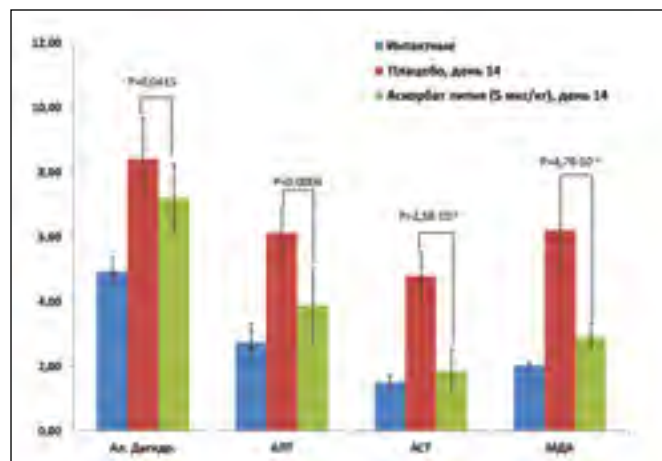
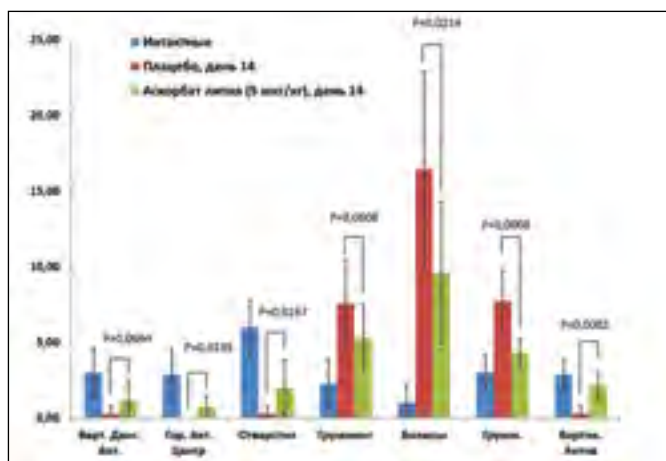


Рис. 3. Показатели неврологических тестов при создании модели алкогольной интоксикации и профилактическом применении аскорбата лития в дозе 5 мг/кг

активность и другие показатели тестов (рис. 3). Количество посещений центральных квадратов и показатель норкового рефлекса у животных данных групп сравнимо с показателями для здоровых животных. Эффективная профилактика неврологических нарушений отмечалась, начиная с дозы аскорбата лития в 5 мг/кг.

Длительная алкогольная интоксикация вызывала повышение концентрации катехоламинов в крови, что указывает на выраженную активацию симпатико-адреналовой системы (рис. 4). Применения аскорбата лития совместно с алкоголем препятствовало повышению содержания катехоламинов в крови животных и предупреждало развитие негативного действия алкоголя. Эффективность аскорбата лития проявляется активацией АДГ в печени, что соответствует ускорению элиминации этанола.

Известно, что введение этанола [19] вызывает активацию перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах клеток печени, мозга и сердца, что приводит к накоплению содержания первичных и вторичных продуктов окисления в биологических жидкостях. В

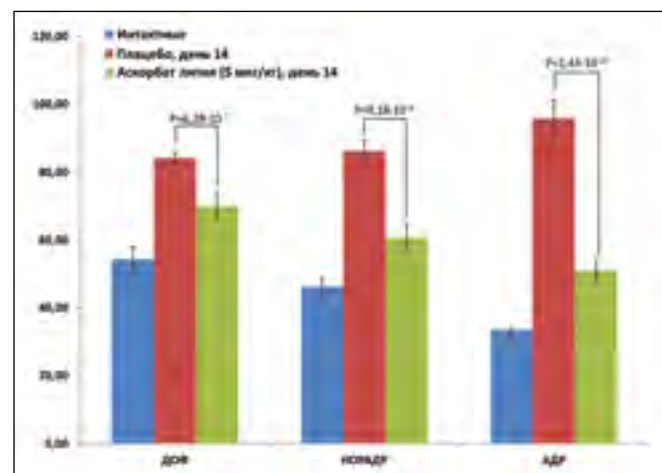


Рис. 4. Биохимические показатели при создании модели алкогольной интоксикации и профилактическом применении аскорбата лития в дозе 5 мг/кг

ходе исследования было установлено, что алкоголь вызывает значимое повышение МДА в сыворотке крови. Введение аскорбата лития снижало уровни МДА (рис. 4), что соответствует ингибированию ПОЛ и активации антиоксидантной системы организма.

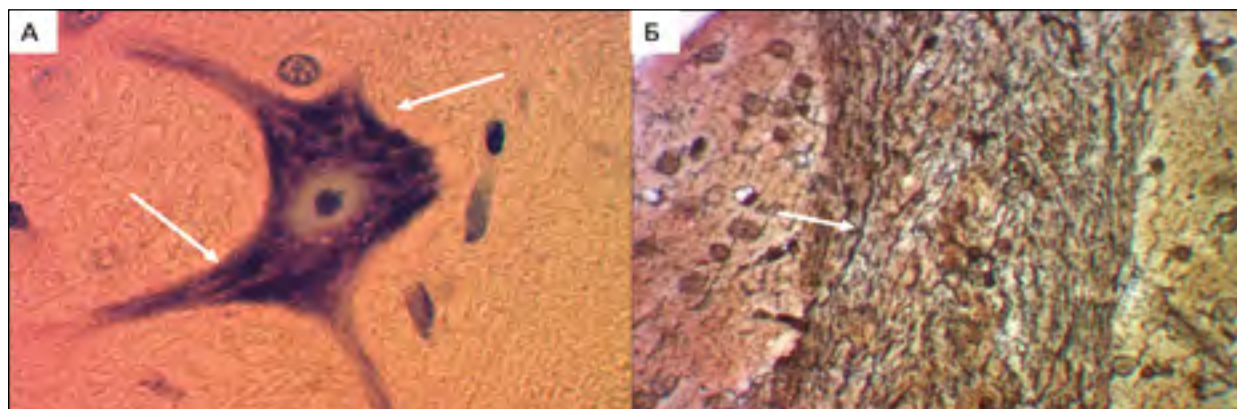


Рис. 5. Гистологические эффекты применения аскорбата лития. А) Очаговые слияния глыбок Ниссля в цитоплазме пирамидной клетки. Окраска толуидиновым синим по Ниссля. Увеличение $\times 1200$; Б) Четкие контрастированные контуры комиссуральных волокон головного мозга. Импрегнация серебром. Увеличение $\times 1200$

Таким образом, аскорбат лития достоверно активирует механизмы нейроадаптации, повышает антиоксидантный ресурс организма, нормализует поведенческие реакции в тестах «открытое поле» и ПКЛ. Эти результаты согласуются с результатами гистологического анализа образцов тканей мозга.

Профилактическое использование аскорбата лития в условиях хронической алкогольной интоксикации

значительно смягчает гистологические проявления ишемии мозга. По сравнению с группой плацебо, во всех группах животных, получавших аскорбат лития, расстройства кровообращения нервной ткани характеризовались очаговым гемостазом в капиллярах и умеренно выраженным перикапиллярным отёком нервной ткани коры, белого вещества больших полушарий и ствола головного мозга.

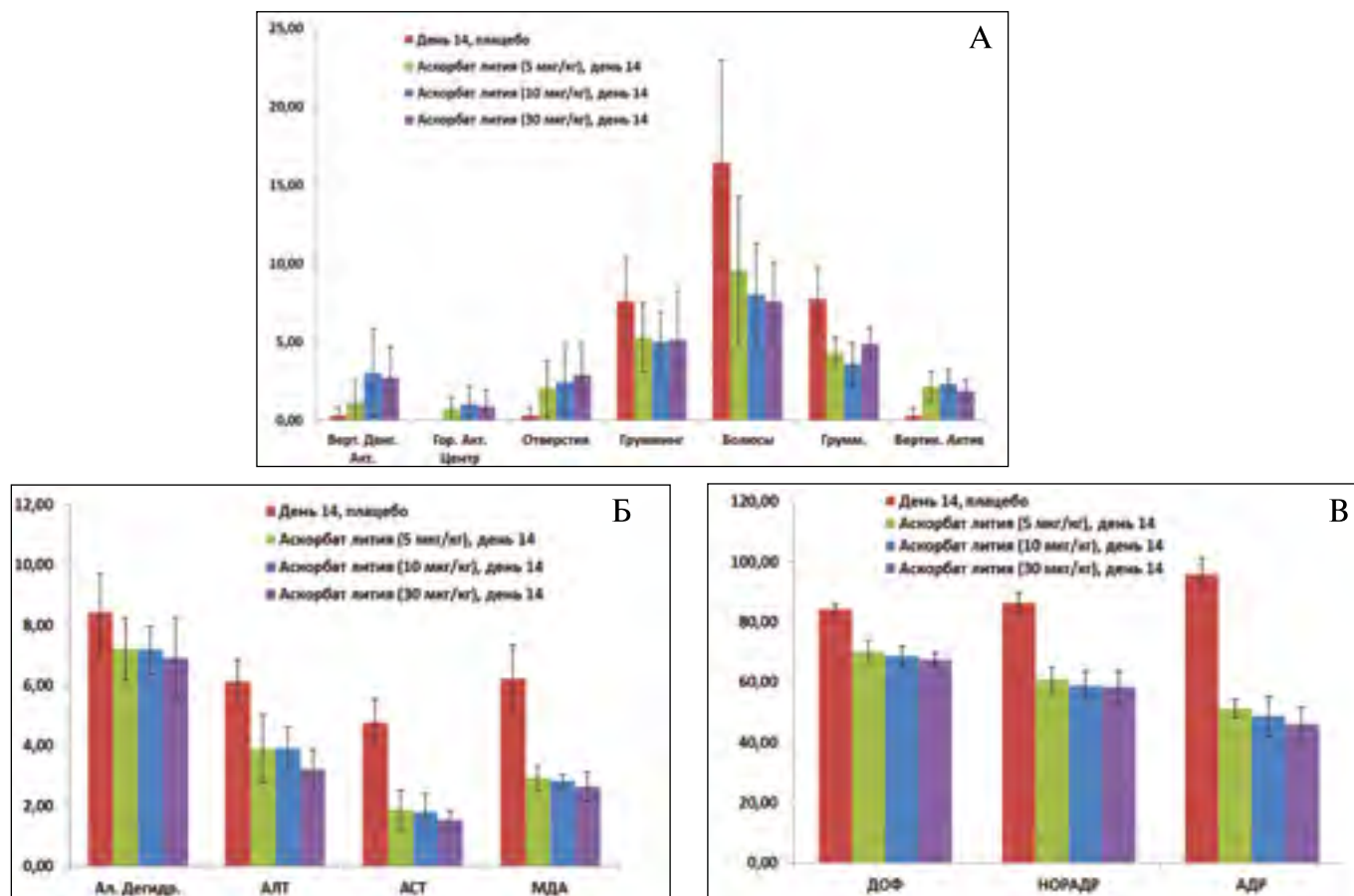


Рис. 6. Дозозависимость профилактических эффектов лития на исследованные показатели. А) Неврологические показатели; Б, В) Биохимические показатели

Поведение животных в тесте ОП и ПКЛ после 7 введения дней аскорбата лития

Поведение животных в тесте Открытое поле						
группы	вертикальная двигательная активность	горизонтальная двигательная активность		число заглядываний в отверстия	число актов груминга	количество болюсов, шт.
		центральная	периферическая			
1-я группа (30 мг/кг)	1,6	1,9	17,0	2,0	5,9	12,2
2-я группа (10 мг/кг)	1,4	1,8	17,9	1,9	6,3	12,6
3-я группа (5 мг/кг)	0,9	1,0	19,3	1,1	8,9	15,1
контрольная	0	0	4,7	0	17,8	24,4
Поведение животных в тесте Приподнятый крестообразный лабиринт						
группы	время пребывания в открытом рукаве, с	время пребывания в закрытом рукаве, с	количество актов груминга	вертикальная активность		
1-я группа (30 мг/кг)	38,26	259,01	5,8	1,7		
2-я группа (10 мг/кг)	34,81	265,19	6,3	1,5		
3-я группа (5 мг/кг)	27,73	270,67	9,1	0,8		
контрольная	0	299,71	14,5	0		

Важно отметить, что значительная часть нейроцитов коры и подкорковых ядер характеризовалась обратимыми изменениями, которые выражались распылением и нечёткостью контуров тигроида, очаговым слиянием глыбок Ниссля в цитоплазме, умеренно выраженным набуханием ядра и аксонального отростка (рис. 5А.). Макроглиальная реакция нервной ткани была минимальной и выражалась отёком периакулярных астроцитов. Импрегнация проводящих путей головного мозга серебром показала сохранность нервных волокон, которые имели чёткие контуры (рис. 5Б).

Морфометрический анализ показал, что в группе животных, получавших аскорбат лития в дозе 5 мг/кг, количество повреждённых нервных клеток коры составило 18,5%, а в группе плацебо количество повреждённых клеток составило 34,8% при достоверных морфологических признаках необратимой гибели нейроцитов.

Анализ эффектов различных доз аскорбата лития при профилактическом применении показал, что достаточная эффективность аскорбата лития отмечается уже при дозе в 5 мг/кг. Более высокие дозы не приводили к существенному повышению эффективности действия аскорбата лития на исследованные показатели (рис. 6).

Результаты применения аскорбата лития для лечения алкогольной интоксикации

В серии экспериментов «лечение» аскорбат лития (5, 10, 30 мг/кг) начали вводить сразу после отмены спиртового раствора. «Лечение» представляет собой более жёсткую модель алкогольной интоксикации для оценки эффективности препарата. В группе плацебо после отмены спиртового раствора наблюдалась ярко выраженная абстиненция в виде агрессивности,

особенно во время кормления, перепадов настроения в течение короткого промежутка времени. Резкие и внезапные приступы агрессии сменялись ступорообразным состоянием; у животных отмечались эпизодические судороги. Животные выглядели измождено, впадали в поверхностный неглубокий сон. После пробуждения животные снова проявляли признаки агрессии, дрались, отказывались пить воду, кусали поилки. При введении аскорбата лития количество агрессивных инцидентов было снижено. У животных наблюдался более глубокий и длительный сон, реже отмечалось впадение в ступор. При приёме аскорбата лития судороги не отмечались. Тестирование по шкалам ОП и ПКЛ показало достоверно улучшение состояния (табл. 3, рис. 7), подтверждаемое результатами биохимических тестов (рис. 8).

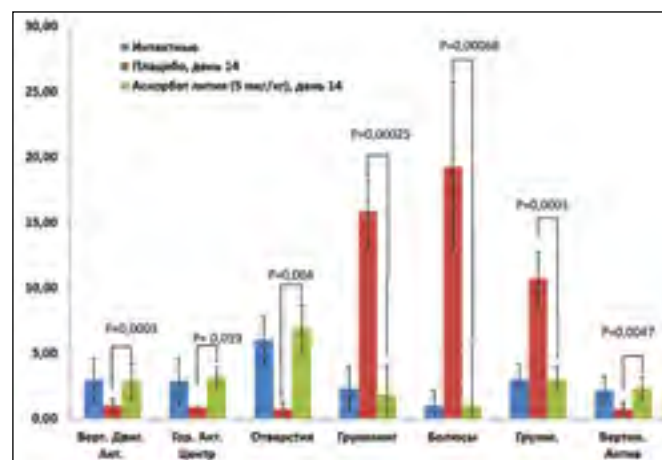


Рис. 7. Показатели неврологических тестов при создании модели алкогольной интоксикации и терапевтическом применении аскорбата лития в дозе 5 мг/кг

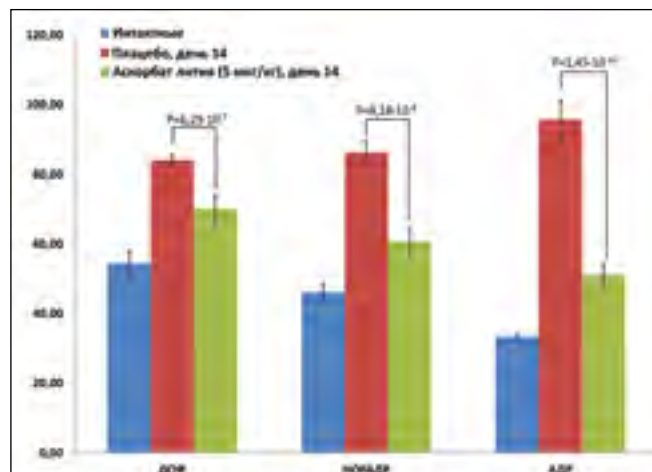
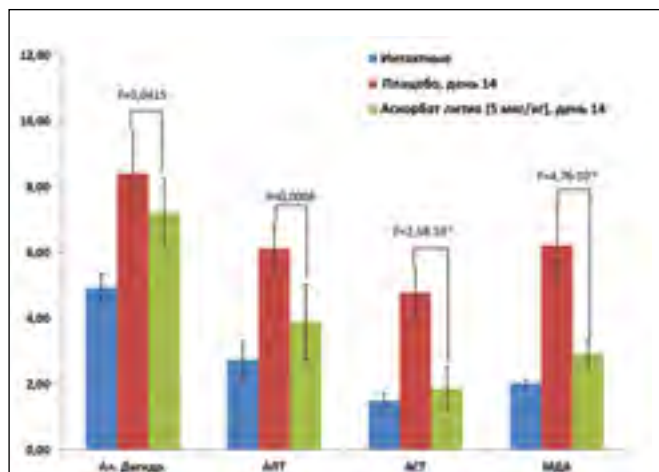


Рис. 8. Биохимические показатели при создании модели алкогольной интоксикации и терапевтическом применении аскорбата лития в дозе 5 мг/кг

Таким образом, лечебное применение аскорбата лития в различных дозах способствует более быстрому восстановлению организма крыс после алкогольной интоксикации. В группах на аскорбате лития животные быстрее адаптировались к отсутствию алкоголя в рационе, у них быстрее восстанавливались поведенческие и исследовательские рефлексы.

Гистологический анализ показал, что при использовании аскорбата лития с лечебной целью расстройства кровообращения нервной ткани характеризова-

лись меньшей степенью диффузно-очагового гемостаза в капиллярах, чем в группе плацебо. Образцы мозга при приёме аскорбата лития характеризовались умеренной дилатацией и полнокровием венул, менее выраженным перикапиллярным отёком нервной ткани коры и белого вещества больших полушарий и ствола головного мозга (рис. 9А). В образцах мозга животных, получавших аскорбат лития, обнаруживались мелкоочаговые, а не крупноочаговые диапетезные кровоизлияния в коре больших полушарий (как в груп-

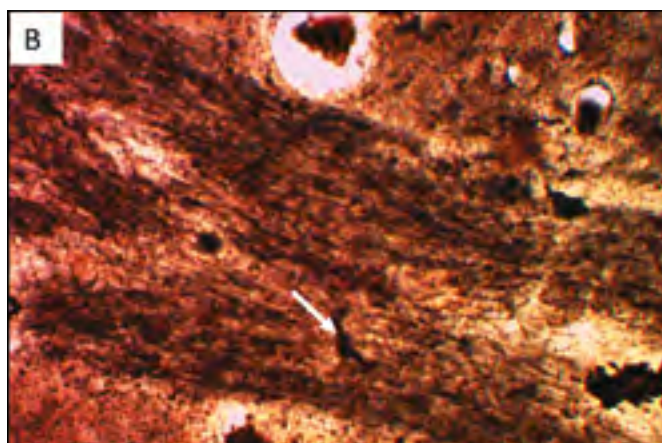
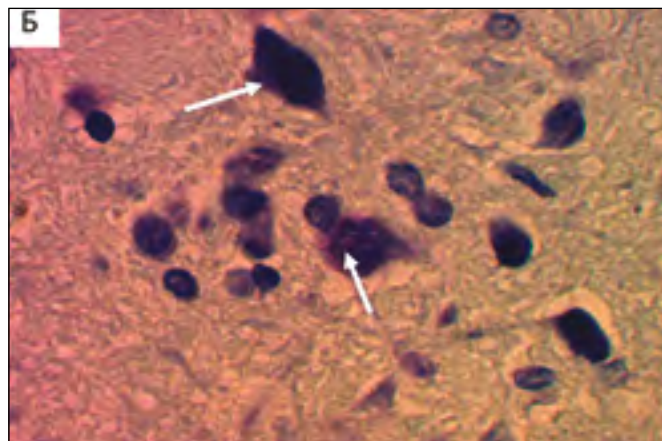
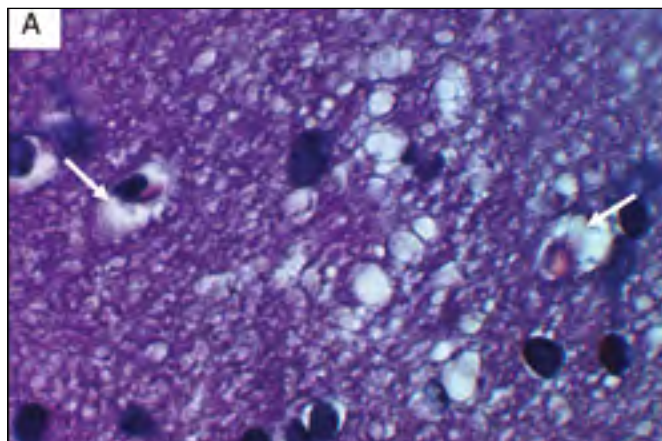


Рис. 9. Терапевтическое применение аскорбата лития: гистологическая картина. А) Выраженный перикапиллярный отёк нервной ткани. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 1200$; Б) Гиперхроматоз, пикноз нейроцитов. Гипертрофия астроглиоцитов. Окраска толуидиновым синим по Нисслю. Увеличение $\times 1200$; В) Очаговые поражения нервных волокон головного мозга. Импрегнация серебром. Увеличение $\times 1200$

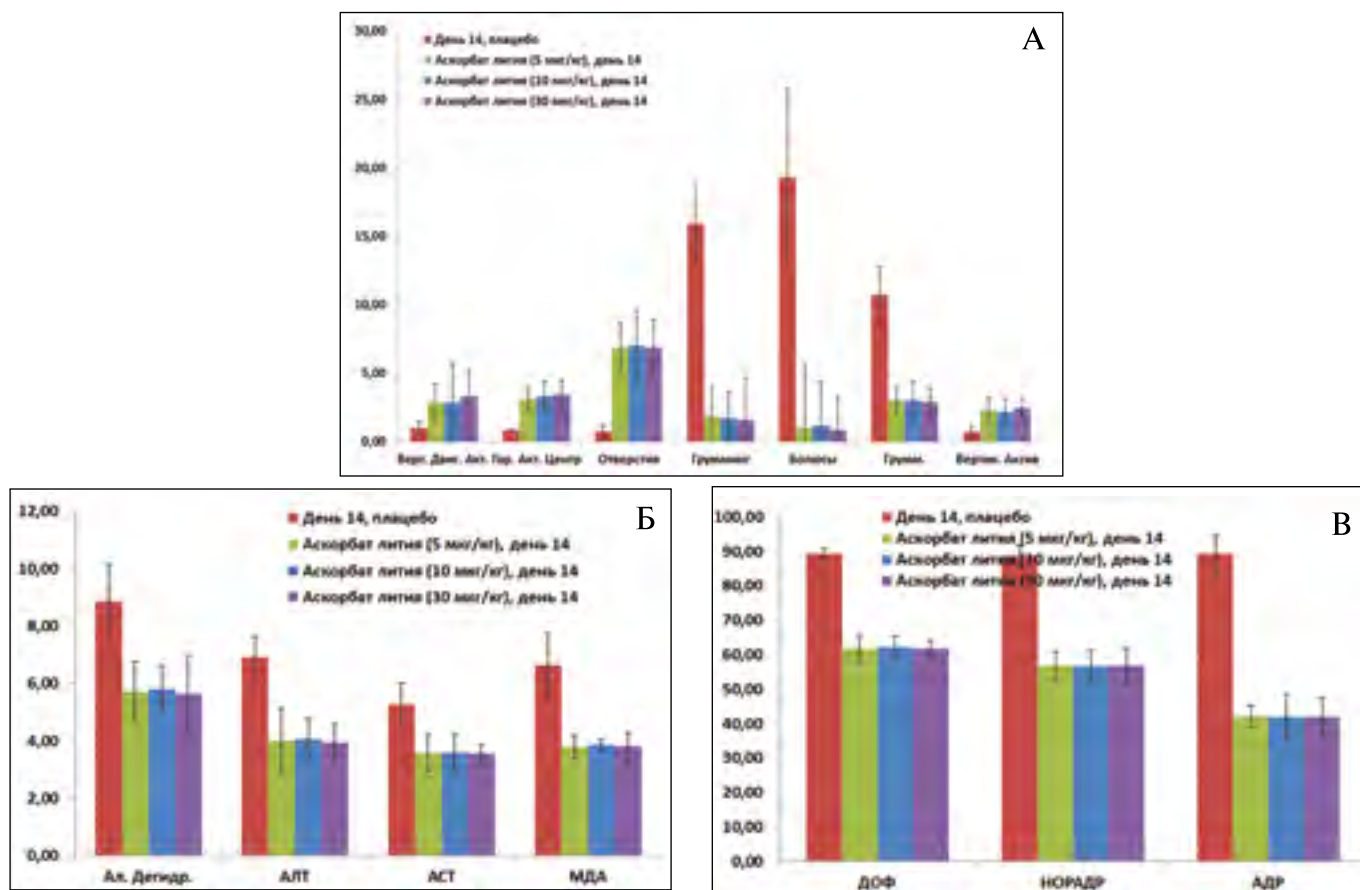


Рис. 10. Дозозависимость терапевтических эффектов лития. А) Неврологические показатели; Б, В) Биохимические показатели

пе плацебо). В группах на аскорбате лития отмечены только единичные нейроны с достаточно лёгкими повреждениями, которые выражались распылением и нечёткостью контуров тигроида, очаговым сливанием глыбок Ниссля в цитоплазме и умеренно выраженным набуханием ядра (рис. 9Б). Состояние проводящей системы головного мозга животных, получавших плацебо, характеризовалось очаговым набуханием миелиновых волокон с неравномерным распределением миелина, что при импрегнации серебром создавало картину нечётких контуров (рис. 9В).

Анализ эффектов различных доз аскорбата лития при лечебном применении показал, что достаточная эффективность аскорбата лития отмечается уже при дозе в 5 мг/кг. Более высокие дозы не приводили к существенному повышению эффективности действия аскорбата лития на исследованные показатели (рис. 10).

Заключение

Воздействие алкоголя в течение длительного времени приводит к возникновению девиантного поведения у животных, повышает агрессию; вызывает необратимые дегенеративные изменения в печени, активирует симпатико-адреналовую систему. Используемая модель хронического алкогольного

отравления имела отчётливые характерные морфологические подтверждения в печени, в мозге, проводящих нервных путях во всех случаях наблюдений. Аскорбат лития активизирует адаптивные механизмы, нормализуя поведенческие реакции в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт». Когнитивные функции мозга могут улучшаться, в частности, за счёт ингибирования перекисного окисления липидов и активации антиоксидантной системы. Кроме того, аскорбат лития вне зависимости от дозировки предупреждает активацию этанолом симпатико-адреналовой системы и замедляет элиминацию этанола из крови. Гистологический анализ показал, что использование аскорбата лития минимизировало уровень ишемического повреждения нейроцитов до уровня обратимого состояния и способствовало сохранению нервных путей. В целом, применение аскорбата лития способствует купированию абстинентного синдрома, блокирует возникновение судорог и способствует выживаемости животных. Активируя защитно-приспособительные механизмы организма в условиях хронической алкогольной интоксикации, аскорбат лития препятствует возникновению необратимых изменений нервной ткани.

Работа выполнена в рамках диссертационного исследования.

Литература

1. Myers R.D., McMillen B.A., Adell A. Neurotransmitter and neuromodulatory mechanisms involved in alcohol abuse and alcoholism: Epitome of cerebral complexity. *Neurochem. Int.* 1995; 26: 337.
2. Darq E., Warnault V., Phamluong K., Besserer G.M., Liu F., Ron D. MicroRNA-30a-5p in the prefrontal cortex controls the transition from moderate to excessive alcohol consumption. *Mol. Psychiatry.* 2014 Oct 21.
3. Chang C.M., Wu C.S., Huang Y.W., Chau Y.L., Tsai H.J. Utilization of Psychopharmacological Treatment Among Patients With Newly Diagnosed Bipolar Disorder From 2001 to 2010. *J Clin Psychopharmacol.* 2016; 36 (1): 32–44 doi.
4. Zawalich W.S., Zawalich K.C., Rasmussen H. Interactions between lithium, inositol and mono-oleoylglycerol in the regulation of insulin secretion from isolated perfused rat islets. *Biochem J.* 1989; 262 (2): 557–561.
5. Diaz-Sastre C., Perez-Rodriguez M.M., Cebollada A., Ruiz J.S., Baca-Garcia E., de Leon J. Cholesterol and lithium levels were correlated but serum HDL and total cholesterol levels were not associated with current mood state in bipolar patients. *J Clin Psychiatry.* 2005; 66 (3): 399–400.
6. Koda L.Y., Shoemaker W.J., Baetge G., Bloom F.E. Lithium treatment decreases blood pressure in genetically hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.* 1981; 76 (4): 411–415.
7. Focosi D., Azzara A., Kast R.E., Carulli G., Petrini M. Lithium and hematology: established and proposed uses. *J Leukoc Biol.* 2009; 85 (1): 20–8 doi.
8. Phelan K.M., Mosholder A.D., Lu S. Lithium interaction with the cyclooxygenase 2 inhibitors rofecoxib and celecoxib and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Clin Psychiatry.* 2003; 64 (11): 1328–1334.
9. Hillert M.H., Imran I., Zimmermann M., Lau H., Weinfurter S., Klein J. Dynamics of hippocampal acetylcholine release during lithium-pilocarpine-induced status epilepticus in rats. *J Neurochem.* 2014; 131 (1): 42–52 doi.
10. Stengaard-Pedersen K., Schou M. In vitro and in vivo inhibition by lithium of enkephalin binding to opiate receptors in rat brain. *Neuropharmacology.* 1982; 21 (8): 817–823.
11. Ebstein R.P., Hermoni M., Belmaker R.H. The effect of lithium on noradrenaline-induced cyclic AMP accumulation in rat brain: inhibition after chronic treatment and absence of supersensitivity. *J Pharmacol Exp Ther.* 1980; 213 (1): 161–167.
12. Basselin M., Chang L., Bell J.M., Rapoport S.I. Chronic lithium chloride administration to unanesthetized rats attenuates brain dopamine D2-like receptor-initiated signaling via arachidonic acid. *Neuropsychopharmacol* 2005; 30 (6):1064–1075.
13. Castro L., Athanazio R., Barbetta M., Ramos A.C., Angelo A.L., Campos I., Varjao B., Ferreira H., Fregoneze J., de Castro e Silva E. Central 5-HT2B/2C and 5-HT3 receptor stimulation decreases salt intake in sodium-depleted rats. *Brain Res.* 2003; 981 (1–2):151–159.
14. Basselin M., Chang L., Bell J.M., Rapoport S.I. Chronic lithium chloride administration attenuates brain NMDA receptor-initiated signaling via arachidonic acid in unanesthetized rats. *Neuropsychopharmacol.* 2006; 31 (8): 1659–74 Epub 2005 N.
15. Marx C.E., Yuan P., Kilts J.D., Madison R.D., Shampine L.J., Manji H.K. Neuroactive steroids, mood stabilizers, and neuroplasticity: alterations following lithium and changes in Bcl-2 knockout mice. *Int J Neuropsychopharmacol* 2008; 11 (4): 547–52 doi.
16. Торшин И.Ю., Сардарян И.С., Громова О.А., Расташанский В.А., Федотова Л.Э. Хемореактомное моделирование аскорбата лития. *Фармакокинетика и фармакодинамика*, 2016; 3: 47–58.
17. Mihara M., Uchiyama M. *Biochemistry.* N.Y.: Med, 1980; 23: 302.
18. Бочкарева А.В., Зимин Ю.В. Изменение активности алкоголь-дегидрогеназы клеток печени крыс при действии этанола и гепарина. *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского*, 2010; 2 (2): 490–493.
19. Шабанов П.Д., Калишевич С.Ю. *Биология алкоголизма.* СПб.: 1998; 272.