

УДК 616.89-008.441.13-099-092.4:547.434.2



КОРРЕКЦИЯ ПСИХОНЕВРОЛОГИЧЕСКИХ ПОСЛЕДСТВИЙ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ АЛКОГОЛЕМ У КРЫС НОВОЙ КОМПОЗИЦИЕЙ НА ОСНОВЕ АЦЕТИЛЦИСТЕИНА

Д.В. Куркин¹, Е.И. Морковин^{1,2}, Н.А. Осадченко¹, Д.А. Бакулин¹, Е.Е. Абросимова¹,
М.А. Дубровина¹, Н.С. Ковалёв¹, Ю.В. Горбунова¹, И.Н. Тюренков¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации,

400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

² Государственное бюджетное учреждение «Волгоградский медицинский научный центр»

400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, д. 1

E-mail: strannik986@mail.ru

Получено 11.10.2020

Принята к печати 14.12.2020

Цель. Экспериментальное обоснование применения новой комбинации биологически активных веществ с тонизирующим и антиоксидантным действием, содержащей в составе ацетилцистеин для снижения выраженности психоневрологических последствий интоксикации алкоголем.

Материалы и методы. Исследование проведено на крысах-самцах линии Вистар. Постинтоксикационное состояние моделировали однократным введением этанола (3 г/кг, внутривенно). Через полчаса после пробуждения крыс разделяли на группы, которым вводили: физиологический раствор, ацетилцистеин (1 г/кг), таурин (20 мг/кг), кофеин (20 мг/кг), янтарную (100 мг/кг), липоевую кислоту (100 мг/кг), пиридоксин (400 мг/кг), или комбинацию ацетилцистеина со всеми данными веществами, взятыми в меньшей (в 2 раза) дозе (кроме таурина). До лечения и спустя 3 часа фиксировали степень неврологических нарушений по шкале «Combs и D'Alecy», в тесте «Открытое поле» и «Адгезивный тест». Далее животных подвергали эвтаназии для оценки уровня глутатиона, триглицеридов и малонового диальдегида в гомогенатах печени, определения активности ферментативных антиоксидантных систем и сывороточных аминотрансфераз.

Результаты. У животных, которым вводили алкоголь, отмечались выраженные признаки психоневрологических нарушений, проявляющихся в низкой двигательной активности и снижением мелкой моторики. Данное состояние не изменялось после перорального введения физиологического раствора. После введения ацетилцистеина, таурина, кофеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина и, в большей степени, их комбинации, отмечали компенсацию психоневрологических нарушений, улучшение мелкой моторики. Уровни глутатиона, малонового диальдегида, триглицеридов и активность ферментов антиоксидантной защиты в печени этих животных соответствовали физиологической норме.

Заключение. Введение комбинации ацетилцистеина с таурином, кофеином, пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами после острой алкогольной интоксикации, в большей степени способствует сохранению функций антиоксидантной системы гепатоцитов, снижает уровень дистрофических изменений в них и приводит к снижению тяжести психоневрологических нарушений у экспериментальных животных.

Ключевые слова: этанол; ацетилцистеин; таурин; кофеин; пиридоксин; липоевая кислота; янтарная кислота; комбинация; доклинические исследования

Список сокращений: АСТ – аспартатаминотрансфераза; АЛТ – аланинаминотрансфераза; МДА – малоновый диальдегид; СОД – супероксиддисмутаза; TNF- α – tumor necrosis factor-alpha/фактор некроза опухоли-альфа; GPR91 – G protein-coupled receptor/рецептор, связанный с G-белком; GSH – glutathione/глутатион.

Для цитирования: Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Д.А. Бакулин, Е.Е. Абросимова, М.А. Дубровина, Н.С. Ковалёв, Ю.В. Горбунова, И.Н. Тюренков. Коррекция психоневрологических последствий острой интоксикации алкоголем у крыс новой композицией на основе ацетилцистеина. *Фармация и фармакология*. 2020;8(6):426-435. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-426-435

© Д.В. Куркин, Е.И. Морковин, Н.А. Осадченко, Д.А. Бакулин, Е.Е. Абросимова, М.А. Дубровина, Н.С. Ковалёв, Ю.В. Горбунова, И.Н. Тюренков, 2020

For citation: D.V. Kurkin, E.I. Morkovin, N.A. Osadchenko, D.A. Bakulin, E.E. Abrosimova, M.A. Dubrovina, N.S. Kovalev, Yu.V. Gorbunova, I.N. Tyurenkov. Correction of psychoneurological signs of acute alcohol intoxication in rats with a new acetylcysteine-based composition. *Pharmacy & Pharmacology*. 2020;8(6):426-435. DOI: 10.19163/2307-9266-2020-8-6-426-435

CORRECTION OF PSYCHONEUROLOGICAL SIGNS OF ACUTE ALCOHOL INTOXICATION IN RATS WITH A NEW ACETYLCYSTEINE-BASED COMPOSITION

D.V. Kurkin¹, E.I. Morkovin^{1,2}, N.A. Osadchenko¹, D.A. Bakulin¹, E.E. Abrosimova¹, M.A. Dubrovina¹, N.S. Kovalev¹, Yu.V. Gorbunova¹, I.N. Tyurenkov¹

¹ Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

² Volgograd Medical Research Center,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, Russia, 400131

E-mail: strannik986@mail.ru

Received 11 Oct 2020

Accepted 14 Dec 2020

The aim of the study is an experimental confirmation of the use of a new combination of biologically active substances with tonic and antioxidant effects. This combination contains acetylcysteine in its composition to reduce the severity of psychoneurological consequences of alcohol intoxication.

Materials and methods. The study was conducted on male Wistar rats. The post-intoxication state was simulated by a single injection of ethanol (3 g/kg, intraperitoneally). Half an hour after awakening, the rats were divided into groups, which were injected with saline, acetylcysteine (1 g/kg), taurine (20 mg/kg), caffeine (20 mg/kg), succinic acid (100 mg/kg), lipoic acid (100 mg/kg), pyridoxine (400 mg/kg), or a combination of acetylcysteine with all these substances taken in a twice lower dose (except taurine). Before the treatment and 3 hours after it, the degree of neurological disorders was fixed according to the Combs and D'Alecy scale, in the Open Field test and the Adhesion test. Then the animals were euthanized to assess the level of glutathione, triglycerides and malondialdehyde (MDA) in liver homogenates, to determine the activity of enzymatic antioxidant systems and serum aminotransferases.

Results. In the animals injected with alcohol, there were evident signs of neuropsychiatric disorders, manifested in a low motor activity and a decrease in fine motor skills. This state did not change after an oral administration of saline. After the administration of acetylcysteine, taurine, caffeine, succinic and lipoic acids, pyridoxine and, to a greater extent, their compositions, the compensation of neuropsychiatric disorders and improvement of fine motor skills were notified. In the liver of these animals, the levels of glutathione, MDA, triglycerides, and the activity of antioxidant defense enzymes corresponded to the physiological norm.

Conclusion. The introduction of a combination of acetylcysteine with taurine, caffeine, pyridoxine, lipoic and succinic acids after an acute alcohol intoxication, to a greater extent than each of the substances separately, contributes to the function retention of the antioxidant system of hepatocytes. Besides, it reduces the level of their dystrophic changes and leads to a decrease in the severity of psychoneurological disturbances in the experimental animals.

Keywords: ethanol; acetylcysteine; taurine; caffeine; pyridoxine; lipoic acid; succinic acid; composition; preclinical studies

Abbreviations: AST – aspartate aminotransferase; ALT – alanine transaminase; MDA – malonic dialdehyde; SOD – superoxide dismutase; TNF- α – tumor necrosis factor-alpha; GPR91 – G protein-coupled receptor; GSH – glutathione.

ВВЕДЕНИЕ

Употребление алкоголя является одним из ведущих факторов риска смерти и инвалидности. Социально-экономические последствия от употребления больших количеств напитков, содержащих этиловый спирт, негативно влияют на многие общественные институты (промышленность, торговля, образование, здравоохранение). Согласно мировой статистике за 2016 год, употребление алкоголя было седьмым по значимости фактором риска преждевременной смерти и инвалидности, на который приходилось 2,8 миллиона смертей [1]. Постинтоксикационное состояние является первичной медицинской проблемой для лиц, употребляющих алкоголь в небольших и умеренных количествах (до 100 г чистого алкоголя в день), и частой причиной профессионального и бытового травматизма в результате замедления моторики и снижения внимания [2].

Большинство часто применяемых лекарственных и не лекарственных средств существенно не снижают общую тяжесть постинтоксикационного состояния, некоторые купируют отдельные симптомы (рвота и головная боль), но не влияют на тремор или сонливость. Наиболее перспективными препаратами в отношении эффективного снижения последствий употребления алкоголя являются сорбенты (эффективны при предварительном или совместном приеме с алкоголем), подавляющие синтез простагландинов и ускоряющие метаболизм этанола [3].

Необходимо отметить существенный недостаток в подобных лекарственных средствах. Метаболизм алкоголя и, что более важно с точки зрения купирования постинтоксикационных последствий, ацетальдегида в основном зависит от статуса антиоксидантной системы гепатоцитов. Применение такого антиоксиданта,

как ацетилцистеин, с целью коррекции комплекса негативных последствий употребления больших доз алкоголя, оправдано, что подтверждается результатами доклинических исследований [4]. Разработка комбинированных форм известных лекарственных препаратов является общеизвестной и перспективной стратегией создания и внедрения в практику новых лекарственных средств, что позволяет не только повысить эффективность лечения, но и сделать терапию доступнее и/или удобнее для пациента.

ЦЕЛЬ. Экспериментальное обоснование применения комбинации, состоящей из ацетилцистеина, таурина, кофеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты и пиридоксина, в качестве предшественника глутатиона для снижения выраженности психоневрологических нарушений, возникающих на фоне острой алкогольной интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные животные

Исследование проведено в соответствии с законодательством Российской Федерации и техническими стандартами Евразийского Экономического Союза по надлежащей лабораторной практике (ГОСТ Р 53434-2009, ГОСТ Р 51000.4-2011). Протокол одобрен Региональным независимым этическим комитетом при ФГБОУ ВО ВолгГМУ (ИРБ 00005839 IORG 0004900 (ОНРР), протокол №132 от 20.05.2019).

Исследование выполнено с использованием крыс-самцов линии Wistar (300–350 г, ФГУП «ПЛЖ «Рапполово»). Животные содержались при сменяющемся свето-темновом цикле 12/12 ч, температуре $20 \pm 2^\circ\text{C}$ и влажности 40–60%.

Дизайн исследования

За 48 часов до алкогольной интоксикации все крысы были обучены в тесте условная реакция пассивного избегания (УРПИ), с проверкой выработанного навыка в течение 24 часов.

Были сформированы 9 групп животных ($n=10$), дозы препаратов были выбраны по литературным данным [4–8]:

1. Интактная группа – физ. р-р (15 мл/кг в/б и 5 мл/кг п/о);
2. Этанол (3 г/кг) + физ. р-р (5 мл/кг; плацебо);
3. Этанол (3 г/кг) + ацетилцистеин (1 г/кг);
4. Этанол (3 г/кг) + таурин (20 мг/кг);
5. Этанол (3 г/кг) + кофеин (20 мг/кг);
6. Этанол (3 г/кг) + янтарная кислота (100 мг/кг);
7. Этанол (3 г/кг) + липоевая кислота (100 мг/кг);
8. Этанол (3 г/кг) + пиридоксин (400 мг/кг);
9. Этанол (3 г/кг) + композиция.

Состав композиции был следующим: ацетилцистеин (500 мг/кг) + таурин (20 мг/кг) + кофеин (10 мг/кг) + янтарная кислота (50 мг/кг) + липоевая кислота (50 мг/кг) + пиридоксин (200 мг/кг).

Животные из интактной группы получали физио-

логический раствор внутривенно и перорально (в/б и п/о). Крысы остальных групп получали водный 20% раствор этилового спирта в/б (3 г/кг). После пробуждения и оценки уровня неврологического дефицита однократно получали физиологический раствор, вещества или их композицию в обозначенных дозах. Объем вводимой жидкости составил 15 мл/кг при внутривенном и 5 мл/кг при пероральном введении. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Средняя длительность сна у крыс была сопоставимой (8 ± 30 мин) [4]. После пробуждения у них определяли уровень психоневрологического дефицита использованием шкалы «Combs и D'Alecy» и тестов «Адгезивный тест» (время обнаружения и извлечения от пластыря 5×5 мм на ладонной поверхности передних лап за 180 секунд) и «Открытое поле» (фиксировалась «двигательная активность» – число пересеченных за 3 минуты квадратов и «исследовательская активность» – сумма числа обследованных отверстий и числа вставаний на задние лапы) [9]. После чего животным вводили физиологический раствор, одно из указанных выше веществ или их комбинацию в 2 раза уменьшенной дозе (за исключением таурина, который в составе комбинации вводился в аналогичной дозе для сохранения его потенциального кардиопротективного эффекта, отмеченного в ряде исследований) [10]. Двукратное уменьшение доз в составе комбинаций проводилось для выявления эффекта потенцирования вследствие взаимного дополнения действий веществ, входящих в состав комбинации.

Спустя 3 часа поведенческие тесты повторяли. Эвтаназию (обескровливание) проводили под наркозом золетил в дозе 20 мг/кг (Zoletil[®]100, Valdepharm, France) + ксилазин в дозе 8 мг/кг (Xyla, Interchemie, Netherlands). После эвтаназии осуществляли забор образцов тканей печени для последующего биохимического анализа. Концентрацию восстановленного глутатиона измеряли в реакции восстановления 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты). Анализ проводили в триплексах. Активность аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в плазме определяли при помощи соответствующих реагентов (производства ЗАО «Диакон-ДС», Россия). Содержание триглицеридов в гомогенатах ткани печени определяли после экстракции гептаном и изопропанолом с последующим фотометрического фракционирования алкоголятом натрия (после инкубации с 2,4-пентандионом при длине волны 410 нм). Концентрацию малонового диальдегида (МДА) в гомогенатах определяли при помощи реакции с тиобарбитуровой кислотой; концентрацию восстановленного глутатиона – в реакции восстановления 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты). Активность супероксиддисмутазы (СОД) определяли фотометрическим методом, основанным на оценке степени ингибирования реакции окисления эпинефрина.

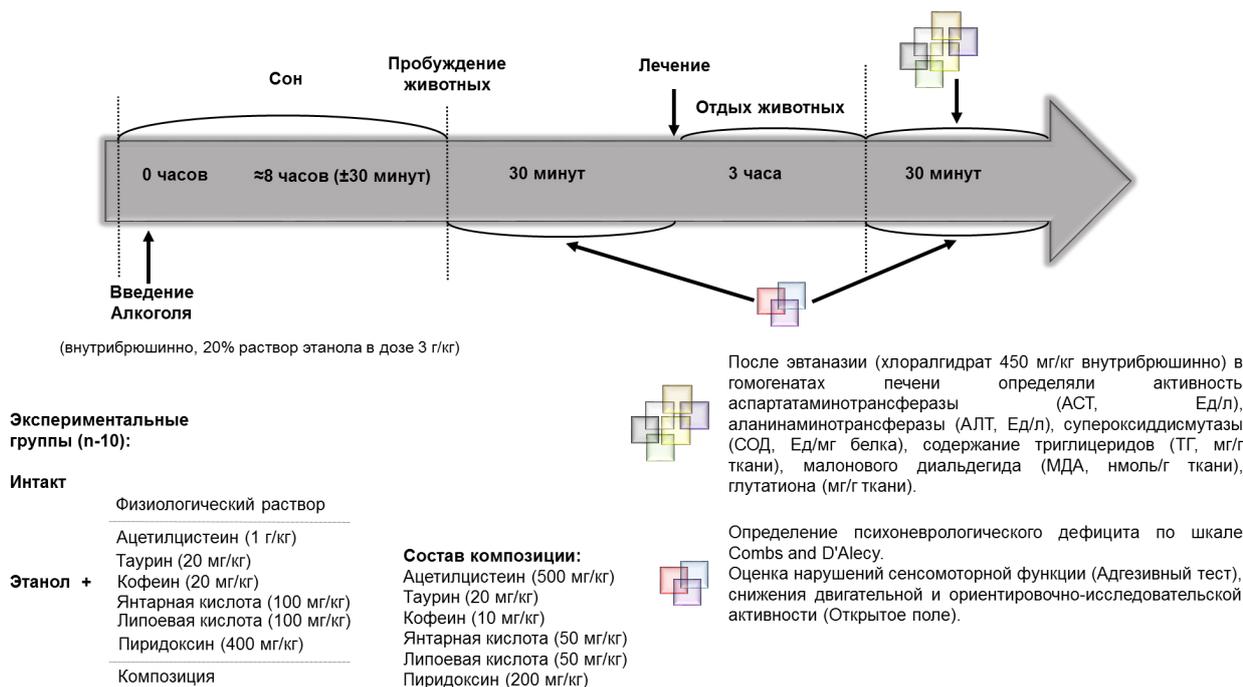


Рисунок 1 – Дизайн исследования

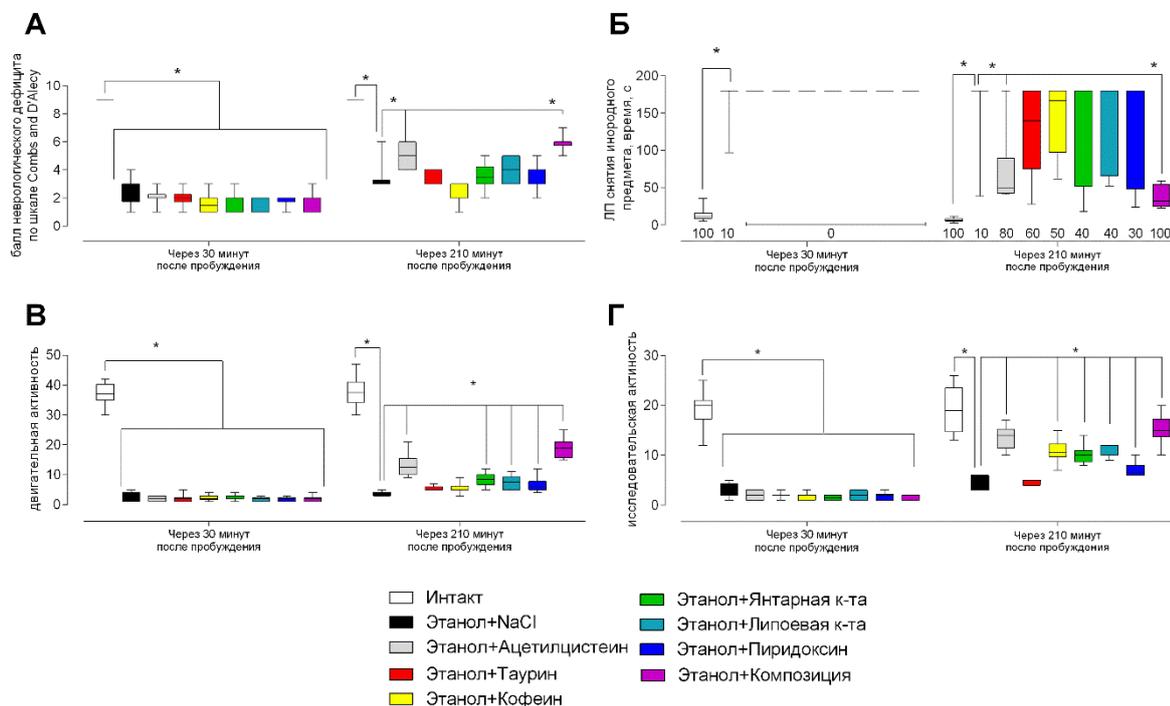


Рисунок 2 – Уровень неврологического дефицита по шкале «Combs и D’Alecy» (А) и время снятия инородного предмета с волярной поверхности передних лап (Б), показатели исследовательской (В) и двигательной (Г) активности в тесте «Открытое поле» у крыс после острой алкогольной интоксикации

Примечание: * – $p < 0,05$ однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Ньюмена-Кеулса; сравниваемые выборки обозначены линиями; исследовательская активность – сумма числа актов стоек и количества обследованных отверстий-норок; двигательная активность – количество пересеченных секторов установки (цифрами представлено количество животных, обнаруживших и избавившихся от инородного предмета закрепленного на ладонной поверхности передних лап в %)

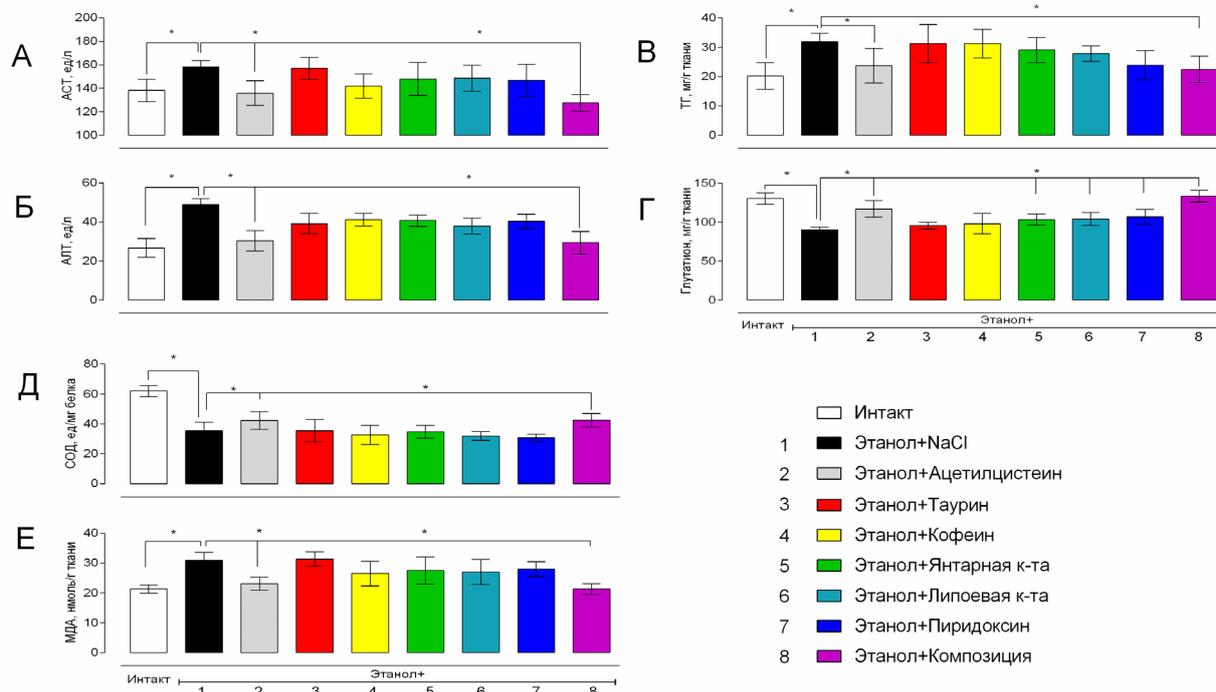


Рисунок 3 – Активность супероксиддисмутазы, аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы, содержание триглицеридов, малонового диальдегида, глутатиона в гомогенатах печени крыс, после острой алкогольной интоксикации

Примечание: А – аспаратаминотрансфераза (Ед/л); Б – аланинаминотрансфераза (Ед/л); В – супероксиддисмутазы (Ед/мг белка); Г – содержание триглицеридов (мг/г ткани); Д – малоновый диальдегид (нмоль/г ткани), Е – глутатион (мг/г ткани). Данные представлены в виде усредненных индивидуальных значений ($n = 3$ в каждой из точек), среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего арифметического; * – $p < 0,05$ (однофакторный дисперсионный анализ с пост-тестом Ньюмена-Кеулса); сравниваемые выборки обозначены горизонтальными линиями

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами описательной и аналитической статистики. Распределение количественных показателей оценивали с использованием критерия Шапиро-Уилка. Межгрупповые различия оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с пост-тестом Ньюмена-Кеулса. Полученные данные представляли в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего арифметического. Для оценки различий категориальных данных использовали критерий χ -квадрат.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Введение этилового спирта (3 г/кг, в/б) приводило к развитию седативного эффекта. Животные засыпали в течение 2–3 минут на $8 \pm 0,5$ часов. Животных, которые засыпали через больший промежуток времени или спали дольше обозначенного времени из эксперимента исключали.

После пробуждения, животные не демонстрировали активных действий. Все наблюдаемые поведенческие акты были на минимальном уровне: животные в основном не двигались, пребывая на одном месте (если передвигались, то очень медленно); на раздражительные стимулы (прикосновение к вибриссам, бо-

ковой толчок) практически не реагировали. По сравнению с интактной группой в тесте «Открытое поле», после пробуждения крысы проявляли низкую двигательную и исследовательскую активность.

Спустя 3 часа после лечения в контрольной группе (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида) в тесте «Открытое поле» показатели были значительно ниже, чем в интактной группе. В группах, которые получили ацетилцистеин, янтарную кислоту, липоевую кислоту, пиридоксин или композицию перечисленных веществ, двигательная и исследовательская активность оказались значительно выше (рис. 2В), что свидетельствует об ускорении восстановления после алкогольной интоксикации.

После пробуждения крысы проявляли признаки выраженного неврологического дефицита (по шкале «Combs and D'Alencu»), их степень незначительно уменьшилась спустя 180 минут в контрольной группе (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида) и значительно снизилась после введения ацетилцистеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина или их композиции (рис. 2А).

При проведении «Адгезивного теста», после пробуждения животные не реагировали на инородный предмет, закрепленный на волярной поверхности их

лап, т.е. их сенсорно-моторная функция была значительно снижена, что не устранялось пероральным введением плацебо и отдыхом в течение 3 часов. Пероральное введение ацетилцистеина, янтарной кислоты, липоевой кислоты, пиридоксина или их композиции (более выражено) привело к значительному улучшению сенсорно-моторной функции животных (рис. 2Б). Так 80% и 100% животных, которым перорально ввели ацетилцистеин или исследуемые композиции, при тестировании в адгезивном тесте, удалили инородный предмет с ладонной поверхности передних лап ($p < 0,05$, χ -квадрат).

После биохимического анализа гомогенатов печени интактной группы и крыс, которым вводили сначала этанол, а потом одно из указанных выше веществ или их композицию было установлено, что введение ацетилцистеина и более выражено его композицию с таурином, кофеином, янтарной кислотой, липоевой кислотой, пиридоксином нарушения печеночного метаболизма были выражены в минимальной степени. У животных контрольной группы (этанол + 0,9% раствор натрия хлорида), активности АСТ и АЛТ в гомогенатах печени достигали $158,3 \pm 5,4$ Ед/л и $48,8 \pm 3$ Ед/л соответственно (против $138,2 \pm 9,6$ Ед/л и $26,7 \pm 4,8$ Ед/л соответственно у интактных животных; $p < 0,05$), содержание триглицеридов было выше ($31,7 \pm 2,9$ мг/г ткани против $20,2 \pm 4,5$ мг/г ткани; $p < 0,05$), а глутатиона ниже ($90,5 \pm 3,4$ мг/г ткани против $130,5 \pm 7,2$ мг/г ткани; $p < 0,05$). Также у животных группы плацебо в большей степени проявлялись нарушения в функционировании антиоксидантной системы гепатоцитов, о чем свидетельствует низкая активность СОД ($35,4 \pm 5,6$ Ед/мг против $62 \pm 3,8$ Ед/мг у интактных, $p < 0,05$) и высокое содержание МДА ($30,9 \pm 2,6$ против $21,3 \pm 1,4$ у интактных, $p < 0,05$).

В гомогенатах печени животных, которым после алкоголя натрия перорально ввели ацетилцистеин или его композицию с указанными выше веществами активность АСТ и АЛТ составили $135,9 \pm 106$ Ед/л, $30,3 \pm 5,2$ Ед/л и $127,5 \pm 7,0$ Ед/л, $29,4 \pm 5,8$ Ед/л соответственно ($p < 0,05$ относительно животных группы плацебо), содержание триглицеридов $23,8 \pm 5,9$ мг/г ткани и $22,5 \pm 4,5$ мг/г ткани ($p < 0,05$ относительно животных группы плацебо), глутатиона $117 \pm 10,6$ мг/г ткани и $133,3 \pm 7,6$ мг/г ткани соответственно ($p < 0,05$). Функционирование антиоксидантной системы гепатоцитов этих животных было близко к нормальному. Активность СОД в печени животных этих групп составила $42,3 \pm 5,9$ Ед/мг и $42,4 \pm 4,6$ Ед/мг соответственно ($p < 0,05$), а содержание МДА составляло $23,1 \pm 2,2$ и $21,3 \pm 1,8$ соответственно ($p < 0,05$). Обозначенные биохимические показатели у животных других групп занимали промежуточные значения. Показатели интактной, группы, плацебо, ацетилцистеина и композиции не достигали статистической значимости (за исключением положительного влияния пиридоксина, янтарной и липоевой кислот на уровень глутатиона, очевидно, недостаточного для влияния на другие показатели).

Однократное введение ацетилцистеина и в большей степени его композиции с таурином, кофеином, янтарной кислотой, липоевой кислотой и пиридоксином восстанавливало или повышало содержание глутатиона в печени, препятствовало развитию окислительного стресса и дистрофических изменений, что способствовало уменьшению тяжести алкогольной интоксикации и соответственно всех его психоневрологических проявлений.

ОБСУЖДЕНИЕ

Повышенная стрессогенная нагрузка в совокупности с увеличивающимся разнообразием и доступностью алкогольных напитков способствуют увеличению их потребления. Как упоминалось выше, основной медицинской проблемой употребления алкоголя являются постинтоксикационные психоневрологические и соматические симптомы (постинтоксикационное состояние), а не последствия хронического действия этанола на организм такие как кардиомиопатии, цирроз или психические заболевания. Именно патогенетический симптомокомплекс, трактуемый как «похмельный синдром», обуславливает значительные экономические и медицинские последствия для современного социума. Доступных (инфузионная терапия, несмотря на эффективность и безопасность доступна минимальному числу людей) и эффективных фармацевтических средств для купирования подобного состояния в настоящее время существует ограниченное количество и требует существенного расширения. Ключевым фактором патогенетического действия этанола является нарушение метаболизма его основного деривата ацетальдегида, что происходит в результате истощения субстратов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях, протекающих в гепатоцитах и, в значительной степени, зависящих от функционирования их антиоксидантной системы. Основным антиоксидантом гепатоцитов является глутатион, который не только защищает клетку от свободных радикалов, но и определяет окислительно-восстановительные характеристики внутриклеточной среды, а поступление ацетилцистеина приводит к восполнению запасов глутатиона. В наших предыдущих работах мы установили, что как предварительное, так и лечебное введение ацетилцистеина предупреждает или способствует восстановлению подопытных животных после острого отравления алкоголем. В этих исследованиях ацетилцистеин вводили в дозе 1 г/кг, что ограничивает его клиническое применение. Мы попытались уменьшить эффективную дозу ацетилцистеина, потенцировав его действие другими веществами, которые могут повлиять на метаболизм алкоголя или добавить дополнительные положительные эффекты (психостимулирующий).

Кофеин стимулирует концентрацию внимания, входит в состав (иногда в сочетании с родственными

ему веществами) энергетических напитков, которые часто употребляются с алкоголем. Исследования на животных показали способность метилксантинов, в том числе и кофеина, модулировать психофармакологические эффекты некоторых психоактивных веществ, таких как амфетамин [11], никотин [12], кокаин [13] и этанол [6].

Существует достаточно распространённое мнение о том, что кофеин может противодействовать опьяняющим эффектам алкоголя. Кофеин косвенно модулирует активность многих нейромедиаторов и нейромодуляторов, в том числе дофамина, ацетилхолина или глутамата в различных областях мозга. Основное действие кофеина связано с антагонистической активностью в отношении аденозиновых рецепторов (A_1 и A_{2A}) в центральной нервной системе [6, 14]. Этанол увеличивает внеклеточные уровни аденозина за счет повышения его синтеза (этому способствует ацетат, образующийся в процессе метаболизма этанола), секреции, и снижения поглощения, в результате дисфункции переносчика нуклеозидов [15]. Таким образом, кофеин может оказывать ободряющее действие в условиях посталкогольной интоксикации.

В экспериментальных исследованиях этанол и кофеин стимулировали двигательную активность с колоколообразной зависимостью наблюдаемого эффекта от дозы, низкие дозы её стимулируют, а высокие – снижают [16]. Кофеин может влиять на двигательную активность двухфазным образом [17]. В низких дозах острое введение кофеина может усилить стимулирующее действие этанола. Однако, когда дозы кофеина или этанола выше, отмечается выраженное подавляющее действие обоих веществ. Низкие дозы кофеина уменьшают дискоординационные эффекты этанола, а высокие их усиливают.

Аденозин опосредует опьяняющие эффекты этанола, такие как атаксия и седация [15]. Агонисты аденозина пролонгируют продолжительность сна, вызванного высокими дозами этанола, в то время как его антагонисты её сокращают.

Совместное введение этанола и кофеина оказывает нейропротекторное действие на различных моделях поражения головного мозга [18, 19]. Однократное введение кофеинола (комбинация 10 мг/кг кофеина плюс 0,65 г/кг алкоголя, перорально) через 15 минут после черепно-мозговой травмы улучшало показатели животных в водном лабиринте Морриса. Эти данные имеют значение, поскольку известно, что риск развития сердечно-сосудистых осложнений увеличивается на фоне приёма больших доз алкоголя и в состоянии постинтоксикационного состояния. Кофеин предотвращает потерю памяти, вызванную высокими дозами этанола. Учитывая потенциально благоприятные эффекты кофеина, его включили в состав исследуемой композиции.

Предварительное введение таурина замедляет вызванное этанолом повышение ацетальдегида у

крыс и людей, не оказывая при этом влияния на уровень этанола в крови. В клиническом исследовании таурин использовали в дозе 20 мг/кг (за 1 час до и через 1 час после этанола), что привело к снижению уровня ацетальдегида в крови на треть [20].

Таурин оказывает гепатопротекторное действие при алкогольных интоксикациях – снижает окислительный стресс, TNF- α , стеатоз. Таурин оказывал позитивное действие на адипоциты поврежденные этанолом, противовоспалительное и поддерживающее нормальную секрецию адипонектина [21]. Добавки таурина (1% в питьевой воде) предотвращают индукцию гипертонии у крыс, длительно получавших этанол (15% в питьевой воде) [22].

Таурин снижает концентрацию ацетальдегида в крови после перорального введения этанола [23]. Таурин на некоторых моделях оказывает антиатеросклеротический и антигипертензивный эффекты; ограниченные клинические данные свидетельствуют о том, что он также проявляет антигипертензивную активность [23], что важно, учитывая повреждающее действие высоких доз этанола в отношении сердечно-сосудистой системы. Также он оказывает стабилизирующее действие на тромбоциты, что, ожидается снижает риск инфаркта миокарда или инсульта; оказывает положительный инотропный эффект при застойной сердечной недостаточности [10]. В центральной нервной системе, таурин препятствует развитию эксайтотоксичности, а длительный прием таурина снижает возрастное снижение памяти у мышей [24]. Таким образом, таурин был выбран третьим компонентом комбинации.

Липоевая кислота поддерживает оптимальную активность альдегиддегидрогеназы 2 (АЛДГ-2), которая оказывает протективный эффект при окислительном стрессе, негативно влияющим на эффективность печеночной АЛДГ-2 и соответственно метаболизм алкоголя и ацетальдегида. Несколько исследований на крысах показали, что введение липоевой кислоты защищает слизистую желудка, печень и развивающийся мозг от побочных эффектов алкоголя [8]. АЛДГ-2 обеспечивает метаболизм ацетальдегида и физиологически действует как антиоксидант, также участвует в метаболизме и, следовательно, детоксифицирует определенные токсичные альдегиды такие как 4-гидроксиноненаль (4-HNE), которые являются продуктами разложения окисленных липидов мембран, что важно для защиты митохондрий от окислительного стресса [25, 26]. Курсовое, профилактическое, пероральное введение липоевой кислоты в дозе 100 мг/кг эффективно препятствует повреждению слизистой оболочки желудка в результате негативного воздействия этанола, вследствие его антиоксидантного действия [8].

Липоевая кислота и таурин обладают защитным действием на моделях ишемии-реперфузии [8, 27]. Липоевая кислота повышает активность АЛДГ-2 в сердце, что оказывает протективное действие при

постишемической реперфузии [27] и может быть перспективным средством для профилактики алкогольной кардиомиопатии [26].

Янтарная кислота представляет собой дикарбоновую кислоту, которая выполняет несколько биологических ролей в качестве промежуточного продукта метаболизма, который участвует в производстве АТФ, и в качестве сигнальной молекулы, отражающей состояние клеточного метаболизма [28]. Сукцинат вырабатывается в митохондриях через цикл трикарбоновых кислот (ЦТК) и функционирует в цитоплазме, а также во внеклеточном пространстве, изменяя паттерны экспрессии генов, модулируя эпигенетический метаболизм или гормоноподобную передачу сигналов [28], связывая клеточный метаболизм, особенно в области образования АТФ.

Передача сигналов сукцината часто происходит в ответ на состояние гипоксии. В печени сукцинат служит паракринным сигналом, выделяемым бескислородными гепатоцитами, и воздействует на звездчатые клетки через GPR91 [29]. Это приводит к активации звездчатых клеток и фиброгенезу. Сукцинат играет значительную роль в гомеостазе печени [29] и метаболизме алкоголя. Таким образом, липоевая и янтарная кислоты были включены в состав композиции, как вещества, аналогично ацетилцистеину, обладающие выраженным антиоксидантным действием и некоторыми уникальными эффектами.

У пиридоксина и некоторых его производных (пиридоксин и метадоксин) были отмечены гепатопротективные и нейропротективные свойства в условиях интоксикации. Внутримышечное введение пиридоксина крысам (187 мг/кг) значительно снижало летальность от этанола и увеличивало LD₅₀ этанола с 4,46 до 5,19 г/кг ($p < 0,005$) [30]. Метадоксин (пиридоксинпириролидона карбоксилат) обладает гепатопротекторным действием у крыс в дозах 200 и 400 мг/кг при интоксикации алкоголем, тетрахлорметаном и парацетамолом, снижая окислительный стресс и предотвращая истощение сниженного уровня GSH [31]. Пиритинол (пиридоксин) представляет собой комбинацию двух молекул витамина B6 (пиридоксина) с дисульфидной связью. Его фармакокинетический профиль имитирует профиль исходного соединения, легко проникает через гематоэнцефалический барьер и регулирует сигнальные пути различных нейротрансмиттеров, включая ацетилхолин, γ -аминомасляную кислоту, NMDA, также действует как антиоксидант и противовоспалительный агент, сни-

жает вязкость плазмы. Для пириноксина (пиритинола) была отмечена способность снижать выраженность симптомов постинтоксикационного состояния у людей в возрасте 21–40 лет при приеме вместе с алкоголем [32]. В экспериментальных исследованиях пиридоксин исследовался в широком диапазоне доз, при этом высокие дозы могут быть опасны при длительном применении, но, учитывая острый характер воспроизводимой патологии, доза 400 мг/кг была выбрана при монотерапии и 200 мг/кг в композиции.

Таким образом, комбинированное введение описанных выше веществ, в дозах в 2 раза меньших, чем при их изолированном применении, эффективно ускоряло восстановление психоневрологических функций, нарушенных острым введением алкоголя. Необходимо отметить, что изолированное внутривенное введение каждого из веществ, за исключением ацетилцистеина, не способствовало значимому снижению симптомов психоневрологического дефицита после острой интоксикации этанолом. Это очевидно связано с их недостаточной дозой, но при комбинировании этих веществ мы наблюдали значительную потенциацию протективного эффекта. Основным действующим веществом композиции, по нашему мнению, является ацетилцистеин, антиоксидантные эффекты которого потенцируются пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами, таурином, а введение кофеина оказывает психоактивирующее и психостимулирующее действие. Разработанная комбинация может применяться не только для предупреждения и/или коррекции постинтоксикационных психоневрологических нарушений, но и при состояниях, сопровождающихся нарушениями антиоксидантной системы организма.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В условиях острой алкогольной интоксикации введение комбинации ацетилцистеина с таурином, кофеином, пиридоксином, липоевой и янтарной кислотами более выражено (чем изолированные вещества) способствует улучшению функционального состояния антиоксидантной системы, способствует снижению выраженности деструктивных изменений в печени, а также снижению выраженности неврологических нарушений у лабораторных животных. Полученные результаты указывают на перспективность применения исследуемой композиции с целью устранения выраженности постинтоксикационного состояния (похмельного синдрома).

ФИНАНСОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Данная работа была выполнена при грантовой поддержке Президента Российской Федерации по Соглашению о предоставлении из федерального бюджета грантов в форме субсидий в соответствии с п. 4 ст. 78.1 Бюджетного кодекса Российской Федерации (внутренний номер МК-3454.2019.7) № 075-15-2019-176 от 23.05.2019 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ВКЛАД АВТОРОВ

Д.В. Куркин – идея и планирование исследования, написание статьи; Е.И. Морковин – участие в разработке дизайна исследования, корректировка статьи и ее перевод; Н.А. Осадченко – проведение биохимических исследований; Д.А. Бакулин – моделирование патологии, оценка неврологического дефицита, подготовка финального варианта статьи; Е.Е. Абросимова – перевод статьи, проведение поведенческих тестов; М.А. Дубровина – проведение поведенческих тестов; Н.С. Ковалёв – введение соединений, проведение поведенческих тестов; Ю.В. Горбунова – проведение поведенческих тестов; И.Н. Тюренков – общее управление проектом.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- GBD 2016 Alcohol Collaborators. Alcohol use and burden for 195 countries and territories, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 // *Lancet*. – 2018. – Vol. 392. – No.10152. – P. 1015–1035. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)31310-2
- Alford C., Broom C., Carver H., Johnson S.J., Lands S., Reece R., Verster J.C. The Impact of Alcohol Hangover on Simulated Driving Performance During a 'Commute to Work'-Zero and Residual Alcohol Effects Compared // *J Clin Med*. – 2020. – Vol. 9. – No.5. – P. 1435. DOI: 10.3390/jcm9051435
- Verster J.C., Penning R. Treatment and prevention of alcohol hangover // *Curr Drug Abuse Rev*. – 2010. – Vol. 3. – No.2. – P. 103–109. DOI: 10.2174/1874473711003020103
- Куркин Д.В., Морковин Е.И., Осадченко Н.А., Кнышова Л.П., Бакулин Д.А., Абросимова Е.Е., Горбунова Ю.В., Тюренков И.Н. Коррекция психоневрологических проявлений алкогольного похмелья у крыс ацетилцистеином // *Фармация и фармакология*. – 2019. – Т. 7. – №5. – С. 291–299. DOI:10.19163/2307-9266-2019-7-5-291-299
- Vohra B.P., Hui X. Improvement of impaired memory in mice by taurine // *Neural Plast*. – 2000. – Vol. 7. – No.4. – P. 245–259. DOI: 10.1155/NP.2000.245
- SanMiguel N., López-Cruz L., Müller C.E., Salamone J.D., Correa M. Caffeine modulates voluntary alcohol intake in mice depending on the access conditions: Involvement of adenosine receptors and the role of individual differences // *Pharmacol Biochem Behav*. – 2019. – Vol. 186. – 172789. DOI: 10.1016/j.pbb.2019.172789
- Пат. 015508 Российской Федерации, МПК А61К 31/00, А61К 31/185, А61К 31/198, А61К 31/194, А61К 31/7052, А61Р 1/16. Фармацевтическая композиция, стимулирующая биосинтез s-аденозилметионина, и пероральное лекарственное средство / Коваленко А.Л., Петров А.Ю.; заявитель и патентообладатель Экофарм патент менеджмент АГ (СН). – № 201100309; заявл. 2011.03.03; опубл. 2011.08.31. – 11 с.
- Sehirli O., Tatlıdede E., Yüksel M., Erzik C., Cetinel S., Yeğen B.C., Sener G. Antioxidant effect of alpha-lipoic acid against ethanol-induced gastric mucosal erosion in rats // *Pharmacology*. – 2008. – Vol. 81. – No.2. – P. 173–180. DOI: 10.1159/000111145
- Морковин Е.И., Куркин Д.В., Тюренков И.Н. Оценка психоневрологического дефицита у грызунов: основные методы // *Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова*. – 2018. – Т. 68. – №1. – С. 3–15. DOI: 10.7868/s004446771801001x
- Beyranvand M.R., Khalafi M.K., Roshan V.D., Choobineh S., Parsa S.A., Piranfar M.A. Effect of taurine supplementation on exercise capacity of patients with heart failure // *J Cardiol*. – 2011. – Vol. 57. – No.3. – P. 333–337. DOI: 10.1016/j.jcc.2011.01.007
- Simola N., Tronci E., Pinna A., Morelli M. Subchronic-intermittent caffeine amplifies the motor effects of amphetamine in rats // *Amino Acids*. – 2006. – Vol. 31. – No.4. – P. 359–363. DOI: 10.1007/s00726-006-0373-3
- Gasior M., Jaszyna M., Munzar P., Witkin J.M., Goldberg S.R. Caffeine potentiates the discriminative-stimulus effects of nicotine in rats // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2002. – Vol. 162. – No.4. – P.385-395. DOI:10.1007/s00213-002-1113-3
- Green T.A., Schenk S. Dopaminergic mechanism for caffeine-produced cocaine seeking in rats // *Neuropsychopharmacology*. – 2002. – Vol.26. – No.4. – P. 422-30. DOI: 10.1016/S0893-133X(01)00343-8
- McLellan T.M., Caldwell J.A., Lieberman H.R. A review of caffeine's effects on cognitive, physical and occupational performance // *Neurosci Biobehav Rev*. – 2016. – No.71. – P. 294–312. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2016.09.001
- Ruby C.L., Adams C.A., Knight E.J., Nam H.W., Choi D.S. An essential role for adenosine signaling in alcohol abuse // *Curr Drug Abuse Rev*. – 2010. – Vol. 3. – No.3. – P. 163–174. DOI: 10.2174/1874473711003030163
- Correa M., Arizzi M.N., Betz A., Mingote S., Salamone J.D. Open field locomotor effects in rats after intraventricular injections of ethanol and the ethanol metabolites acetaldehyde and acetate // *Brain Res Bull*. – 2003. – Vol. 62. – No.3. – P. 197–202. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2003.09.013
- Zhang Q., Yu Y.P., Ye Y.L., Zhang J.T., Zhang W.P., Wei E.Q. Spatiotemporal properties of locomotor activity after administration of central nervous stimulants and sedatives in mice // *Pharmacol Biochem Behav*. – 2011. – Vol. 97. – No.3. – P. 577–585. DOI: 10.1016/j.pbb.2010.09.011
- Dash P.K., Moore A.N., Moody M.R., Treadwell R., Felix J.L., Clifton G.L. Post-trauma administration of caffeine plus ethanol reduces contusion volume and improves working memory in rats // *J Neurotrauma*. – 2004. – Vol. 21. – No.11. – P. 1573–1583. DOI: 10.1089/neu.2004.21.1573.
- Piriyawat P., Labiche L.A., Burgin W.S., Aronowski J.A., Grotta J.C. Pilot dose-escalation study of caffeine plus ethanol (caffeinol) in acute ischemic stroke // *Stroke*. – 2003. – Vol. 34. – No.5. – P. 1242–1245. DOI: 10.1161/01.STR.0000067706.23777.04
- McCarty M.F. Nutraceutical strategies for ameliorating the toxic effects of alcohol // *Med Hypotheses*. – 2013. – Vol. 80. – No.4. – P. 456–462. DOI: 10.1016/j.mehy.2012.12.040
- Chen X., Sebastian B.M., Tang H., McMullen M.M., Axhemi A., Jacobsen D.W., Nagy L.E. Taurine supplementation prevents ethanol-induced decrease in serum adiponectin and reduces hepatic steatosis in rats // *Hepatology*. – 2009. – Vol. 49. – No.5. – P. 1554–1562. DOI: 10.1002/hep.2281100
- Harada H., Kitazaki K., Tsujino T., Watari Y., Iwata S., Nonaka H., Hayashi T., Takeshita T., Morimoto K., Yokoyama M. Oral taurine supplementation prevents the development

- of ethanol-induced hypertension in rats // *Hypertens Res.* – 2000. – Vol. 23. – No.3. – P. 277–284. DOI: 10.1291/hyres.23.277
23. Yamori Y., Taguchi T., Hamada A., Kunimasa K., Mori H., Mori M. Taurine in health and diseases: consistent evidence from experimental and epidemiological studies // *J Biomed Sci.* – 2010. – Vol. 17 (Suppl. 1). – S. 6. DOI: 10.1186/1423-0127-17-S1-S6
 24. El Idrissi A., Boukarrou L., Splavnyk K., Zavyalova E., Meehan E.F., L'Amoreaux W. Functional implication of taurine in aging // *Adv Exp Med Biol.* – 2009. – Vol. 643. – P. 199–206. DOI: 10.1007/978-0-387-75681-3_20
 25. Chen C.H., Budas G.R., Churchill E.N., Disatnik M.H., Hurley T.D., Mochly-Rosen D. Activation of aldehyde dehydrogenase-2 reduces ischemic damage to the heart // *Science.* – 2008. – Vol. 321. – No.5895. – P. 1493–1495. DOI: 10.1126/science.1158554
 26. Budas G.R., Disatnik M.H., Chen C.H., Mochly-Rosen D. Activation of aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) confers cardioprotection in protein kinase C epsilon (PKC ϵ) knockout mice // *J Mol Cell Cardiol.* – 2010. – Vol. 48. – No.4. – P. 757–764. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2009.10.030
 27. He L., Liu B., Dai Z., Zhang H.F., Zhang Y.S., Luo X.J., Ma Q.L., Peng J. Alpha lipoic acid protects heart against myocardial ischemia-reperfusion injury through a mechanism involving aldehyde dehydrogenase 2 activation // *Eur J Pharmacol.* – 2012. – Vol. 678. – No.1–3. – P. 32–38. DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.12.042
 28. Tretter L., Patocs A., Chinopoulos C. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis // *Biochim Biophys Acta.* – 2016. – Vol. 1857. – No.8. – P. 1086–1101. DOI: 10.1016/j.bbabi.2016.03.012
 29. de Castro Fonseca M., Aguiar C.J., da Rocha Franco J.A., Gingold R.N., Leite M.F. GPR91: expanding the frontiers of Krebs cycle intermediates // *Cell Commun Signal.* – 2016. – No.14. – P. 3. DOI: 10.1186/s12964-016-0126-1
 30. Gonzalez L.E., Parada M.A., Hernandez L. Pyridoxine acts in the brain to reduce ethanol toxicity in rats // *Alcohol.* – 1992. – Vol. 9. – No.6. – P. 519–522. DOI: 10.1016/0741-8329(92)90090-w
 31. Mazraati P., Minaiyan M. Hepatoprotective Effect of Metadoxine on Acetaminophen-induced Liver Toxicity in Mice // *Adv Biomed Res.* – 2018. – Vol. 7. – P. 67. DOI: 10.4103/abr.abr_142_17
 32. Khan M.A., Jensen K., Krogh H.J. Alcohol-induced hangover. A double-blind comparison of pyritinol and placebo in preventing hangover symptoms // *Q J Stud Alcohol.* – 1973. – Vol. 34. – No.4. – P. 1195–1201.

АВТОРЫ

Куркин Денис Владимирович – доктор фармацевтических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС; заведующий межкафедральным центром отработки практических навыков и НИР фармацевтического факультета ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: strannik986@mail.ru

Морковин Евгений Игоревич – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий лабораторией нейропсихофармакологии НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет», старший научный сотрудник лаборатории геномных и протеомных исследований ГБУ ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет». ORCID ID: 0000-0002-7119-3546. E-mail: e.i.morkovin@gmail.com

Осадченко Назар Андреевич – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-7398-2186. E-mail: n.a.osadchenko@gmail.com

Бакулин Дмитрий Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-4694-3066. E-mail: mbfdoc@gmail.com

Абросимова Елизавета Евгеньевна – аспирант

кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-6472-6906. E-mail: abrosimiva.volgmed@gmail.com

Дубровина Марина Александровна – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-1903-8589. E-mail: dubrovina.volgmed@gmail.ru

Ковалев Николай Сергеевич – аспирант кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0003-3498-3810. E-mail: kovalev.volgmed@gmail.com

Горбунова Юлия Васильевна – кандидат фармацевтических наук, делопроизводитель кафедры фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0002-1116-3425. E-mail: yvgorbunova@yandex.ru

Тюренок Иван Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН, заведующий лабораторией фармакологии сердечно-сосудистых средств НЦИЛС; заведующий кафедрой фармакологии и фармации Института НМФО ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России. ORCID ID: 0000-0001-7574-3923. E-mail: fibfuv@mail.ru