

Изучение обновляемости и баланса тиамина в тканях белых мышей при действии этанолового наркоза

Поступление в ткани этилового спирта в концентрациях, сопоставимых с таковыми при энтеральном потреблении алкоголя, создает предпосылки для развития тканевой гипоксии [11], выражающейся снижением интенсивности тканевых окислительных процессов [9], увеличением отношения молочной и пировиноградной кислот и снижением скорости ряда реакций цикла Кребса [17]. Ингаляционная алкогольная интоксикация, снижая поступление кислорода в организм, усугубляет гипоксическое состояние [15]. Гипоксия ведет к развитию дефицита витаминных ресурсов организма, в том числе и тиамин [7], который в этих условиях перераспределяется в организме, покидая печеночное депо [10].

Механизмы нарушений баланса тиамин при хронической алкогольной интоксикации многообразны [4, 5]. Эти нарушения проявляются в недостаточности тиамин и его фосфорных эфиров в тканях [12, 13]. Данный интегральный показатель, по-видимому, отражает нарушения всасывания тиамин в желудочно-кишечном тракте [20] за счет повреждения систем активного транспорта [1, 14]. Установлена прямая зависимость между содержанием тиамин и тиаминдифосфата (ТДФ), эндогенного этанола и алкогольной мотивацией животных [3], что может быть связано с использованием алкоголя в качестве альтернативного источника энергии, позволяющего обойти блокаду некоторых энергообразующих реакций, возникающую при недостаточности тиамин [19].

Общий дефицит тиамин в организме при алкоголизме коррелирует со снижением активности транскетолазы в крови и печени, частично компенсируемым появлением второй формы транскетолазы, которая интенсивно взаимодействует с тиаминпирофосфатом, ускоряя этим взаимопревращения ионов [18].

Таким образом, совокупность литературных данных свидетельствует о возникновении существенных нарушений баланса, распределения и обмена тиамин при алкогольной интоксикации. Однако механизмы данного явления еще не выявлены.

В связи с этим цель нашей работы — выяснить физиолого-биохимические механизмы нарушения баланса тиамин в тканях при острой алкогольной интоксикации.

Методика

Исследования проведены на 283 белых мышах массой 20—26 г. Подопытным животным одной группы вводили ^{35}S -тиамин (2 мкг/г), животные другой группы тиамин не получали. В экспериментах по изучению катаболизма тиамин животным вводили ^{14}C -тиамин. В остальных экспериментах использовали ^{35}S -тиамин. Животных помещали под стеклянные колпаки вместимостью 4 л из расчета 1 мышь на 1 л воздуха, в которых создавали концентрацию паров спирта 1,0; 1,5 и 2,0 мл спирта/л воздуха. Общая концентрация кислорода за весь период эксперимента снижалась во вдыхаемом воздухе до 18,1 %, а концентрация CO_2 в воздухе возрастала до 2,8 %, что было установлено в предварительных экспериментах. Температуру внутри колпака поддерживали постоянной с помощью наружного воздушного охлаждения. Контрольные животные испытывали такое же по интенсивности действие недостатка кислорода и избытка углекислого газа, однако спирт в сосуды, в которых они находились, не вводили. Животных, которым предварительно вводили ^{35}S -тиамин умерщвляли декапитацией через 7,5; 15; 30; 60; 120 и 240 мин. Животных, не получавших спирт, забивали

через 240 мин. После декапитацию, извлекали печень и гомогенизировали тканью гомогенизатора наносили на мишени, добавляя температуру 90 °C и считали на шее гомогенате осаждали (фугировали на центрифуге Ц. ровали в таком же объеме в тивые экстракты объединяли 0,01 н раствора NaOH, сушили ном шкафу при температуре удельную активность (ОУА) р

ОА =

где А — радиоактивность, обн на 1 г живой массы; Д — р Белок определяли по методу по методу Елисеевой [2] в мистически [8]. Обновляемос

(Исходный тиа

Результаты и их обсужде

Из табл. 1 видно, что двухфазная динамика н. тканях. Первый максимум после введения во в 120—240 мин.

Этаноловый наркоз тов меченого тиамин. 15 мин действия этанол.

Таблица 1. Влияние острой распределение и связывание с

Ткань	Срок после введения ^{35}S -тиамин, мин	Относительная активность	До
Кровь	7,5	52,6 ± 4,7*	2,
	15,0	82,7 ± 3,7*	3
	30	13,3 ± 2,1	0,
	60	18,4 ± 1,0	0,
	120	19,4 ± 3,0*	0,
Головной мозг (полушария)	240	14,1 ± 1,2	0,
	7,5	33,7 ± 1,2*	0,
	15	28,6 ± 2,0*	0,
	30	17,1 ± 5,0	0,
	60	19,4 ± 1,03	0,
Печень	120	16,7 ± 1,00	0,
	240	19,8 ± 1,82	0,
	7,5	137,3 ± 3,1*	1,
	15	187,2 ± 5,1	1,
	30	189,9 ± 4,0*	1,
	60	238,4 ± 11,0*	1,
	120	250,0 ± 9,0*	1,
	240	292,7 ± 1,9*	1,

Примечание. Здесь и в табл. 2 достоверно отличающ

через 240 мин. После декапитации собирали кровь, не разделяя венозную и артериальную, извлекали печень и головной мозг. Для определения общей радиоактивности навески тканей гомогенизировали с водой в отношении 1:10. По 0,5 мл гомогената наносили на мишени, добавляли 0,5 мл 0,01 н раствора NaOH, высушивали при температуре 90 °С и считали на газопоточном счетчике «Протока» 2154-1-1М. В оставшемся гомогенате осаждали белок охлажденным (—15 °С) этанолом. Пробы центрифугировали на центрифуге ЦЛР-1 в течение 5 мин при 10 000g. Осадок ресуспендировали в таком же объеме этанола и снова центрифугировали. Надосадочные спиртовые экстракты объединяли и наносили на мишени по 0,5 мл. Добавляли по 0,05 мл 0,01 н раствора NaOH, сушили сначала при комнатной температуре, а потом в сушильном шкафу при температуре 90 °С. Относительную активность (ОА) и относительную удельную активность (ОУА) рассчитывали по следующим формулам:

$$ОА = \frac{А \cdot 100}{В}; \quad ОУА = \frac{Д \cdot 100}{В},$$

где А — радиоактивность, обнаруженная в 1 г ткани; В — радиоактивность, введенная на 1 г живой массы; Д — радиоактивность, обнаруженная в белках из 1 г ткани. Белок определяли по методу Лоури [16]. Общий и свободный тиамин определяли по методу Елисейевой [2] в модификации Розанова [6]. Результаты обрабатывали статистически [8]. Обновляемость тиамина в тканях мышц рассчитывали по формуле

$$\frac{(\text{Исходный тиамин} + {}^{35}\text{S-тиамин}) - \text{Общий тиамин}}{\text{Общий тиамин}} \cdot 100 \%$$

Результаты и их обсуждение

Из табл. 1 видно, что у всех исследованных животных наблюдалась двухфазная динамика накопления меченых метаболитов ${}^{35}\text{S}$ -тиамина в тканях. Первый максимум накопления тиамина наблюдался через 15 мин после введения во всех исследованных органах, второй — через 120—240 мин.

Этаноловый наркоз существенно увеличивал накопление метаболитов меченого витамина. Наибольшие различия проявлялись в первые 15 мин действия этанола на организм. Что же касается интенсивности

Таблица 1. Влияние острой ингаляционной алкогольной интоксикации на распределение и связывание с белками ${}^{35}\text{S}$ -тиамина в тканях белых мышей

Ткань	Срок после введения ${}^{35}\text{S}$ -тиамина, мин	Опыт			Контроль		
		Относительная активность	Введенная доза из расчета на орган, %	Относительная удельная активность	Относительная активность	Введенная доза из расчета на орган, %	Относительная удельная активность
Кровь	7,5	52,6±4,7*	2,35±0,47*	—	15,9±3,2	1,13±0,03	—
	15,0	82,7±3,7*	3,7±1,08*	—	21,2±3,0	1,41±0,17	—
	30	13,3±2,1	0,56±0,03	—	21,0±3,0	0,91±0,06	—
	60	18,4±1,0	0,79±0,01	—	16,3±0,1	0,69±0,01	—
	120	19,4±3,0*	0,84±0,02*	—	12,0±1,03	0,52±0,10	—
	240	14,1±1,2	0,66±0,01	—	13,7±1,6	0,94±0,10	—
Головной мозг (полушария)	7,5	33,7±1,2*	0,43±0,20*	9,52±0,1*	11,2±0,2	0,14±0,03	6,88±1,03
	15	28,6±2,0*	0,39±0,10*	24,48±1,0*	13,1±0,9	0,17±0,06	6,42±1,08
	30	17,1±5,0	0,21±0,08	5,93±0,82	13,1±1,1	0,18±0,07	6,88±0,90
	60	19,4±1,03	0,26±0,01	7,22±0,30	18,1±1,02	0,22±0,04	4,89±0,75
	120	16,7±1,00	0,23±0,03	6,12±0,90	18,6±1,99	0,27±0,01	6,12±1,02
	240	19,8±1,82	0,27±0,08	7,65±1,03	18,8±3,01	0,25±0,14	9,25±1,02
Печень	7,5	137,3±3,1*	7,4±0,6	19,6±0,1*	109,2±21,2	6,6±0,1	6,5±0,5
	15	187,2±5,1	10,3±2,1	25,6±3,0	173,1±8,0	1,0±0,3	7,3±1,0
	30	189,9±4,0*	10,1±2,4	14,4±2,6	143,3±7,0	8,0±3,0	11,3±1,0
	60	238,4±11,0*	13,2±2,3	24,0±2,0*	124,0±10,0	16,0±1,1	16,0±1,1
	120	250,0±9,0*	13,7±2,6	16,2±0,8	150,0±11,0	8,3±1,4	14,0±1,2
	240	292,7±1,9*	16,1±1,0	26,6±2,03	164,0±12,0	9,0±3,0	25,6±2,1

Примечание. Здесь и далее в табл. 2—4 звездочкой отмечены значения показателей, достоверно отличающиеся от контрольных.

связывания метаболитов ^{35}S -тиамина с белками в условиях этанолового наркоза, то в данном случае картина оказалась не столь однозначной. В частности, если в начальные сроки исследований в опыте отмечено более интенсивное связывание метаболитов тиамина, то к 240-й минуте это различие практически нивелировалось. По-видимому, этаноловый наркоз увеличивает проницаемость гисто-гематических барьеров к тиамину, что обуславливает его повышенное проникновение в печень и мозг.

Таблица 2. Влияние острой алкогольной интоксикации на метаболизм ^{14}C -тиамина в организме мышей ($M \pm m$)

Вариант	Прирост $^{14}\text{CO}_2$, % введенной дозы ^{14}C -тиамина			
	15 мин	30 мин	45 мин	60 мин
Опыт	$2,26 \pm 0,15$	$2,69 \pm 0,34$	$3,40 \pm 0,96$	$3,51 \pm 1,16$
Контроль	$2,62 \pm 0,31$	$3,54 \pm 0,60$	$4,30 \pm 0,70$	$4,38 \pm 1,70$

Вариант	Прирост $^{14}\text{CO}_2$, % введенной дозы ^{14}C -тиамина			
	90 мин	120 мин	180 мин	240 мин
Опыт	$4,01 \pm 1,24$	$4,26 \pm 1,60$	$4,34 \pm 1,18$	$5,28 \pm 1,24$
Контроль	$4,92 \pm 1,33$	$4,69 \pm 2,60$	$5,45 \pm 2,60$	$5,79 \pm 2,14$

В специальных исследованиях (табл. 2) нами показано, что этаноловый наркоз вызывает выраженное замедление окисления ^{14}C -тиамина до $^{14}\text{CO}_2$ в пределах 4 ч наблюдения. Для установления влияния этанолового наркоза на обмен эндогенного тиамина нами были проведены дополнительные серии опытов, в которых тиамин мышам не вводили (табл. 3). Обнаружено, что содержание свободного и общего эндогенного тиамина в крови при этаноловом наркозе несколько повышается, а в печени и мозгу — снижается. Важно отметить, что изменения содержания общего тиамина были более выражены, чем свободного тиамина. Разнонаправленность изменений содержания свободного и общего тиамина в тканях и крови, по-видимому, свидетельствует об интенсификации выхода метаболитов тиамина из тканей в кровь при острой алкогольной интоксикации.

Результаты изучения обновляемости тиамина в тканях белых мышей после острой алкогольной интоксикации представлены в табл. 4, из которой видно, что в норме наиболее интенсивное обновление тиамин происходит в крови. Его значение в полтора раза превышает таковое аналогичного показателя в печени и в два раза — в мозгу. При сопоставлении значений этого показателя у контрольных животных и у животных при действии алкогольной интоксикации установлено, что поступление спирта в организм существенно повышает обновление тиамин в крови и печени. Так, в крови значение этого показателя увеличивалось по сравнению с таковым у контрольных животных на 35 %, а в печени — более чем в три раза. В мозгу обновление тиамин по сравнению с таковым в контроле практически не изменялось.

Приведенные результаты свидетельствуют о том, что при острой этаноловой ингаляционной интоксикации увеличивается проницаемость гепатогематического и гепато-энцефалического барьеров к тиамину. В результате этого увеличивается поступление ^{35}S -тиамина в ткани животных, дышавших парами этанола. Паралельно с этим, видимо, усиленно расходуется эндогенный тиамин. Выход метаболитов тиамина из тканей в кровь увеличивается, о чем свидетельствуют данные о снижении содержания эндогенного тиамина в тканях и повышении его в крови.

Таблица 3. Содержание (мкг В./г) свободного и общего тиамин в тканях белых мышей после острой ингаляционной алкогольной интоксикации ($M \pm m$)

Ткань	Концентрация спирта в воздухе, мл/л			
	1,0		1,5	
	Свободный тиамин	Общий тиамин	Свободный тиамин	Общий тиамин
Контроль	Свободный тиамин	Общий тиамин	Свободный тиамин	Общий тиамин
	2,0	2,0	2,0	2,0

A. Ya. Rozanov, A. S. Petrov, Sidiki Pogba

STUDIES OF THE THIAMINE RENEWAL AND BALANCE IN TISSUES
OF WHITE MICE UNDER THE ACTION OF ETHANOL NARCOSIS

Acute inhalative alcoholic intoxication has been studied for its effect on the influx and level of free and bound thiamine in tissues of white mice. It is established that acute inhalative ethanol intoxication increases ^{35}S -thiamine incorporation in tissues and decreases the level of endogenic free and bound thiamine. The results obtained permit a conclusion on intensification of the thiamine renewal in tissues with its sufficient influx from outside as affected by the ethanol narcosis.

I. I. Mechnikov University, Ministry
of Higher and Secondary Special Education
of the Ukrainian SSR, Kiev

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Эзриелев Г. Г.* Новые аспекты патологии патогенеза алкоголизма.— М.: Медицина, 1975.— 144 с.
2. *Елисеева Г. Д.* Флуориметрическое определение тиамин, кокарбоксилазы и рибофлавина в биологических объектах // Витамини.— 1953.— № 1.— С. 52—64.
3. *Островский Ю. М., Сатановская В. И., Островский С. Ю. и др.* Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя.— Минск: Наука и техника, 1988.— 263 с.
4. *Паршин Г. Н.* Методы экспериментальной химиотерапии.— М.: Медицина, 1971.— 526 с.
5. *Погба Сидики, Розанов А. Я.* Влияние этанолового наркоза на обмен ^{35}S -тиамин в тканях мышей // Физиол. журн.— 1988.— 34, № 4.— С. 36—40.
6. *Розанов А. Я., Лернер Ф. С.* Фосфорилирование тиамин в тканях морских свинок, зараженных туберкулезом, не леченных и леченных тубазидом // Проблемы туберкулеза.— 1964.— № 11.— С. 58—62.
7. *Розанов А. Я., Трещинский А. И., Хмелевский Ю. В.* Ферментативные процессы и их коррекция при экстракимальных состояниях.— Киев: Здоров'я, 1985.— 208 с.
8. *Рокицкий П. Ф.* Биологическая статистика.— М.: Наука, 1973.— 206 с.
9. *Сытинский И. А.* Биохимические основы действия этанола на центральную нервную систему.— М.: Медицина, 1980.— 191 с.
10. *Хмелевский Ю. В., Розанов А. Я.* Обмен витаминов при заболеваниях сердечно-сосудистой системы.— Киев: Здоров'я, 1975.— 150 с.
11. *Hassinen J. E., Harkonen M. H., Ilikahri R. H.* Metabolic effects of acetaldehyde in the intact rat brain cortex and its subcellular fractions // Brain res.— 1974.— 70, N 3.— P. 301—312.
12. *Hell D., Six P.* Vitamin B₁, B₂ and B₆ status in chronic alcoholism // Nutr.— 1977.— N 21, Suppl. 1.— P. 134—135.
13. *Hell D., Six P.* Thiamine, riboflavin and pyridoxine supply in chronic alcoholism // Deutsh. Med. Wochensh.— 1977.— N 102.— P. 962—966.
14. *Hoyumpa A. M.* Alcoholism.— New York, Pergamon press., 1983.— 427 p.
15. *Hultborn B., Jarlstedt J.* Effect of ethanol on the oxygen consumption of cerebral cortex, cerebellar cortex and liver homogenates // J. Neuropathol. exp. Neurol.— 1974.— 33, N 3.— P. 107—112.
16. *Lowry O., Resenbrogh N., Fara A., Randall R.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem.— 1951.— 193, N 7.— P. 265.
17. *Pachinger O. M., Tillmanns H., James M. C. et al.* The effect of prolonged administration of ethanol on cardiac metabolism and performance in the dog // J. Clin. Invest.— 1973.— 52, N 11.— P. 2690—2696.
18. *Pratt O. E., Hyasingham M., Shaw G. K., Thomson A. D.* Transketolase variant enzymes and brain damage // Alcohol and Alcoholism, Inst. of Psychiatry.— London, SE58AF, GB, 1985.— 20, N 2.— P. 223—232.
19. *Thomson A. D., Ryle P. R., Shaw G. K.* Alcohol and Alcoholism.— London, SE58AF, GB, 1983.— 43 p.
20. *Wood B., Breen K. T., Penengton D.* Thiamine status in alcoholism // Austr. N. S. T. Med.— 1977.— N 7.— P. 445—454.

Одес. ун-т им. И. И. Мечникова
М-ва высш. сред. спец. образования УССР

Материал поступил
в редакцию 23.01.89

Особенности продолжительности жизни на фоне применения нитрофторидов на фоне применения нитрофторидов

В регуляции функций надпочечниковой системы по-прежнему роль принадлежит андрогенам [1]. Блокада в них рецепторов андрогена (флутирида) (флутирида системы, что приводит к снижению уровня андрогенов (ЛГ))

С учетом перспектив лечения андрогензависимых заболеваний интересно изучить особенности андрогенчувствительных рецепторов продолжительного введения.

Методика

Опыты проведены на интактных (20 кг) и морских свинок (4 мес.) в течение 8—9 мес. Крысам на гелевой основе (%): карбонат натрия — 0,9, бензилтрисобакам скормливали с мясом и массой животных, получавших вены, у собак — из подкожного начала эксперимента (фон). Кровь брали из сосудов

Содержание тестостерона в семенниках для радиоиммунологической химии АН БССР). «Mark-III» (Trasog Europa) опыта животных подвергался воздействию ультрафиолетового излучения, семенники и аденогипофизы подвергались воздействию ультрафиолетового излучения в граммах на килограмм.

Результаты исследования
t Стьюдента.

Результаты и их обсужд

Несмотря на случайное содержание тестостерона в плазме крови собак оказалось более высоким. В течение опыта существенно у крыс (рисунков) в течение 1 мес содержание тестостерона достигло 2,5 мг/кг — в 4 раза по сравнению с контрольными животными. Большая концентрация тестостерона в плазме крови — в 4 раза по сравнению с контрольными животными. Однако концентрация тестостерона в уринах животных в течение 1 мес (март—апрель) была в 2,5—3 раза выше, чем в контрольных животных.