

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ДОНЕЦКОЙ НАРОДНОЙ РЕСПУБЛИКИ  
ГОСУДАРСТВЕННАЯ ОБРАЗОВАТЕЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ВЫСШЕГО  
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ «ДОНЕЦКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ М. ГОРЬКОГО»

*На правах рукописи*

**БОРТНИКОВА АННА КОНСТАНТИНОВНА**

*УДК 616.831-008.9-092+613.81*

**ПАТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ  
ПРОМЕЖУТОЧНОГО УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА ГОЛОВНОГО  
МОЗГА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ СТОЙКОГО ВЛЕЧЕНИЯ К ЭТАНОЛУ  
(экспериментальное исследование)**

14.03.03 – патологическая физиология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Донецк – 2021

Работа выполнена в Государственной образовательной организации высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» (ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО) Министерства Здравоохранения Донецкой Народной Республики.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор **Бондаренко Надежда Николаевна**,  
ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО, заведующая кафедрой физиологии с лабораторией теоретической и прикладной нейрофизиологии им. академика В. Н. Казакова

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук (14.03.03), профессор **Михайличенко Вячеслав Юрьевич**,  
Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Симферополь, заведующий кафедрой общей хирургии, анестезиологии-реаниматологии и скорой медицинской помощи

кандидат медицинских наук (14.03.03), доцент **Коровка Сергей Яковлевич**,  
Донецкое клиническое территориальное медицинское объединение Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. Донецк, заведующий нейрохирургическим отделением № 1

Ведущая организация: Республиканская клиническая психиатрическая больница  
Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, г. Донецк

Защита состоится 18 июня 2021 года в 10:00 на заседании Диссертационного совета Д 01.022.05 при ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО по адресу: 283003, г. Донецк, пр-т Ильича, 16. Тел.: (062) 344-41-51, факс: (062) 344-41-51, e-mail: [spec-sovet-01-022-05@dnmu.ru](mailto:spec-sovet-01-022-05@dnmu.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГОО ВПО ДОННМУ ИМ. М. ГОРЬКОГО по адресу: 283003, г. Донецк, пр. Ильича, 16.

Автореферат разослан мая 2021 года

Ученый секретарь  
Диссертационного совета Д 01.022.05  
д. мед. н., доцент

Ю. И. Стрельченко

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Распространенность алкоголизма в мире достигла огромных масштабов, ежегодный мировой уровень смертности в результате употребления алкоголя составляет 5,3%, при этом чрезмерное употребление алкоголя является пятым по значимости фактором риска преждевременной смерти и инвалидности в мире. Это основная причина смерти и инвалидности в развивающихся странах с низкой смертностью, третий по значимости фактор риска после табака и кровяного давления в развитых странах и одиннадцатый - в развивающихся странах с высокими показателями смертности (Ю.Е. Разводовский, П.Б. Зотов, 2016; Документационный центр ВОЗ, 2018).

Обилие в зарубежной и отечественной научной литературе патогенетических концепций алкогольной зависимости и отсутствие оптимальных мер профилактики и эффективной терапии пациентов свидетельствуют о недостаточности знаний патогенеза формирования стойкого влечения к алкоголю и определяют необходимость дальнейшего его изучения (В.В. Лелевич, 2017). Основной акцент в патофизиологических исследованиях был сделан на изучение модулирующих свойств алкоголя в отношении нейромедиаторных систем мозга (норадренергической, серотонинергической, ГАМК-ергической, опиоидной) (Н. Kamal et al., 2020; J. Liang et al., 2014; Z. Jin, 2014, S. Kodirov, 2017; P. Karina et al., 2017).

Современная концепция патогенеза алкогольной зависимости у пациентов в случае отказа от алкоголя постулирует главенствующую роль недостатка эндогенного ацетальдегида, образующегося из этанола с помощью альдегидокисляющих ферментов (Р.Н. Акалаев, 2017). Снижение концентрации ацетоальдегида сопровождается резким сокращением потребления кислорода, нарушением окислительно-восстановительных реакций, процессов образования энергии и, соответственно, функций клеток всех жизненно важных органов (мозга, миокарда, печени, почек, мышц). Формирующаяся при этом гипогликемия является результатом истощения запасов гликогена в печени и торможения глюконеогенеза, а также отражает выраженность дефицита глюкозы - универсального источника энергии для обеспечения метаболических процессов в органах ЦНС (В.В. Лелевич, 2017). При этом нарастание продукции кетоновых тел является следствием избытка и нарушения утилизации ацетила гепатоцитами при алкогольной интоксикации. Существующие в научной литературе факты свидетельствуют, что при хроническом алкоголизме реальными энергетическими резервами организма служат не гликоген, жирные кислоты и белковые структуры, а кетоны, образующиеся из экзогенного этанола с помощью альдегидокисляющих ферментов. Отсутствие поступления этанола лишает организм энергетического субстрата, эндогенный синтез которого требует больше энергии, чем та, которая запасена в нем, что в условиях дефицита глюкозы может усугублять влечение к алкоголю. Тем не менее, до настоящего времени отсутствует патогенетическая концепция роли нарушений промежуточного обмена углеводов в головном мозге и возможности их метаболической коррекции в

условиях сформированного стойкого влечения к алкоголю.

**Степень разработанности темы.** К настоящему времени накоплены многочисленные и противоречивые факты, которые в общих чертах раскрывают патогенетические механизмы формирования алкогольной зависимости. Алкогольную мотивацию и формирование зависимости исследователи связывают с гипофункцией ряда медиаторных систем ЦНС (норадренергической, серотонинергической, ГАМК-ергической, опиоидной), изменением активности основных ферментов метаболизма этанола в печени (алкогольдегидрогеназы и ацетальдегиддегидрогеназы). Доказано, что причиной дефицита энергии при алкоголизме является алкогольная гипогликемия вследствие угнетения этанолом ферментов гликогенолиза, глюконеогенеза (E.Ogunnowo-Bada, 2014; N.Paquot et al., 2014; В.В. Лелевич, 2017). Однако, до настоящего времени неизвестна роль метаболических нарушений промежуточного обмена углеводов в головном мозге при формировании влечения, как формы поведения. Имеются данные, что с целью компенсации нарушений углеводного обмена, организм в целом и мозг в частности переходят на иной субстрат - кетоновые тела (Т.И. Панова, 2012; Э.С. Багдасарова, 2019), что может быть основной гедонической мотивации. Таким образом, недостаточная изученность патогенеза формирования стойкого влечения к этанолу и необходимость усовершенствования методов коррекции нарушений промежуточного обмена углеводов у пациентов является важной научно-прикладной задачей.

**Цель исследования:** уточнить в эксперименте патогенетические механизмы нарушений промежуточного обмена углеводов в головном мозге и возможности их метаболической коррекции в условиях сформированного стойкого влечения к алкоголю.

**Задачи исследования:**

1. Изучить гедонические свойства глюкозы и особенности ее усвоения тканями головного мозга у животных со сформированной алкогольной зависимостью.
2. Оценить взаимосвязь выраженности кетоза и степени влечения к этанолу в процессе формирования алкогольной зависимости.
3. Установить возможность обратимости нарушений углеводного обмена у животных в условиях хронической алкоголизации и их динамику в условиях долговременной патогенетической коррекции.
4. Выявить резервные возможности углеводного обмена в тканях головного мозга у животных со сформированной алкогольной зависимостью.
5. Усовершенствовать схему патогенеза формирования стойкого влечения к этанолу на основании перестройки углеводного и энергетического обмена в головном мозге.

*Объект исследования* – промежуточный углеводный обмен в головном мозге белых беспородных крыс с моделируемым влечением к алкоголю.

*Предмет исследования* – изменения физиологических, биохимических и гистоэнзимологических показателей, характеризующих нарушения углеводного обмена и метаболизма в тканях головного мозга при сформированной

алкогольной зависимости и в условиях коррекции метаболических нарушений.

**Научная новизна исследования.** Результаты диссертационной работы расширяют и дополняют научные представления о патогенезе нарушений промежуточного обмена углеводов в различных отделах головного мозга в ходе формирования стойкой алкогольной зависимости. Впервые показана целесообразность использования в эксперименте у алкогользависимых животных показателей артериовенозной разницы (АВР) по глюкозе для головного мозга и всего организма для оценки способности к утилизации глюкозы. Впервые проведен сравнительный гистоэнзимологический анализ активности ферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в зонах головного мозга, ответственных за формирование патологического влечения (префронтальной коре, центральном ядре миндалевидного тела и медиальном отделе прилежащего ядра) до и после патогенетической коррекции алкогольной зависимости. Выявлены особенности патогенеза формирования стойкого влечения к этанолу в хроническом эксперименте, в основе которых лежат причинно-следственные взаимосвязи между состоянием промежуточного обмена глюкозы, перестройкой внутриклеточного метаболизма в головном мозге и степенью влечения к алкоголю. Впервые сформулирована и доказана новая гипотеза о метаболических механизмах формирования устойчивого влечения к этанолу, подтверждающая целесообразность сохранения кетоза в схемах лечения больных с хроническим алкоголизмом, целью которых является купирование устойчивого влечения к этанолу и предупреждения рецидивов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Автором получены новые данные о степени нарушений гликолиза, пентозофосфатного пути и цикла Кребса в различных отделах головного мозга в ходе хронической алкоголизации (префронтальной коре, центральном ядре миндалевидного тела и медиальном отделе прилежащего ядра). Продемонстрирована наибольшая взаимосвязь питьевого режима животных со снижением активности ЛДГ, Г-6-ФДГ и СДГ в медиальном отделе прилежащего ядра, что лежит в основе формирования стойкого влечения к алкоголю. Установлена возможность восстановления (обратимости) нарушений углеводного и энергетического обмена головного мозга путем повышения утилизации глюкозы головным мозгом и нормализации активности ферментов (ЛДГ, СДГ) в условиях кратковременной и долговременной (тридцатидневной) углеводной нагрузки. Помимо теоретического, эта проблема имеет и важное практическое значение. Приведены доказательства необходимости дифференцированного подхода к коррекции кетоза, сопровождающего абстинентный синдром при хронической алкоголизации, путем длительной метаболической коррекции гликемии, направленной на нормализацию углеводного и энергетического обмена головного мозга и уменьшение степени влечения к этанолу в долгосрочном периоде.

**Методология и методы исследования.** Эксперимент проводился в два этапа. На первом этапе моделировали алкогольную зависимость путем длительной принудительной алкоголизации (И.П. Анохина, 2012; Н.Н.

Каркищенко, 2010; Л.П. Кнышова, 2016). При проведении работы использовали следующие методы: физиологические, биохимические, гистоэнзимологические и статистические. С помощью физиологического метода оценивали питьевой режим животных - регистрировали потребление раствора этанола, глюкозы, воды. Так как животные отличались по весу, перерасчет выпитой жидкости делали на 0,1 кг веса в час или в сутки. Биохимические методы включали: определение концентрации кетоновых тел в моче, концентрации глюкозы в крови. Гистоэнзимологическим методом определяли активность в тканях головного мозга ЛДГ, Г-6-ФДГ и СДГ.

На втором этапе у 60 экспериментальных и 40 интактных крыс выполняли метаболическую коррекцию, включающую продолжительную (в течение 30 суток) и кратковременную (однократную) углеводную нагрузку, нейтрализацию кетоновых тел, а также сочетанную коррекцию гликемии и кетоза.

В рамках статистического метода для проверки отличия закона распределения показателей от нормального применялся критерий Шапиро-Уилка или Хи-квадрат. В зависимости от распределения данных, для сравнения значений использовались критерии Стьюдента и Фишера или W-критерий Уилкоксона и Хи-квадрат Пирсона. При сравнении трех или больше групп были использованы методы однофакторного анализа Крускала-Уоллиса и множественных сравнений (метод Шефе, метод Дана). Для анализа связи между признаками использовались методы корреляционного анализа с расчетом показателей корреляции Пирсона и ранговой корреляции Спирмена. Для разбития множества исследуемых объектов по ряду факторных признаков на однородные группы был применен кластерный анализ с использованием дивизионного метода k -средних.

#### **Положения, выносимые на защиту:**

1. У животных с длительной алкоголизацией снижение способности усваивать глюкозу тканями головного мозга, даже при ее достаточной концентрации в крови, приводит к потере гедонических свойств глюкозы пропорционально сроку и тяжести алкоголизации, уменьшению ее употребления в условиях свободного выбора, увеличению суточного количества выпитого крысами этанола в ходе формирования алкогольной зависимости.
2. Снижение уровня кетонемии не влияет на степень гликемии, которая остается стабильно низкой, при этом не уменьшает, а провоцирует усиление влечения к этанолу и его потребления в условиях свободного выбора.
3. При сформированной алкогольной зависимости и стабильной гипогликемии имеет место прямая пропорциональная зависимость между потреблением этанола и уровнем кетонурии и обратная пропорциональная зависимость между уровнем кетоновых тел и желанием употребить алкоголь. Это обусловлено изменением промежуточного обмена углеводов и внутриклеточного метаболизма преимущественно в нейронах медиального отдела прилежащего ядра головного мозга.
4. Нарушения углеводного обмена в тканях мозга алкоголизированного организма в условиях долговременного моделирования нормогликемии

приобретают обратимый характер, что способствует снижению влечения к этанолу и сопровождается нормализацией углеводного обмена в головном мозге, а также уменьшением кетонемии и кетонурии.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Основные положения и результаты диссертации были доложены и обсуждены на 87-й Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых, посвященной 155-летию со дня рождения Л.А. Даршкевича (Казань, 2013); Украинско-польском симпозиуме «Опыт, реалии и перспективы развития системы здравоохранения» (Львов, 2013); Международной научной конференции, посвященной 60-летию Института физиологии НАН Беларуси (Минск, 2013); 7-й Львовско-Люблинской конференции по экспериментальной и клинической биохимии (Львов, 2013); XXII съезде физиологического общества им. И.П. Павлова (Волгоград, 2013); XIX съезде Украинского физиологического общества с международным участием (Львов, 2015); 78-80-м международных Медицинских конгрессах молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины» (Донецк, 2016, 2017, 2018).

**Личный вклад автора в работу.** Автором был самостоятельно разработан дизайн исследования, сделан аналитический обзор научной литературы, поставлены эксперименты на крысах, выполнен сбор и исследование биологического материала (кровь, моча), изучены и проанализированы результаты исследований, проведена статистическая обработка полученных данных, сформулированы основные положения, обобщения и выводы работы, написаны разделы диссертации и автореферат, подготовлены для печати статьи и тезисы.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 25 научных работы, в том числе 14 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК (из них – три статьи без соавторов), 11 тезисов в материалах конференций, съездов и конгрессов.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, трех разделов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов, списка использованной литературы (176 наименований, из которых 115 отечественных источников, 61 зарубежных источников). Текстовая часть работы изложена на 155 страницах. Диссертация содержит 15 таблиц и иллюстрирована 21 рисунком.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты выполнены на 120 самцах белых лабораторных крыс в возрасте 12 месяцев массой 200-250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при свободном доступе к пище.

До начала эксперимента (1 неделя) изучали потребление воды, 10% этанола и 5% глюкозы здоровыми крысами (все 120 особей). Затем крыс распределили по группам, соответственно этапам эксперимента (табл. 1).

## Распределение крыс в ходе выполнения эксперимента

Характер воздействия		Исследуемые параметры	
I этап:	II этап:	Количество выпитого алкоголя, воды, глюкозы; уровень гликемии, кетонурии	АВР по глюкозе
Предварительная 112-дневная принудительная алкоголизация подопытных крыс n = 60. Из них:	1а группа, n = 10: 30-дневное усиленное питание	+ контроль 1 раз в сутки	+
	2а группа, n = 10: 30-дневное подавление кетоза	+ контроль 1 раз в сутки	+
	3а группа, n = 10: 30-дневное усиленное питание и подавление кетоза	+ контроль 1 раз в сутки	+
	4а группа, n = 10: 30-дневное введение 0,9 % NaCl	+ контроль 1 раз в сутки	+
	5а группа, n = 10: 3-дневное подавление кетоза	+ почасовой контроль	-
	6а группа, n = 10: 3-дневное введение 0,9 % NaCl	+ почасовой контроль	+
Контрольные крысы, без алкоголизации n= 60. Из них:	1-к группа, n = 10: 30-дневное усиленное питание	+ контроль 1 раз в сутки	+
	2к группа, n = 10: 30-дневное подавление кетоза	+ контроль 1 раз в сутки	-
	3к группа, n = 10: 30-дневное усиленное питание и подавление кетоза	+ контроль 1 раз в сутки	-
	4к группа, n = 10: 30-дневное введение 0,9 % NaCl	+ контроль 1 раз в сутки	-
	5к группа, n = 10: 3-дневное подавление кетоза	+ почасовой контроль	-
	6к группа, n = 10: 3-дневное введение 0,9 % NaCl	+ почасовой контроль	+
В общей сложности использовано 120 крыс			

Примечания: усиленное питание - per os вводили 1 мл 40 % крахмала (в пересчете на глюкозу – 2,0 г/кг массы животного); подавление кетоза – 1,4 % раствор унитиола (Зорекс, «Валента фармацевтика», Россия) из расчета 3,5 мг/кг; + проводили измерения параметров, - не проводили измерения параметров.

Эксперимент проводился в 2 этапа. На I-м этапе 60 крыс подвергали принудительной алкоголизации 10% раствором этанола в течении 112 суток (16 недель) при свободном доступе к еде. До эксперимента, на 21-е, 42-е, 84-е и 112-е сутки оценивали степень влечения к алкоголю и гедонические свойства глюкозы по количеству добровольно потребляемых растворов 10% этанола, воды и 5% раствора глюкозы в течение дня при условии свободного

выбора питья; биохимическим методом (А.А. Кишкун, 2015) определяли уровень гликемии в крови, полученной из хвостовой вены утром с 8.00 до 9.00, натощак; при помощи тест-полосок Citolab («Фармаско», Украина), принцип действия которых основан на реакции Легалья с нитропруссидом натрия (В.В. Меньшиков, 2020, И.И. Миронова, 2012), измеряли уровень кетоновых тел в моче, результаты оценивали по шкале, предлагаемой производителем.

С помощью кластерного анализа предварительно алкоголизованные животные были распределены на три кластера (группы) по уровню потребления 10% этанола в однодневном эксперименте: сильно пьющие (7,0 и более мл/0,1 кг/сутки), умеренно пьющие (6,0 до 7,0 мл/0,1 кг/сутки) и мало пьющие (менее 6,0 мл/0,1 кг/сутки), каждое из них вошло в какую-либо опытную группу.

На II-м этапе исследовали реакции организма на кратковременную и длительную метаболическую коррекцию. Алкоголизованные крысы 1а-4а групп подлежали *эксперименту долгосрочной метаболической коррекции в течение 30-ти дней* с контролем показателей один раз в сутки, а алкоголизованным крысам 5а и 6а групп проводили краткосрочную трехдневную коррекцию кетоза с почасовым контролем показателей.

В каждой из этих экспериментальных и контрольных групп на 10-й, 20-й и 30 день эксперимента исследовали уровень гликемии и кетонурии. По окончании II этапа, метаболической коррекции, крысы подвергались острому эксперименту по изучению способности тканей организма утилизировать глюкозу.

Для выяснения степени утилизации глюкозы тканями мозга, забор крови осуществляли в остром эксперименте, под тиопенталовым наркозом, 90 мг/кг. Определяли концентрацию глюкозы в артериальной крови, которая была взята из общей сонной артерии (a. carotis communis), и в венозной крови, которая была взята из стока синусов мозга (confluens sinuum). Для оценки утилизации глюкозы организмом в целом выясняли артериовенозную разницу между артериальной кровью из a. carotis communis и венозной кровью из бедренной вены (v. femoralis). Забор крови осуществляли дважды: утром натощак и через 30 минут после моделирования кратковременной гипергликемии - стандартный внутривенный тест для определения толерантности организма к глюкозе (введение в v. femoralis 20% глюкозы из расчета 1,65 мл глюкозы/0,1 кг со скоростью 0,5 мл/мин).

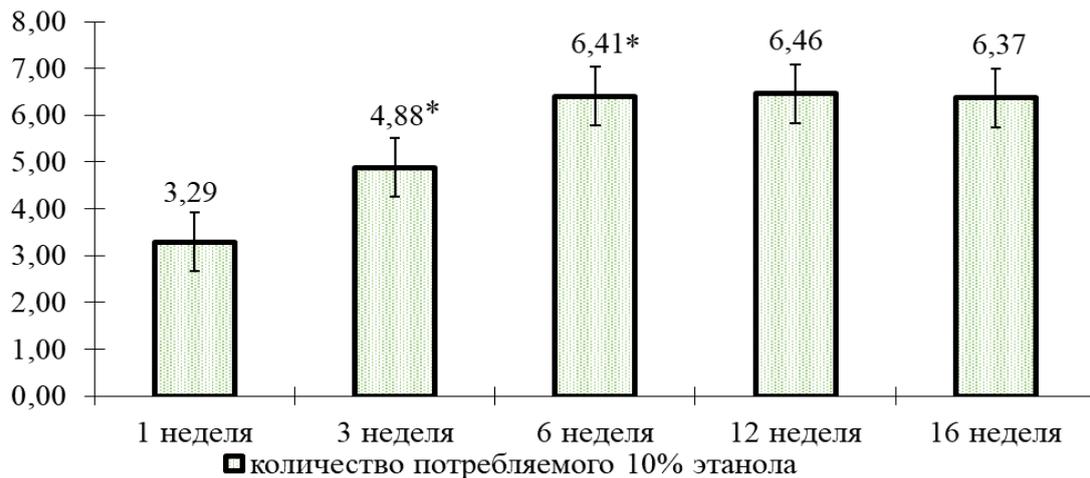
Сразу после забора крови из a. carotis communis, confluens sinuum, v. femoralis животное выводили из эксперимента путем декапитации под тиопенталовым наркозом. В дальнейшем выполнялось гистоэнзимологическое исследование тканей головного мозга толщиной  $25 \pm 2$  мкм по З. Лойда (1982).

Для анализа влияния уровня кетоза на влечение к этанолу алкоголизованные крысы 5а и 6а групп подлежали *краткосрочному трехдневному эксперименту*, в ходе которого алкоголизованным крысам 5а группы ежедневно вечером в 17.00 регистрировали выраженность кетоза однократным введением суточной дозы унитиола per os. Алкоголизованным крысам группы сравнения (6а группа) с той же периодичностью вводили 0,9%

NaCl. Затем поилки с этанолом заменяли на поилки с чистой питьевой водой. Ежедневно в 17.00, а затем утром, в 9.00 ч, у крыс определяли степень кетонурии, уровень гликемии, количество выпитой воды, после чего возвращали поилки с этанолом для свободного выбора питья. Затем степень кетонурии и количество выпитого алкоголя регистрировали каждый час с 9.00 до 17.00 ч. Почасовую регистрацию степени гликемии проводили на третий день перед выведением животных из эксперимента. Крысам контрольных групп (5к и 6к) в течение 3 дней вводили соответственно унитиол или 0,9% NaCl.

**Результаты исследования.** До начала эксперимента у всех крыс, отобранных для эксперимента (n=120) уровень глюкозы в крови хвостовой вены составлял в среднем  $7,01 \pm 0,17$  (95% ДИ: 6,67-7,34) ммоль/л. Кетоновых тел в моче обнаружено не было. Потребление этанола в течение первой недели алкоголизации составило в среднем по  $3,29 \pm 0,06$  (95% ДИ: 3,16-3,41) мл/0,1 кг/сутки 10% раствора этанола.

До конца 6 недели отмечался постепенный прирост потребления раствора этанола в условиях свободного выбора до  $6,41 \pm 0,17$  (95% ДИ: 6,07-6,74) мл/0,1 кг/сутки животного,  $p < 0,05$  (рис. 1).



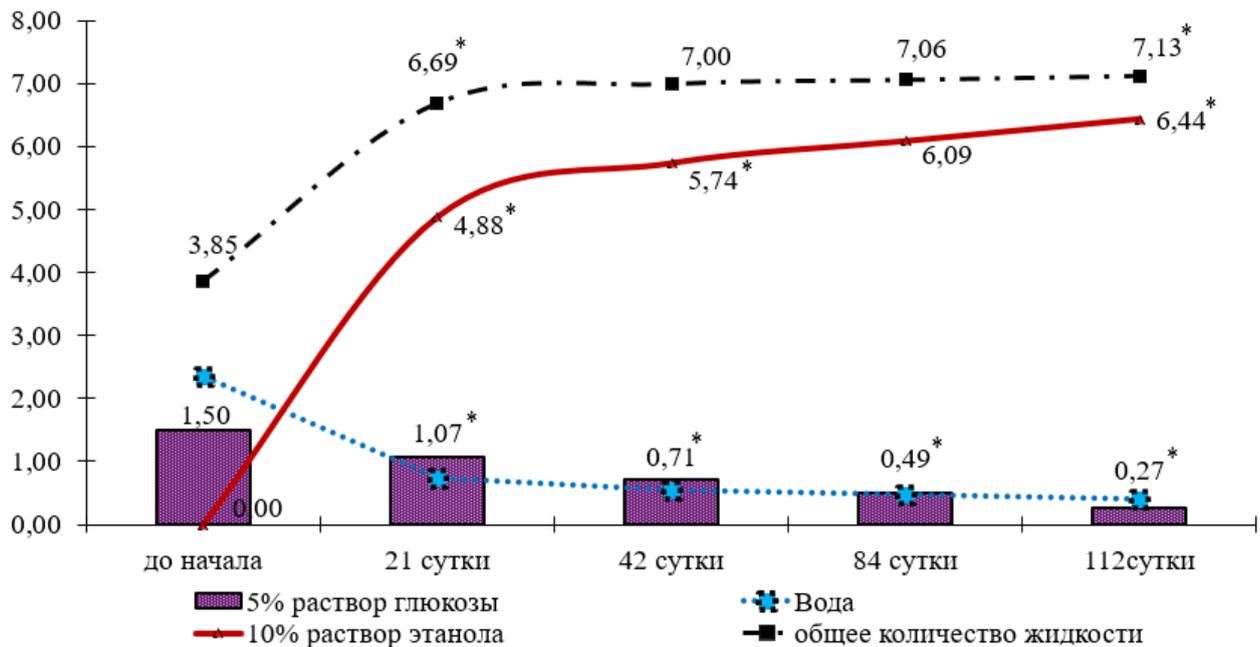
\* – статистически значимые различия, по сравнению с показателями предыдущего контрольного периода,  $p < 0,05$ .

**Рис. 1.** Динамика уровня потребления 10% раствора этанола крысами опытной группы в контрольные периоды принудительной алкоголизации (мл/0,1 кг/сут)

В последующие периоды с 12-й по 16-ю неделю потребление этанола стабилизировалось на уровне от  $6,46 \pm 0,15$  (95% ДИ: 6,16-6,76) мл/0,1 кг/сутки до  $6,37 \pm 0,14$  (95% ДИ: 6,10-6,65) мл/0,1 кг/сутки, соответственно ( $p > 0,05$ ). Стабильность потребления этанола с шестой по шестнадцатую неделю свидетельствует о сформированной алкогольной зависимости

Рост влечения к этанолу сопровождался снижением потребления воды и раствора 5% глюкозы в однодневных экспериментах с предоставлением свободного выбора питья. До начала эксперимента животные 1а - 6а групп выпивали по  $1,5 \pm 0,03$  (95% ДИ: 1,41-1,55) мл/0,1 кг/сутки раствора 5% глюкозы

(рис. 2). Следует подчеркнуть, что раствор глюкозы животные потребляли при наличии избытка чистой воды в клетке. Это свидетельствует о гедонических свойствах глюкозы. Уровень потребления 5% глюкозы в условиях свободного выбора отражает степень потребности мозга в этом энергетическом субстрате или уровень способности утилизировать его. Чем дольше выполнялась алкоголизация (3-6-12-16 неделя), тем меньше крысы потребляли глюкозы в условиях свободного выбора. Так, отмечена прямая сильная корреляционная связь между уровнем потребления этанола конце 16 недели принудительной алкоголизации и снижением потребления раствора глюкозы в однодневном эксперименте ( $r=0,86$  при  $p<0,05$ ). При сравнении показателей питьевого режима по глюкозе от одного отчетного периода к другому (рис. 2), статистически значимо снижается уровень ее потребления с  $1,50\pm 0,03$  (95% ДИ: 1,41-1,55) мл/0,1 кг/сутки до начала эксперимента до  $0,27\pm 0,03$  (95% ДИ: 0,23-0,34) мл/0,1 кг/сутки на 16-й неделе ( $p<0,05$ ).

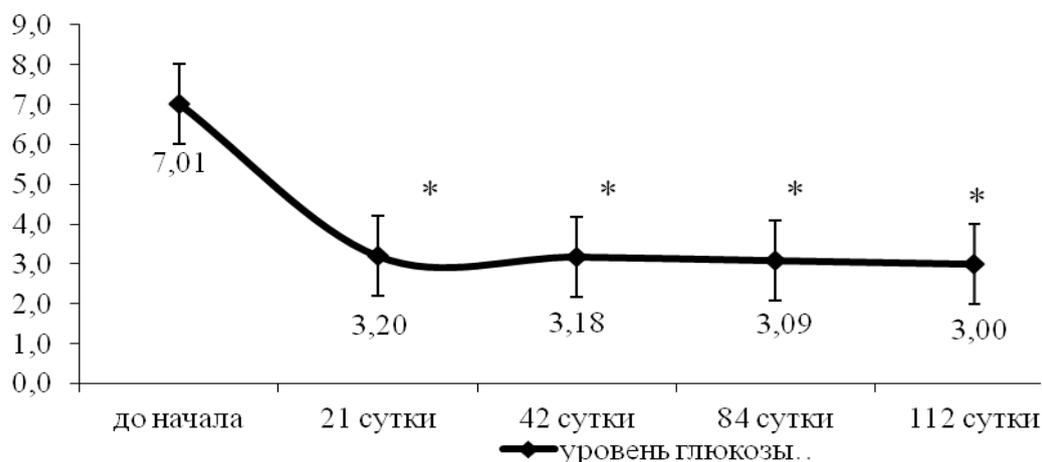


\* – статистически значимые различия, по сравнению с показателями предыдущего контрольного периода,  $p<0,05$

**Рис. 2.** Динамика уровня потребления жидкостей (воды, 5% раствора глюкозы, 10% раствора этанола) крысами опытной группы в период принудительной алкоголизации (мл/0,1 кг/сут)

К 16 неделе принудительной алкоголизации происходило постепенное снижение концентрации глюкозы в крови в 2,3 раза, по сравнению с показателями здоровых животных,  $p<0,05$  (рис. 3).

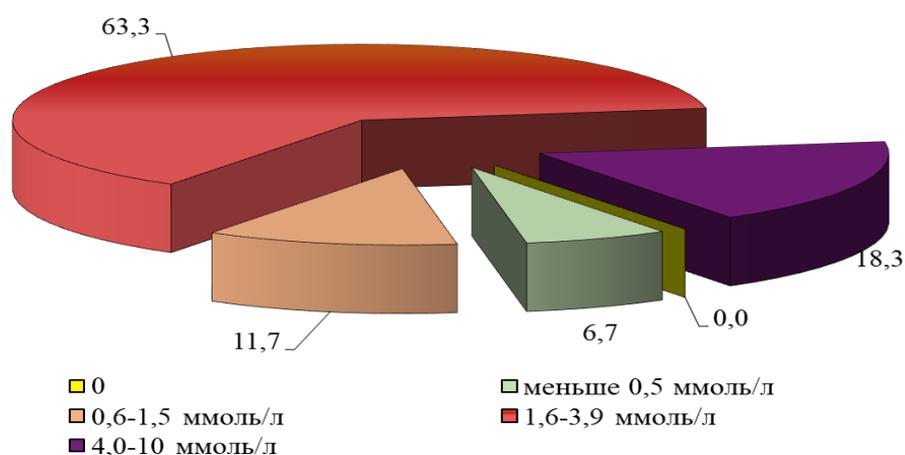
Выраженность гипогликемии возрастала соответственно увеличению количества потребляемого этанола. Проведение корреляционного анализа уровня потребления этанола и уровня глюкозы крови в период с третьей по 16-ю неделю выявил сильную обратную связь между этими показателями ( $r = -0,94$  на третьей неделе и  $r = -0,56$  на 16 неделе алкоголизации при  $p<0,01$ ).



\* – статистически значимые различия, по сравнению с показателями предыдущего контрольного периода,  $p < 0,05$

**Рис. 3.** Динамика содержания глюкозы в плазме крови крыс подопытных 1а-6а групп (n=60) в однодневном эксперименте до начала и в разные сроки принудительной алкоголизации (ммоль/л).

Анализ динамики развития кетонурии ожидаемо показал прямую зависимость степени кетонурии от срока принудительной алкоголизации. Так, до алкоголизации в моче кетонов не было, а к 16-й неделе большинство крыс преимущественно имели выраженную кетонурию (1,6-3,9 ммоль/л) (рис.4) как показатель дисметаболических процессов в печени, обусловленных алкогольной интоксикацией. Это хорошо согласуется с наличием гипогликемии, обусловленной угнетением пластических процессов в гепатоцитах (В.В.Лелевич, 2017).



**Рис. 4.** Распределение животных с различным уровнем кетонурии в подопытных группах 1а-6а после принудительной алкоголизации (n=60).

Несмотря на выраженность гипогликемии и кетоза, к концу 16-й недели эксперимента потребление 5% раствора глюкозы в условиях свободного выбора в среднем было на  $82,0 \pm 3,4\%$  ниже, чем у здоровых крыс ( $p < 0,05$ ). Организм в целом и мозг в частности, попав в ситуацию хронического недостатка «топливного» субстрата – глюкозы – должен был бы активно продуцировать поведенческую реакцию, направленную на поиск и прием углеводной пищи, а не отказываться от предлагаемой глюкозы добровольно.

Поскольку перестройка углеводного метаболизма в алкоголизированном организме провоцируется длительной алкогольной гипогликемией и сопутствующим кетозом, то дизайн второго этапа эксперимента базировался на гипотезе от обратного: возможность его восстановления при длительном моделировании нормогликемии (с целью восстановления активности ферментов гликолиза) или коррекции выраженности кетоза, чтобы лишить ткани альтернативного энергетического субстрата. Наиболее выраженную динамику нормализации уровня гликемии отмечали в 1а и 3а группах (табл.2).

Таблица 2

**Влияние принудительного введения крахмала и унитиола на содержание глюкозы в крови и на количество потребляемого крысами 10% раствора этанола и 5% раствора глюкозы в условиях свободного выбора**

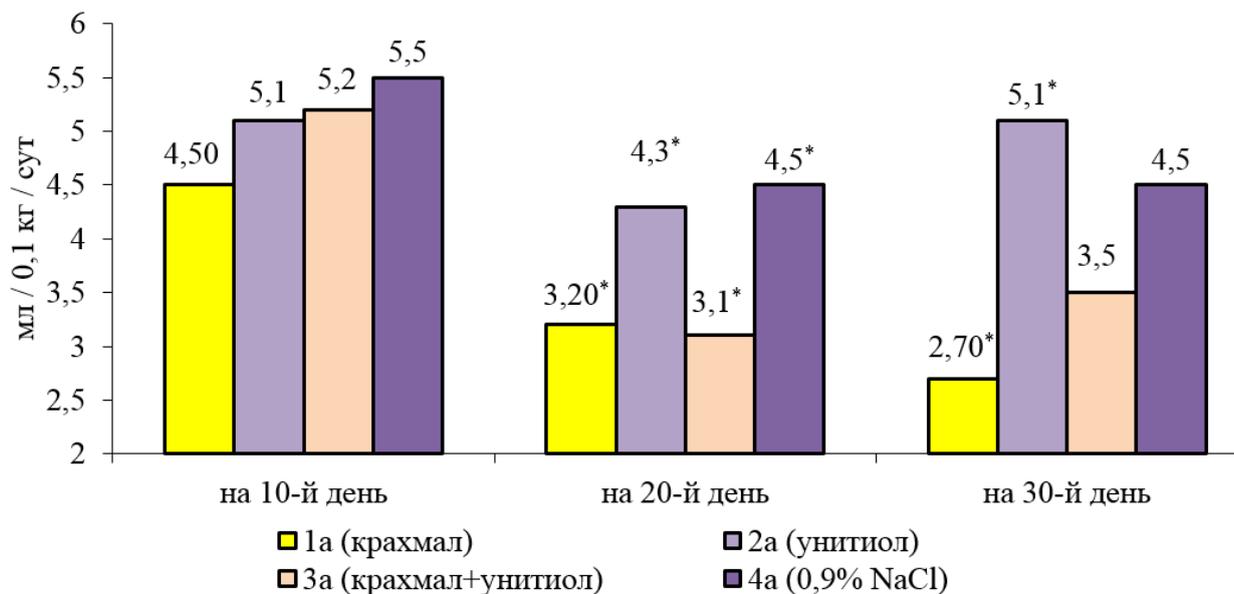
Группа	Вещество, вводимое <i>per os</i>	Срок введения <i>per os</i> , декады	Потребление 10% этанола, мл/0,1 кг/сутки	Потребление 5% глюкозы, мл/0,1 кг/сутки	Уровень глюкозы крови, ммоль/л
1а n = 10	Крахмал	Одна	4,5±0,3 <sup>*</sup>	0,2±0,1 <sup>*</sup>	6,0±0,4 <sup>*</sup>
		Две	3,2±0,4 <sup>*#</sup>	0,3±0,2 <sup>*#</sup>	6,1±0,6 <sup>*</sup>
		Три	2,7±0,3 <sup>*#</sup>	0,7±0,3 <sup>*#</sup>	7,1±0,4 <sup>*#</sup>
2а n = 10	Унитиол	Одна	5,1±0,4	0,2±0,1	3,6±0,3
		Две	4,3±0,3 <sup>#</sup>	0,2±0,1	3,8±0,3
		Три	5,1±0,3 <sup>#</sup>	0,3±0,2	4,0±0,3
3а n = 10	Унитиол + крахмал	Одна	5,2±0,4	0,1±0,1	6,0±0,4 <sup>*</sup>
		Две	3,1±0,4 <sup>*#</sup>	0,2±0,1	6,0±0,5 <sup>*</sup>
		Три	3,5±0,5 <sup>*</sup>	0,5±0,2 <sup>*#</sup>	7,1±0,3 <sup>*#</sup>
4а n = 10	0,9 % раствор хлорида натрия	Одна	5,5±0,3	0,2±0,2	3,0±0,2
		Две	4,5±0,3 <sup>#</sup>	0,2±0,1	3,2±0,2
		Три	4,5±0,4	0,3±0,1	3,5±0,3

*Примечание.* Статистически значимые различия ( $p < 0,01$ ), по сравнению с: \* – показателями 4а группы (0,9% NaCl) в тот же временной период; # – показателями предыдущего контрольного периода ( $p < 0,01$ ).

Так, после начала усиленного углеводного питания на 30 день коррекции показатель гликемии у опытной группы 1а достиг уровня  $7,1 \pm 0,4$  ммоль/л, что достоверно не отличалось от значения гликемии здоровых животных до коррекции ( $7,01 \pm 0,17$  ммоль/л),  $p > 0,001$ . Это сопровождалось восстановлением гедонических свойств глюкозы и снижением влечения к этанолу в 1а и 3а

группах (рис. 5).

К концу 3-й декады метаболической коррекции в группе 3а статистически значимо вырос уровень потребления глюкозы в условиях свободного выбора до  $0,5 \pm 0,2$  мл/0,1 кг/сутки, а в группе 1а потребление глюкозы увеличилось в 2,6 раза - до  $0,7 \pm 0,1$  мл/0,1 кг/сутки. А потребление этанола в группе 1а снизилось в 2,3 раза – до  $2,7 \pm 0,3$  мл/0,1 кг/сутки, по сравнению с показателями до коррекции ( $p < 0,01$ ).



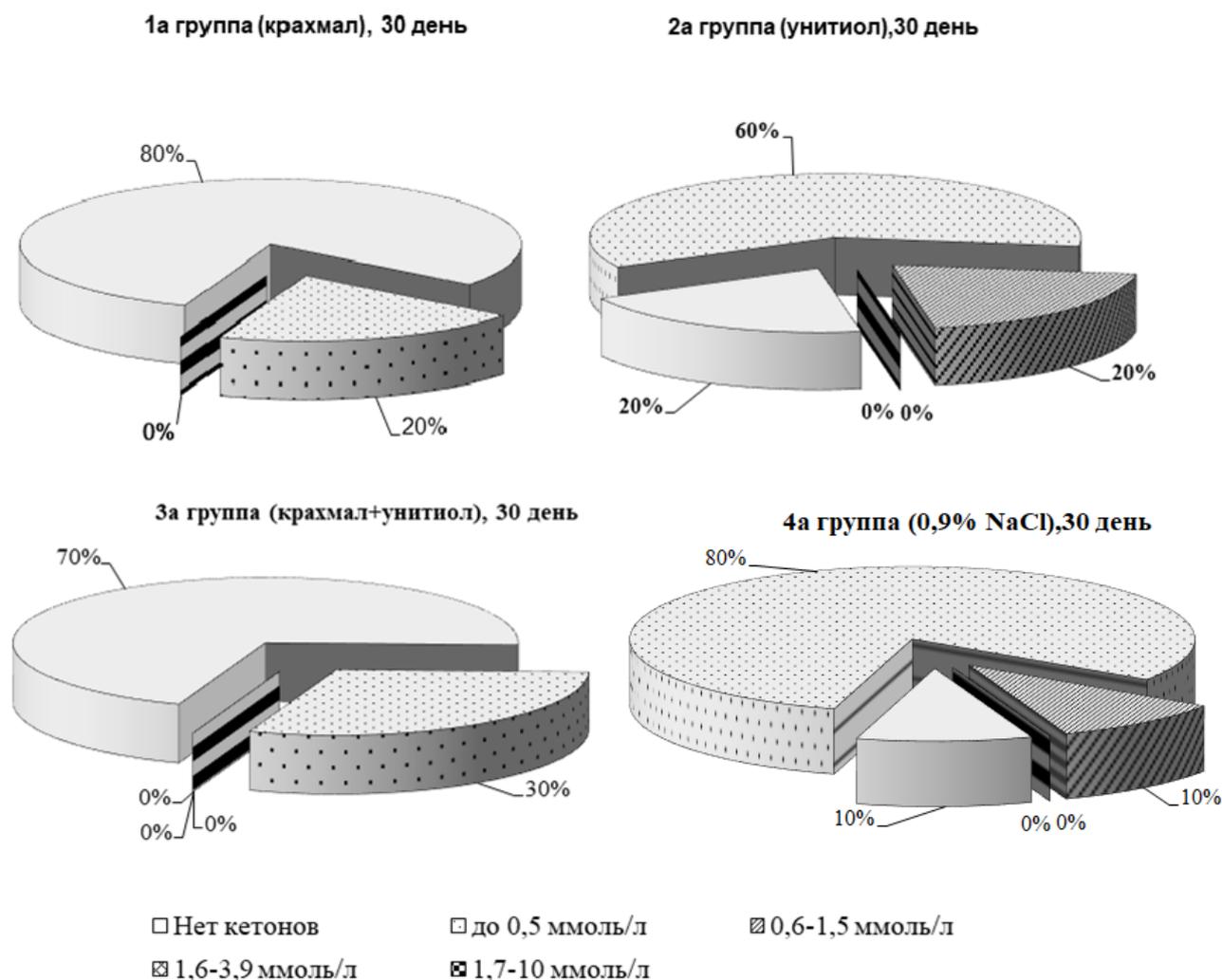
\* – статистически значимые различия, по сравнению с показателями предыдущего контрольного периода,  $p < 0,001$

**Рис. 5.** Динамика потребления 10% раствора этанола в условиях свободного выбора подопытными крысами с различными видами метаболической коррекции

Метаболическая коррекция унитиолом (2а группа) не оказала существенного влияния на восстановление потребления глюкозы и степень влечения к этанолу, не способствовала уменьшению гипогликемии. Как оказалось, снижению кетонурии в большей мере способствовало не введение унитиола, а устранение гипогликемии у животных 1а и 3а групп (рис. 6).

В группе сравнения (4а), получавшей после алкоголизации в течение 30 дней 0,9% раствор натрия хлорида, сохранялся высокий уровень потребления алкоголя (рис. 5), стабильно низкий уровень гликемии ( $3,5 \pm 0,3$  ммоль/л),  $p > 0,001$ , выраженный уровень кетонурии (рис. 6).

Поскольку гедония обусловлена исключительно активностью нервных центров головного мозга, то по окончании тридцатидневной метаболической коррекции, крысам в остром эксперименте исследовали способность усваивать глюкозу в тканях мозга в частности, а для сравнения – и в организме в целом. Для этого определялась артериовенозная разница по глюкозе в артериальной крови, притекающей к мозгу, и в венозной крови, которая оттекает от мозга; а также в венозной крови, оттекающей от задних конечностей.



**Рис. 6.** Распределение животных с различным уровнем кетонурии в экспериментальных группах 1а-4а на 30-й день метаболической коррекции

У здоровых животных контрольной группы содержание глюкозы натощак в артериальной крови колебалось в пределах от 6,5 до 8,3 ммоль/л, составляя в среднем  $7,5 \pm 0,6$  ммоль/л. В венозной крови уровень глюкозы был ниже: в *confluens sinuum*  $6,8 \pm 0,6$  ммоль/л, а в *v. femoralis*  $7,0 \pm 0,6$  ммоль/л,  $p < 0,001$ . Таким образом, артериовенозная разница по глюкозе для мозга в среднем составляла  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л и статистически значимо ( $p < 0,001$ ) отличалась от артериовенозной разницы для всего организма в целом –  $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л (табл. 3).

В нашем эксперименте для каждого отдельно взятого животного разница в утилизации глюкозы мозгом и организмом в целом составляла от 0,1 до 0,3 ммоль/л, выборки этих показателей имеют статистически значимые отличия. Из этого можно сделать вывод, что мозг потребляет глюкозу активнее, чем другие ткани.

Таблица 3

**Влияние 30-дневного усиленного питания крахмалом на усвоение глюкозы мозгом и организмом в целом у здоровых и алкогользависимых крыс**

Группа	Подгруппа	Условия взятия крови	Концентрация глюкозы в крови разных сосудов, ммоль/л			АВР по глюкозе, ммоль/л	
			<i>Arteria carotis communis</i>	<i>Confluens sinuum</i>	<i>Vena femoralis</i>	Мозга	Общая
Здоровые, без алкоголизации	6к группа, n = 10: 3-дневное введение 0,9 % NaCl	Натошак	7,5±0,6	6,8±0,6	7,0±0,6	0,7±0,1	0,5±0,1
		Глюкозная нагрузка	9,1±0,8 <sup>#</sup>	8,3±0,8 <sup>#</sup>	8,2±0,8 <sup>#</sup>	0,8±0,1 <sup>#</sup>	0,9±0,1 <sup>#</sup>
	1-к группа, n = 10: 30-дневное усиленное питание	Натошак	7,6±0,3	6,9±0,5	7,1±0,4	0,7±0,2	0,7±0,3*
		Глюкозная нагрузка	9,8±0,4 <sup>#</sup>	9,0±0,6 <sup>#</sup>	8,9±0,3 <sup>#</sup>	0,8±0,1 <sup>#</sup>	0,9±0,3 <sup>#</sup>
Предварительно алкогольизированные	6а группа, n = 10: 3-дневное введение 0,9 % NaCl	Натошак	3,4±0,3*	3,2±0,3*	3,0±0,4*	0,2±0,1*	0,4±0,1*
		Глюкозная нагрузка	5,0±0,4* <sup>#</sup>	4,8±0,4* <sup>#</sup>	4,3±0,3* <sup>#</sup>	0,2±0,1*	0,7±0,1* <sup>#</sup>
	1а группа, n = 10: 30-дневное усиленное питание	Натошак	6,4±0,6* <sup>!</sup>	5,8±0,6* <sup>!</sup>	5,8±0,5* <sup>!</sup>	0,6±0,2* <sup>!</sup>	0,5±0,1 <sup>!</sup>
		Глюкозная нагрузка	8,4±0,4* <sup>#!</sup>	7,7±0,5* <sup>#!</sup>	7,5±0,3* <sup>#!</sup>	0,7±0,3* <sup>#!</sup>	0,9±0,2* <sup>#!</sup>
	4а группа, n = 10: 30-дневное введение 0,9 % NaCl	Натошак	4,8±0,5* <sup>!</sup>	4,6±0,4* <sup>!</sup>	4,4±0,4* <sup>!</sup>	0,2±0,1*	0,4±0,2*
		Глюкозная нагрузка	6,8±0,6* <sup>#!</sup>	6,6±0,3* <sup>#!</sup>	6,1±0,5* <sup>#!</sup>	0,2±0,2*	0,7±0,1* <sup>#!</sup>

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы здоровых крыс (6к); <sup>#</sup> – статистически значимые различия показателей до и после глюкозной нагрузки внутри одной группы, p<0,001; <sup>!</sup> – статистически значимые различия, по сравнению с показателями алкогольизированных животных без метаболической коррекции (6а группа), p<0,001.

Введение глюкозы приводило к повышению концентрации глюкозы в артериальной крови до 9,1±0,8 ммоль/л. Соответственно, и в венозной крови также наблюдалось повышение: в *confluens sinuum* до 8,3±0,8 ммоль/л, а в *v.femoralis* до 8,2±0,8 ммоль/л. Таким образом, после глюкозной нагрузки у здоровых животных контрольной группы артериовенозная разница для мозга статистически значимо (p<0,001) возросла, в среднем на 0,1 ммоль/л, по сравнению с пробами натошак, и составила 0,8±0,1 ммоль/л (табл. 3).

Усвоение глюкозы тканями здорового организма в целом, в условиях кратковременной глюкозной нагрузки, осуществлялось в большей степени, чем тканями мозга: артериовенозная разница возросла (p<0,001), по сравнению с пробами натошак, с 0,5±0,1 ммоль/л до 0,9±0,1 ммоль/л, т.е. в среднем

показатели увеличились на 0,4 ммоль/л. Иными словами, теперь мозг потреблял глюкозу даже в меньшей мере, чем организм в целом.

Длительное, в течение 30 дней, усиленное питание густым киселем из крахмала у крыс 1к группы не привело к статистически значимому изменению гликемии натошак и артериовенозной разницы по глюкозе для мозга.

У предварительно алкоголизованных животных 6а группы натошак наблюдалась стабильная гипогликемия: в *a. carotis communis* –  $3,4 \pm 0,3$  ммоль/л; в *confluens sinuum* –  $3,2 \pm 0,3$  ммоль/л; в *v. femoralis* –  $3,0 \pm 0,4$  ммоль/л. Также зафиксировано снижение артериовенозной разницы по глюкозе, по сравнению со значениями у крыс контрольной группы (6к): для мозга – до  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ), и для всего организма в целом – до  $0,4 \pm 0,1$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ) (табл. 3). Отсюда видно, что алкоголизованный мозг потребляет глюкозы не просто меньше, чем здоровый мозг, но даже меньше, чем другие ткани. Это указывает на то, что в мозге под влиянием алкогольной гипогликемии происходят глубокие и кардинальные перестройки метаболизма.

Для определения способности алкоголизованного мозга утилизировать глюкозу была выполнена кратковременная внутривенная нагрузки глюкозой. Это приводило к повышению уровня гликемии, по сравнению с пробами натошак и повышению артериовенозной разницы для всего организма в целом до  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p < 0,001$ . Неожиданностью стал тот факт, что артериовенозная разница для мозга оставалась стабильной на уровне  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p > 0,001$  (табл. 3). Поскольку кратковременное восстановление нормогликемии не привело к нормализации усвоения глюкозы мозгом, это позволяет думать, что при алкоголизме причина снижения утилизации глюкозы мозгом – не гипогликемия, а неспособность самого мозга усваивать этот субстрат. Наиболее вероятной причиной может быть снижение активности ферментов гликолиза.

У крыс 1а группы имели место восстановление нормогликемии, увеличение артериовенозной разницы для мозга на 0,4 ммоль/л ( $p < 0,001$ ), достигнув  $0,6 \pm 0,2$  ммоль/л. И хотя эта величина меньше, чем у здоровых крыс ( $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л),  $p < 0,001$ , но все-таки больше, чем у алкоголизованных без коррекции ( $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л),  $p < 0,001$ . Артериовенозная разница для целого организма выросла, по сравнению с алкоголизованными без коррекции, на 0,1 ммоль/л ( $p < 0,001$ ) и даже достигла значений таковой у здоровых крыс –  $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p > 0,001$ .

Можно предположить, что в алкоголизованном организме снижение способности мозга утилизировать глюкозу происходит по причине перестройки внутриклеточного метаболизма. Это подтверждается результатами гистоэнзимологического исследования головного мозга, которые демонстрируют снижение активности ферментов гликолиза и цикла Кребса, особенно в области прилежащего ядра (табл 4).

У алкоголизованных животных до метаболической коррекции отмечалось статистически значимое снижение активности ЛДГ, Г-6-ФДГ и СДГ в тканях мозга отделов, играющих ключевую роль в формировании алкогольной зависимости. Это свидетельствует о выраженных нарушениях

углеводного метаболизма, энергетического обмена, снижении активности антиоксидантной системы и нарушении ГАМК-шунта, что приводит к нейромедиаторным нарушениям.

Таблица 4

**Активность ферментов промежуточного обмена глюкозы в различных отделах головного мозга длительно алкоголизированных животных до и после метаболической коррекции (усл.ед. оптической плотности), М±m**

Группы	Префронтальная кора		Центральное ядро миндалевидного тела		Медиальный отдел прилежащего ядра	
	До	После	До	После	До	После
<b>Лактатдегидрогеназа</b>						
бк	33,14±2,15		31,06±1,27		30,97±2,03	
1а	20,46±0,82 <sup>#</sup>	28,89±0,67 <sup>#*</sup>	19,88±0,96 <sup>#</sup>	27,63±2,17 <sup>*</sup>	18,52±1,58 <sup>#</sup>	31,73±2,8 <sup>*</sup>
2а	22,15±0,58 <sup>#</sup>	13,48±1,03 <sup>#*</sup>	19,09±1,04 <sup>#</sup>	12,81±0,99 <sup>#*</sup>	16,30±0,68 <sup>#</sup>	9,54±0,91 <sup>#*</sup>
3а	20,03±0,82 <sup>#</sup>	29,24±1,53 <sup>*</sup>	16,54±0,87 <sup>#</sup>	29,20±2,73 <sup>*</sup>	17,71±0,94 <sup>#</sup>	29,30±1,6 <sup>*</sup>
4а	21,72±1,44 <sup>#</sup>	15,66±1,95 <sup>#*</sup>	18,36±1,15 <sup>#</sup>	13,17±1,67 <sup>#*</sup>	15,12±1,05 <sup>#</sup>	10,88±1,4 <sup>#*</sup>
<b>Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа</b>						
бк	21,91±1,11		23,81±0,79		25,10±1,01	
1а	18,33±1,82 <sup>#</sup>	15,76±1,12 <sup>#</sup>	20,54±1,20 <sup>#</sup>	17,80±1,07 <sup>#</sup>	20,46±5,12 <sup>#</sup>	15,11±3,6 <sup>#</sup>
2а	17,72±2,55 <sup>#</sup>	38,13±3,07 <sup>#*</sup>	20,08±2,48 <sup>#</sup>	38,97±2,73 <sup>#*</sup>	20,38±3,44 <sup>#</sup>	47,04±3,1 <sup>#*</sup>
3а	17,04±1,81 <sup>#</sup>	18,44±2,28 <sup>#</sup>	19,11±2,34 <sup>#</sup>	21,93±3,09 <sup>#*</sup>	21,02±2,81 <sup>#</sup>	22,52±2,77 <sup>#*</sup>
4а	17,01±1,06 <sup>#</sup>	25,64±1,71 <sup>#*</sup>	20,14±1,06 <sup>#</sup>	28,22±0,83 <sup>#*</sup>	20,15±0,91 <sup>#</sup>	36,71±1,05 <sup>#*</sup>
<b>Сукцинатдегидрогеназа</b>						
бк	81,91±1,11		73,81±0,79		75,10±1,01	
1а	70,33±1,82 <sup>#</sup>	78,76±1,12 <sup>#*</sup>	73,54±1,20	70,80±1,07 <sup>*</sup>	62,46±5,12 <sup>#</sup>	75,11±3,62 <sup>*</sup>
2а	72,72±2,55 <sup>#</sup>	75,13±3,07 <sup>#*</sup>	67,08±2,48 <sup>#</sup>	69,97±2,73 <sup>*</sup>	62,38±2,44 <sup>#</sup>	70,04±3,19 <sup>#*</sup>
3а	71,04±1,81 <sup>#</sup>	75,44±2,28 <sup>#*</sup>	69,11±2,34	71,93±3,09 <sup>*</sup>	65,32±2,81 <sup>#</sup>	76,52±2,77 <sup>*</sup>
4а	72,01±1,06 <sup>#</sup>	71,64±1,71 <sup>#</sup>	66,14±1,06 <sup>#</sup>	67,22±0,83 <sup>#</sup>	60,83±0,91 <sup>#</sup>	62,71±1,05 <sup>#</sup>

Примечание: <sup>#</sup> - статистически значимые различия, по сравнению с аналогичными показателями здоровых крыс (бк группы), p<0,05; \* - статистически значимые различия, по сравнению с показателями до коррекции, p<0,05.

В отсутствие метаболической коррекции (4а группа) отмечен прирост активности Г-6-ФДГ от 17,1±0,7% до 46,2±1,3% выше контрольных значений (p<0,05) в бк группе, что может косвенно свидетельствовать о напряжении процессов детоксикации в условиях оксидативного стресса. Поскольку единственной универсальной системой детоксикации радикалов жирных кислот, перекиси водорода и дикарбониллов является система глутатиона, нуждающегося в редукции за счет НАДФН<sub>2</sub>, нарабатываемого Г-6-ФДГ. При этом сохранялись выраженные нарушения углеводного и энергетического обмена – активность ЛДГ и СДГ оставались на стабильно низком уровне.

Длительное принудительное питание раствором крахмала (1а группа) привело к восстановлению активности ЛДГ и СДГ до контрольных значений здоровых животных (бк группа), что говорит о возможной обратимости нарушений углеводного и энергетического обмена, нормализации нейротрансмиссии ГАМК-эргической системы. Однако это не сопровождается компенсацией свободнорадикального окисления – активность Г-6-ФДГ

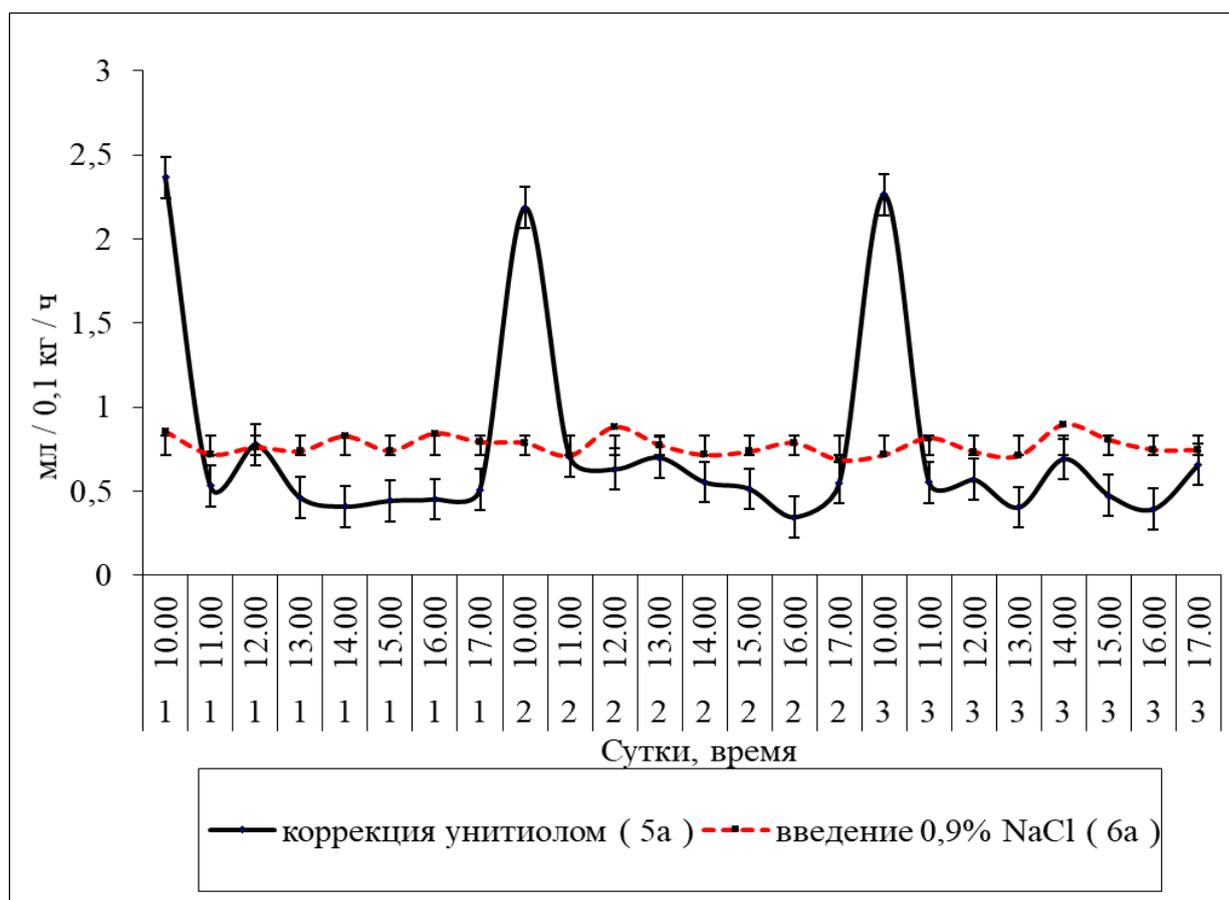
оставалась ниже в среднем на  $25,1 \pm 0,7\%$ , по сравнению с показателями до коррекции ( $p < 0,05$ ). Возможно, это могло быть связано с гликированием белков в условиях длительного питания крахмалом.

При 30-дневной коррекции раствором унитиола (2а группа) без коррекции гипогликемии сохранялись нарушения углеводного и энергетического обмена, активность ЛДГ ( $p > 0,05$ ) и СДГ ( $p > 0,05$ ) в различных отделах головного мозга статистически значимо не отличалась от показателей до коррекции. Однако была отмечена максимально выраженная положительная динамика в восстановлении активности Г-6-ФДГ ( $p < 0,05$ ). Во всех изучаемых отделах мозга она даже превысила цифры своей активности в контрольной группе в 1,9 - 2,3 раза. Выявленная динамика активности ферментов могла отражать повышение потребности тканей мозга в НАДФН<sub>2</sub>, обусловленной усилением прооксидантных процессов в патогенезе алкогольной интоксикации, а также подтверждает протекторный эффект унитиола в качестве донора сульфгидрильных групп. Этот факт позволяет рекомендовать включение данного вещества в схемы патогенетической метаболической коррекции в группе 3а с сочетанным использованием растворов крахмала и унитиола.

Исходя из полученных результатов, нарушения углеводного и энергетического обмена носят обратимый характер, что подтверждается восстановлением способности мозга утилизировать глюкозу как по результатам положительной динамики артериовенозной разницы по глюкозе, в условиях долговременной углеводной нагрузки, так и по результатам изучения активности ферментов в зонах мозга, отвечающих за формирование всех видов зависимостей.

С целью изучения взаимосвязи выраженности кетоза и степени влечения к этанолу, был выполнен трехдневный эксперимент (рис. 7). Искусственное подавление кетонемии уже через 16 ч приводило к максимальному снижению выраженности кетоза к 9.00, а также к увеличению потребления алкоголя в 2,4 раза. Так, крысы 5а группы с 9.00 до 10.00 выпивали  $2,2 \pm 0,2$  мл/0,1 кг/ч (из  $6,1 \pm 0,3$  мл/0,1 кг суточного потребления), а группа сравнения (6а) за этот же час – всего  $0,8 \pm 0,1$  мл/0,1 кг/ч. При этом обильное потребление алкоголя крысами 5а группы с 9.00 до 10.00 не могло быть спровоцировано накопленной жаждой, поскольку всю ночь в клетках находилась чистая питьевая вода. В последующие 7 часов количество потребляемого алкоголя оставалось одинаковым, на уровне  $0,7 \pm 0,1$  мл/0,1 кг/ч ( $p > 0,05$ ).

У животных, получавших вместо унитиола 0,9% NaCl, в течение дня уровень кетонурии был постоянным, и потребление алкоголя было равномерным ( $p > 0,05$ ) на уровне 0,8 мл/0,1 кг/ч. У животных 5а группы потребление большого количества алкоголя (с 9.00 до 10.00) приводило уже через один-два часа к росту уровня кетонурии и снижению уровня гликемии. Наблюдая такую динамику, можно предположить наличие причинно-следственных связей между двумя процессами: уровнем алкогольного кетоза и степенью влечения к этанолу.



**Рис. 7.** Почасовая динамика потребления алкоголя крысами 5а и 6а групп в трехдневном эксперименте

Таким образом, алкогольная зависимость – это острая потребность на фоне хронической гипогликемии в единственном альтернативном энергосубстрате – кетонных телах, формируемых гепатоцитами из метаболитов этанола. Длительная гипогликемия, окислительный и дикарбонильный стресс, формирующиеся при хроническом алкоголизме, приводят к нарушениям углеводного и энергетического обмена в тканях головного мозга, наиболее выраженным в префронтальной коре, миндалевидном теле и прилежащем ядре. В условиях энергетического голодания мозга происходит перестройка внутриклеточного метаболизма нервной ткани – переход с потребления глюкозы на альтернативный энергетический субстрат – кетонные тела (рис. 8).

Ввиду снижения способности утилизировать глюкозу, мозг становится зависимым от кетонных тел, как от энергетического субстрата, поэтому в случае прекращения потребления этанола возникает энергетическое голодание вследствие снижения уровня кетоза, что приводит к формированию биологической мотивации восполнить экзогенный пул кетонных тел (этанол), а не глюкозы. Питание кетонными телами становится витальной потребностью.



**Рис. 8.** Схема патогенетических механизмов формирования стойкого влечения к этанолу при длительной алкоголизации.

Схемы купирования абстинентного синдрома могут включать усиленную нейтрализацию кетонových тел (K. Sibai, 2016). Учитывая вышеизложенное, вытекает нецелесообразность подавления кетоза без коррекции углеводного обмена при патологических состояниях, сопровождающих хронический алкоголизм. С учетом полученных в ходе данного исследования данных, коррекция выраженности кетоза (унитиолом) может провоцировать энергетическое голодание головного мозга и усиливать влечение к этанолу. А введение в схему лечения патогенетически обусловленной длительной метаболической коррекцией гликемии позволит нормализовать углеводный и энергетический обмен тканей головного мозга, восстановить нейромедиаторный обмен и уменьшить степень влечения к этанолу в долгосрочном периоде.

## ВЫВОДЫ

В диссертационной работе на основании полученных в эксперименте результатов физиологических, патофизиологических, биохимических, гистоэнзимологических и математических методов исследования автором решена актуальная научная задача патологической физиологии – уточнена патогенетическая роль и продемонстрированы возможности метаболической коррекции нарушений промежуточного обмена углеводов головного мозга при формировании стойкого влечения к алкоголю.

1. У алкоголизированных животных установили снижение гедонических

свойств глюкозы, что проявлялось уменьшением ее суточного потребления в условиях свободного выбора в 5,6 раза (с  $1,5 \pm 0,6$  мл/0,1 кг/сут до  $0,27 \pm 0,2$  мл/0,1 кг/сут) и уменьшение артериовенозной разницы для мозга по глюкозе в 3,5 раза (с  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л до  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ), что сохранялось в условиях наргузочных проб. Уменьшалась утилизация глюкозы тканями головного мозга в 2 раза ( $p < 0,001$ ) по сравнению с организмом в целом (в контроле – в 1,4 раза выше), активность ферментов ЛДГ, Г-6-ФДГ и СДГ. В условиях кратковременной углеводной нагрузки способность тканей алкоголизированного мозга поглощать глюкозу по показателям АВР снижается в большей степени (на  $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л), чем организмом в целом (на  $0,1 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ).

2. При сформированном алкоголизме отмена алкоголя и коррекция унитиолом уже через 16 часов приводит к снижению содержания кетоновых тел в моче до до  $0,5$  ммоль/л и демонстрирует формирование порочного круга - чем ниже падает уровень кетоновых тел в крови, тем больше крысы потребляют алкоголя ( $2,4 \pm 0,6$  мл/0,1 кг/ч,  $p < 0,05$ ) при предоставлении доступа к нему; чем больше потребление алкоголя, тем больше выраженность кетонурии. Сохранение высокого уровня кетоновых тел в последующие 6 часов сопровождалось снижением уровня добровольно потребленного алкоголя до  $0,5 \pm 0,1$  мл/0,1 кг/ч ( $p < 0,05$ ), что свидетельствует о существовании причинно-следственной обратно пропорциональной связи между уровнем кетоза и влечением к алкоголю.
3. Метаболическая коррекция унитиолом у алкоголизированных животных не снижает, а провоцирует еще большее влечение к этанолу: потребление алкоголя выросло до  $5,1 \pm 0,3$  мл/0,1 кг/сут, по сравнению с крысами без коррекции (до  $4,5 \pm 0,4$  мл/0,1 кг/сут),  $p < 0,001$ . При этом уровень гликемии оставая стабильно низким ( $4,0 \pm 0,3$  ммоль/л),  $p > 0,05$ . Длительное усиленное кормление раствором крахмала алкогользависимых крыс способствовало увеличению гедонических свойств глюкозы в 2,6 раза – суточное потребление 5% глюкозы возросло с  $0,27 \pm 0,03$  мл/0,1 кг/сут до  $0,7 \pm 0,1$  мл/0,1 кг/сут ( $p < 0,001$ ) и достигало контрольных значений, сопровождалось нормализацией гликемии (с  $3,0 \pm 0,1$  ммоль л до  $7,1 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ), уменьшало влечение к алкоголю (потребление снизилось с  $6,4 \pm 0,1$  мл/0,1 кг/сут до  $2,7 \pm 0,3$  мл/0,1 кг/сут,  $p < 0,001$ ). При этом имеющая место у 63,3% крыс выраженная кетонурия после коррекции исчезала у 80% крыс.
4. Длительная патогенетическая коррекция гликемии путем введения крахмала *per os* приводит к увеличению в 3 раза ( $p < 0,001$ ) артериовенозной разницы по глюкозе для головного мозга (с  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л до  $0,6 \pm 0,2$  ммоль/л), что носит более выраженный характер, чем для организма в целом (с  $0,4 \pm 0,1$  ммоль/л до  $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л), а также к повышению активности ЛДГ и СДГ, свидетельствующему об обратимом характере нарушений углеводного и энергетического обмена в головном мозге при длительной алкоголизации.
5. Схема патогенеза формирования стойкого влечения к этанолу

усовершенствована за счет выявленных особенностей перестройки углеводного и энергетического обмена в префронтальной коре, миндалевидном теле и прилежащем ядре головного мозга, зависимости мозга от кетонных тел, как от энергетического субстрата, что приводит к возникновению биологической мотивации к потреблению этанола, как источника экзогенных кетонов.

## **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ**

### Статьи в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК:

1. Бортникова А.К., Панова Т.И., Казаков В.Н. Влияние уровня гликемии на потребление этанола и глюкозы алкогользависимыми крысами // Университетская клиника. – 2013. – Т. 9, № 2. – С. 169-173.
2. Бортникова Г.К. Потяг до этанолу у алкоголізованих щурів залежить від рівня глікемії та вираженості кетову // Нейронауки: теоретичні та клінічні аспекти. – 2013. – Т. 9, № 1-2. – С. 49-53.
3. Бортникова А.К., Казаков В.Н., Панова Т.И. Снижение способности мозга алкогользависимых крыс утилизировать глюкозу // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2013. – Т. 22, № 2. – С. 161-164.
5. Бортникова А.К., Панова Т.И. Влечение к этанолу у алкоголизованных крыс и уровень гликемии, выраженность кетоза // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2014. – № 1 (9). – С. 52-61.
6. Bortnikova A.K., Panova T.I. Peculiarities of Utilization of Glucose by Brain Tissues of Alcohol-Dependent Rats // Neurophysiology. – 2014. – V. 46, Issue 3. – P. 206-211.
7. Бортникова А.К., Панова Т.И.. Особенности утилизации глюкозы тканями мозга алкогользависимых крыс // Neurophysiology/ Нейрофизиология. – 2014. – Т. 46, № 3. – С. 229-235.
8. Бортникова А.К., Панова Т.И. Влияние коррекции гликемии на восстановление утилизации глюкозы тканями мозга у алкогользависимых крыс // Университетская клиника. – 2014. – Т. 10, № 1. – С. 9-15.
9. Бортникова А.К., Панова Т.И. Суточный мониторинг содержания кетонных тел у алкогользависимых крыс // Архив клінічної та експериментальної медицини. – 2014. – Т. 23, № 2. – С. 138-143.
10. Панова Т.И., Бортникова А.К. Связь кетонурии и влечения к алкоголю у алкогользависимых крыс, по итогам суточного мониторинга // Neurophysiology/ Нейрофизиология. – 2015. – Т. 47, №. – С.42-49.
11. Бортникова А.К. Влияние коррекции уровня кетонемии и гликемии на влечение к этанолу у крыс со сформированной алкогольной зависимостью // Архив клинической и экспериментальной медицины. - 2016. – Т.25, №1. – С. 35 - 39.
12. Панова Т.И., Бортникова А.К. Уровень кетонемии как фактор, определяющий аддиктивное поведение алкоголизованных крыс // Neurophysiology / Нейрофизиология.– 2016.– Т. 48, №4.– С. 279-285.
13. Panova T.I., Bortnikova A.K. Ketosis Level as a Factor Determining Addictive

Behavior of Alcoholized Rats. // Neurophysiology.– 2016.– 48(4).– P. 252-258.

14. Бортникова А.К. Оценка влияния длительной экспериментальной алкоголизации на формирование влечения к этанолу, уровень гликемии и гедонии у крыс // Архив клинической и экспериментальной медицины. - 2018. – Т.27, №3. – С.56-61.  
*Материалы конференций, конгрессов, форумов:*
15. Панова Т.И., Бортникова А.К. Роль кетоза в сохранении влечения к этанолу у алкогользависимых крыс. – Фундаментальные науки – медицине. Материалы Международной научной конференции. Минск, Ч. 2. – Минск: Беларуская навука, 2013. – С. 114-119.
16. Бортникова А.К. Зависимость предпочтения глюкозы от степени алкоголизма у крыс // 87-я Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых учёных, посвящённая 155-летию со дня рождения Л.О. Даршкевича. Сборник тезисов. – Казань, 2013. – 348 с.
17. Panova T.I., Bortnikova A.K., Goncharenko O.N. Stability of ketonuria at alcoholreliant rats // В кн.: Досвід, реалії і перспективи розвитку систем охорони здоров'я. – Львів: Видавництво ЛЮБФ «Медицина і право», 2013. – С. 518-519.
18. Bortnikova A.K., Panova T.I., Goncharenko O.N. Ketosis at alcoholreliant rats // 7-th Lviv-Lublin conference of Experimental and Clinical Biochemistry. Abstract book.– Lviv, 2013. P. 141.
19. Бортникова А.К., Панова Т.И., Казаков В.Н. Влияние глюкозы на потребление этанола у алкогользависимых крыс // XXII съезд физиологического общества им. И.П. Павлова. Тезисы докладов. – Москва-Волгоград: Издательство ВолгГМУ, 2013.– С. 74
20. Казаков В.Н., Ивнев Б.Б., А.К. Бортникова, Гайдарова Е.В., Андреева В.Ф., Коноплянко В.А., Снегирь А.Г., Шевченко Т.А., Гончаренко О.Н., Филюшина Е.. Возможность восстановления утилизации глюкозы мозгом алкогользависимых крыс // Фізіологічний журнал.– 2014.– Т. 60, №3, Додаток «Матеріали ХІХ з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка». – С. 47-48.
21. Панова Т.И., Бортникова А.К., Казаков В.Н., Ивнев Б.Б., Прокофьева Н.В., Андреева В.Ф., Коноплянко В.А., Снегирь А.Г., Шевченко Т.А., Гончаренко О., Филюшина Е. Компенсаторные возможности мозга алкогользависимых крыс утилизировать глюкозу // Матеріали VI Конгресу Українського товариства нейронаук, присвяченого 90-й річниці з дня народження академіка П. Г. Костюка (Київ, 4 – 8 червня 2014 р). – Київ, 2014. – С. 96.
22. Ильина А.С., Косенко М.А., Бортникова А.К. Критерии формирования устойчивой алкогольной зависимости у крыс в ходе принудительной алкоголизации // Материалы 78-го международного Медицинского конгресса молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины» – Донецк, 2016. – С. 73-74.

23. Аджамян В.С., Бортникова А.К. Нейрофизиологические основы патологических влечений // Материалы 78-го международного Медицинского конгресса молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины» – Донецк, 2016. – С. 71-72.
24. Кривошеенко Т.А., Бортникова А.К., Филюшина Е.В. Влияние алкоголизации организма на активность опиоидных рецепторов // Материалы 79-го Медицинского Конгресса молодых ученых «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины». – Донецк, 2017. – С.107.
25. Абрамова Ю.Г., Бортникова А.К.. Особенности функционирования опиатной системы мозга // Материалы 80-го Медицинского Конгресса «Актуальные проблемы теоретической и клинической медицины». – Донецк, 2018. – С.161.

### АННОТАЦИЯ

**Бортникова Анна Константиновна. Патофизиологические механизмы нарушений промежуточного углеводного обмена головного мозга при формировании стойкого влечения к этанолу (экспериментальное исследование). – Рукопись.**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.03 – патологическая физиология. – Государственная образовательная организация высшего профессионального образования «Донецкий национальный медицинский университет имени М. Горького» Министерства здравоохранения Донецкой Народной Республики, Донецк, 2021.

В диссертационной работе автором решена актуальная научная задача патологической физиологии - уточнены патогенетические механизмы формирования устойчивого влечения к этанолу при длительной алкоголизации, в основе которых лежат обратимые нарушения промежуточного обмена углеводов головного мозга, продемонстрированы возможности их метаболической коррекции. Путем принудительной алкоголизации у 60 подопытных крыс моделировали алкогольную зависимость. По окончании этого этапа животные в условиях свободного выбора питья употребляли 10% раствора этанола  $6,37 \pm 0,14$  мл/0,1 кг веса в сутки ( $p < 0,001$ ), что сопровождалось гипогликемией ( $3,00 \pm 0,13$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ) и выраженной кетонурией -  $63,3 \pm 0,7\%$  животных имели до  $3,9$  ммоль/л кетоновых тел в моче. Рост влечения к этанолу коррелировал со снижением употребления 5% раствора глюкозы в условиях свободного выбора ( $r = - 0,86$ ,  $p < 0,001$ ), сопровождался уменьшением показателей артериовенозной разницы (АВР) для головного мозга по глюкозе натошак с  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л до  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ). Стабильно низкая АВР сохранялась и в условиях кратковременной нагрузки глюкозой, что свидетельствует о сохранении низкой способности тканей мозга усваивать глюкозу и подтверждается снижением активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФД) и сукцинатдегидрогеназы (СДГ),  $p < 0,001$  в префронтальной коре < центральном ядре миндалевидного тела < медиальном отделе прилежащего ядра. В ходе 30-

дневной метаболической коррекции гипогликемии путем принудительного кормления раствором крахмала происходило восстановление уровня глюкозы крови до контрольных значений, снижалась выраженность кетонурии, повышалась способность мозга усваивать глюкозу по показателям АВР натошак и после кратковременной глюкозной нагрузки до  $0,6 \pm 0,2$  ммоль/л и  $0,7 \pm 0,3$  ммоль/л соответственно ( $p < 0,001$ ). Это сопровождалось и восстановлением активности ферментов ЛДГ и СДГ до контрольных значений в медиальном отделе прилежащего ядра, восстановлением гедонических свойств глюкозы и снижением в 2,4 раза влечения к этанолу (потребление в условиях свободного выбора составило  $2,7 \pm 0,3$  мл/0,1 кг веса в сутки,  $p < 0,001$ ). Длительная метаболическая коррекция унитиолом приводила к повышению активности Г-6-ФД выше контрольных показателей ( $p < 0,001$ ), что может свидетельствовать о подавлении проявлений свободнорадикального окисления, однако, сопровождалась сохранением влечения к этанолу и низким уровнем употребления 5% раствора глюкозы. В трехдневном эксперименте введение унитиола уже через 16 ч приводило к максимальному снижению кетонурии, инициировало увеличение потребления алкоголя в 2,4 раза в условиях свободного выбора ( $p < 0,001$ ). Выявленные изменения утилизации глюкозы и дисбаланс путей метаболизма углеводов в головном мозге у алкоголизированных животных являются дополнительными патогенетическими механизмами формирования стойкого влечения к алкоголю, проявляются нарушением гедонических свойств глюкозы и носят обратимый характер.

**Ключевые слова:** алкогольная зависимость, патогенетические механизмы, промежуточный углеводный обмен, гликемия, кетонурия.

### ABSTRACT

**Bortnikova Anna Konstantinovna. Pathophysiologic mechanisms of cerebral intermediate carbohydrate metabolism impairment in the formation of sustained ethanol dependence (an experimental study). – Manuscript.**

Dissertation for the Candidate of Medical Sciences degree in the speciality 14.03.03 – pathological physiology. – State Educational Organisation of Higher Professional Education “M. Gorky Donetsk National Medical University” of the Public Health Ministry of Donetsk People's Republic, Donetsk, 2021.

In the dissertation work, its author has resolved an urgent scientific problem of pathological physiology by specifying the pathogenetic mechanisms forming sustained ethanol dependence in prolonged alcoholisation as well as by demonstrating the opportunities for the metabolic correction of these mechanisms based on reversible cerebral intermediate carbohydrate metabolism impairment.

Alcohol dependence was modelled in 60 test rats by forced alcoholisation. At the end of this stage, the animals consumed  $6.37 \pm 0.14$  ml of 10% ethanol solution per 0.1 kg of body weight per day ( $p < 0.001$ ) under free drinking choice. That was accompanied by hypoglycaemia ( $3.00 \pm 0.13$  mmol/l,  $p < 0.001$ ) and intense ketonuria, as  $63.3 \pm 0.7\%$  of animals had up to 3.9 mmol/l of ketone bodies in the urine. Ethanol dependence increase correlated with 5% glucose solution intake decrease under free choice conditions ( $r = - 0.86$ ,  $p < 0.001$ ) combined with fasting cerebral glucose

arteriovenous difference (AVD) reduction from  $0.7 \pm 0.1$  mmol/l to  $0.2 \pm 0.1$  mmol/l ( $p < 0.001$ ). The consistently low AVD remained in place even at a short-term glucose load suggesting low cerebral capacity for glucose assimilation indicated by decreased activity of lactate dehydrogenase (LDH), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PDH), and succinate dehydrogenase (SDH) ( $p < 0.001$ ), in the prefrontal cortex < amygdala central nucleus < medial area of the nucleus accumbens. During a 30-day hypoglycaemia metabolic correction via starch solution forced feeding, the glycaemia level was restored to its reference value, ketonuria was reduced, brain capacity for glucose assimilation (according to AVD parameters) was increasing both in the fasting state and after a short-term glucose load up to  $0.6 \pm 0.2$  mmol/l and  $0.7 \pm 0.3$  mmol/l, respectively ( $p < 0.001$ ). This was accompanied by the restoration of LDH and SDH enzymatic activity up to their reference levels in the medial area of the nucleus accumbens, restitution of glucose hedonic potential, and 2.4 times reduced craving for ethanol (free-choice consumption of  $2.7 \pm 0.3$  ml per 0.1 kg of body weight per day ( $p < 0.001$ )). A long-term metabolic correction with unithiol increased G6PDH activity above the reference value ( $p < 0.001$ ); this can be indicative of free-radical oxidation phenomena suppression; however it was still accompanied by sustained craving for ethanol and low 5% glucose solution intake. In a 3-day experiment, unithiol administration led to the deepest ketonuria decrease in 16 hours, and initiated a 2.4 times increased free-choice alcohol intake ( $p < 0.001$ ). The revealed changes in glucose utilisation and the imbalance of cerebral carbohydrates metabolism pathways in alcoholic animals are additional pathogenetic mechanisms for the sustained ethanol dependence formation; they manifest by impaired hedonic properties of glucose and are reversible.

**Key words:** alcohol dependence, pathogenetic mechanisms, intermediate carbohydrate metabolism, glycaemia, ketonuria.

## СПИСОК УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АВР – артериовенозная разница

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

Г-6-ФДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

СДГ – сукцинатдегидрогеназа

ЦНС – центральная нервная система

NaCl – натрия хлорид