

УДК 615.212.7

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ФЕНТАНИЛОМ

Д.В. Горбунов¹, Л.П. Эрдниев²,
И.А. Нельга², И.В. Медвецкий²,
А.Ю. Микшта², Е.Ю. Андреева²

¹ФГБУН Институт токсикологии Федерального
медико-биологического агентства, 192019,
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

²ФГБУ 33 Центральный научно-
исследовательский испытательский институт
Министерства обороны Российской
Федерации, 412918, г. Вольск-18,
Российская Федерация

Проведены экспериментальные исследования биохимических систем организма на белых беспородных крысах в условиях однократной интоксикации фентанилом. Установлено, что острая внутривенная интоксикация синтетическими наркотическими анальгетиками (фентанилом) приводит к интенсификации процессов перекисного окисления липидов, что свидетельствует о развитии оксидативного стресса. Выявлены своеобразные биохимические изменения острой наркотической интоксикации. Они представлены определенными сочетаниями нарушенных биохимических показателей сыворотки крови.

Ключевые слова: белая крыса, фентанил, биохимические показатели.

Введение. Организм человека и животных располагает рядом сложных биохимических систем (метаболизма ксенобиотиков, антирадикальной защиты, репарации поврежденных биологических молекул и т.д.), во многом определяющих чувствительность к действию ксенобиотиков. Токсическое действие ксенобиотиков осуществляется через рецепторный аппарат клеток и повреждение внутриклеточных структур [1, 2, 3].

Изучение механизмов патогенеза интоксикации наркотическими анальгетиками является актуальной медико-биологической проблемой. Понимание особенностей метаболического синдрома при интоксикации, и особенно в острый период интоксикации, необходимо для разработки эффективных методов детоксикационной терапии.

Известно, что наркотики оказывают влияние на ключевые стадии внутриклеточного метаболизма и, в первую очередь, на процессы энергетического обмена, затрагивающие главным образом аэробное окисление жирных кислот и глюкозы [4-6].

В результате липофильного действия на клеточные структуры изменяются свойства клеточных мембран, их жидкокристаллическая структура, вязкость и прочность [7]. Наиболее уязвимыми к действию наркотиков являются клетки мозга, печени и других паренхиматозных органов [1, 2, 8].

Наряду со специфическим действием наркотиков на клеточные мембраны существует также угроза развития оксидативного стресса, связанного с активацией процессов свободнорадикального окисления [5].

Изучение роли процессов свободнорадикального окисления в механизмах патогенеза острой интоксикации представляет практический интерес для обоснования включения антиоксидантов в комплекс основного лечения при отравлении наркотическими анальгетиками

Цель - изучение различных биохимических показателей сыворотки крови лабораторных животных при острой внутривенной интоксикации фентанилом.

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования проводили в лабораторных условиях при температуре окружающего воздуха от плюс 18 до плюс 24°C, относительной влажности воздуха от 40 до 80%, скорости воздушного потока в вытяжном шкафу не менее 0,8 м/с. В опыте использовали белых нелинейных крыс, обоего пола, массой тела от 150 до 220 г.

Для изучения состояния биохимических систем исследовали кровь экспериментальных животных, после воздействия фентанилом в дозе 5 ED₅₀ при внутривенном введении.

Горбунов Дмитрий Вячеславович (Gorbunov Dmitri Vjacheslavovich), кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФГБУН Институт токсикологии ФМБА России, gorbunoff69@mail.ru

Эрдниев Леонид Петрович (Erdniev Leonid Petrovich), кандидат медицинских наук, начальник отдела ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ

Медвецкий Игорь Викторович (Medveckiy Igor Victorovich), кандидат химических наук, начальник отдела ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ

Нельга Игорь Аликович (Nelga Igor Alikovich), кандидат химических наук, начальник управления ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ

Микшта Александр Юльевич (Mikshita Aleksandr Jul'evich), доктор медицинских наук; ведущий научный сотрудник ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ

Андреева Елена Юрьевна (Andreeva Elena Jur'evna), научный сотрудник, ФГБУ «33 ЦНИИИ» МО РФ, lenochka1551@yandex.ru

Для исследования были сформированы 2 группы животных: 1-я группа животных контрольная и 2-я – опытная.

Внутривенное введение водного раствора фентанила осуществляли крысам в боковую вену хвоста в дозе 5 ED₅₀ соответствующей развитию поверхностной комы со 100% выживаемостью [9]. ED₅₀ фентанила для белых крыс по тесту «горячей пластинки» равна 0,01 мг/кг [10]. Введение проводили в объеме – 0,5 мл/кг. Кровь для анализа отбирали через 1 мин, 60 мин, и 24 часа после введения.

Исследование активности ферментов (аспартатаминотрансфераза (АСТ) (К.Ф. 2.6.1.1.), аланинаминотрансфераза (АЛТ) (К.Ф. 2.6.1.2.), лактатдегидрогеназа (ЛДГ) (К.Ф. 1.1.1.27.), g-глутамилтрансфераза (ГГТ) (К.Ф. 2.3.2.2.), щелочная фосфатаза (ЩФ) (К.Ф.3.1.3.1.), креатинкиназа (КК) (К.Ф. 2.7.3.2.) и концентрации субстратов (глюкоза, мочевины) проводили на автоматическом биохимическом анализаторе «Metrolab-2300». Для исследования использовали стандартные наборы реактивов фирмы DiaSys.

Активность супероксиддисмутазы (СОД (К.Ф. 1.15.1.1.)) определяли по Брюсову, каталазы (К.Ф. 1.11.1.6) по методу Королюк [11], содержание малонового диальдегида анализировали тиобарбитуровым методом [12, 13].

Статистическую обработку результатов экспериментального исследования проводили с использованием программного обеспечения Microsoft Excel и Statistica 6.0. Сравнение полученных

величин производили с помощью двустороннего t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали различия при p≤0,05.

Результаты и обсуждение. Динамика изменений биохимических показателей крови белых крыс после однократного внутривенного введения фентанила в дозе 5 ED₅₀ представлена на рисунке.

Установлено, что в крови белых крыс, подвергшихся воздействию фентанилом в дозе, соответствующей развитию поверхностной комы, происходит активация ПОЛ к исходу 1 минуты после введения, о чем судили по увеличению концентрации конечного продукта ПОЛ – МДА и каталазной активности почти в 4 раза по сравнению с контролем. Через 1 час повышение концентрации МДА и активности каталазы сохранилось. Полученные результаты свидетельствуют о развитии оксидативного стресса в токсикогенную фазу интоксикации.

Через 1 час после введения фентанила достоверно снижается содержание мочевины и увеличивается активность АЛТ и ГГТ. Повышение активности сывороточных трансаминаз является следствием цитолиза гепатоцитов. Гиперферментативную активность следует рассматривать как следствие деструктивных изменений клеточных мембран, связанных с активацией процессов ПОЛ. Снижение содержания мочевины в крови экспериментальных животных может быть результатом компенсации белковой дистрофии за счет интенсификации катаболических процессов.

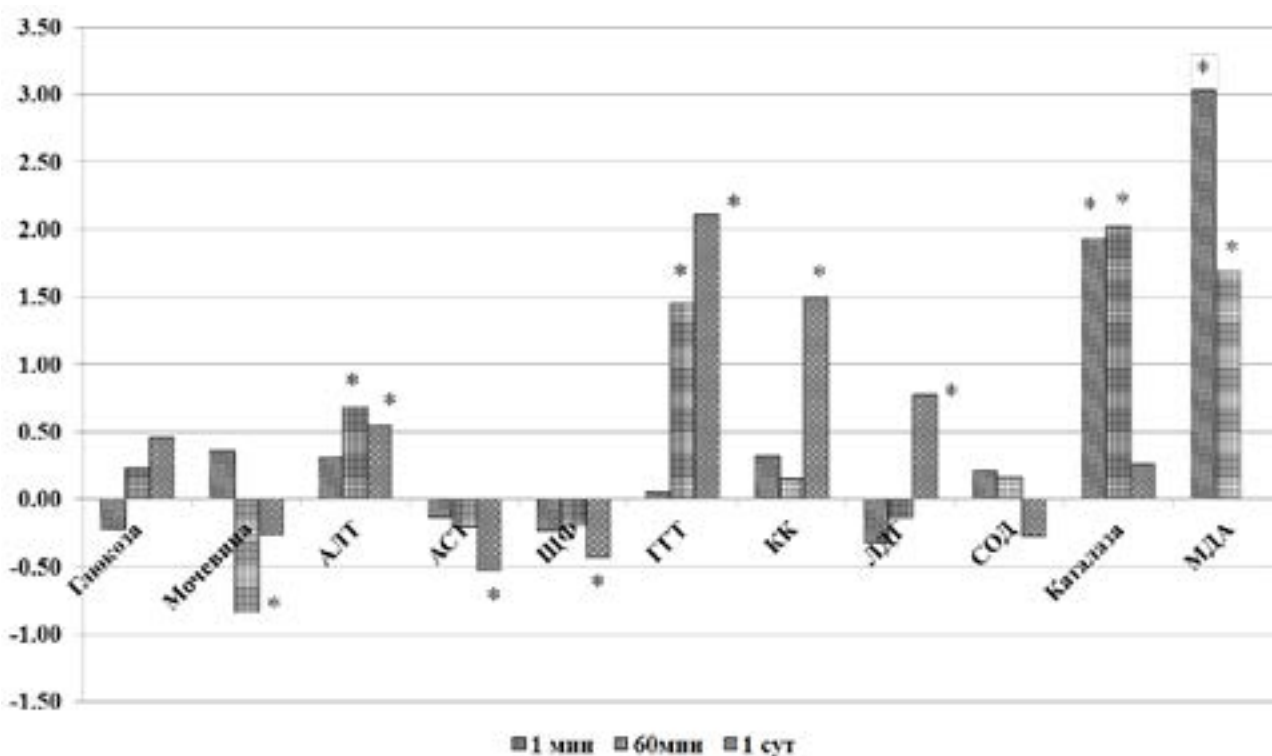


Рис. Динамика изменений биохимических показателей крови белых крыс после однократного внутривенного введения фентанила в дозе 5 ED₅₀ (* – различия с контролем достоверны при p≤0,05)

К исходу суток после воздействия фентанила нормализуется содержание мочевины. Активность АЛТ сохраняется повышенной, увеличивается активность КК и ГГТ, снижается активность АСТ, ЩФ.

Повышение активности АЛТ на фоне понижения активности АСТ, а так же повышение активности ЛДГ указывает на активацию глюкозо-аланинового шунта и преобладание периферических путей метаболизма над центральными. Повышение активности КК вызвано торможением аэробного гликолиза, как следствие гипоксии, и активацией фосфатной реакции, так как КК играет ключевую роль в поддержании энергетического гомеостаза. Повышение активности ГГТ отражает усиление процесса транспорта аминокислот в ткани и состояние внутриклеточной детоксикационной системы.

Известно, что постоянное образование прооксидантов уравновешено их дезактивацией ан-

тиоксидантами, поэтому для поддержания гомеостаза необходима непрерывная регенерация антиоксидантной способности. Хроническая интоксикация наркотическими анальгетиками приводит к истощению количества антиоксидантов и снижению активности ферментов участвующих в антиокислительной защите (СОД, каталаза). Тогда как в острый период происходит активация антиокислительной защиты, что приводит к повышению активности каталазы и увеличению содержания МДА.

Заключение. Таким образом, на основании полученных результатов установлены своеобразные «биохимические синдромы» острой наркотической интоксикации. Они представлены определенными сочетаниями нарушенных биохимических показателей сыворотки крови главным образом, активности ферментов печеночного и сердечного профиля (ферментопатиями), а также развитием оксидативного стресса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Голиков С.Н. Общие механизмы токсического действия. - М.: Медицина, 1986. - 264 с.
2. Кашуро В.А. Система глутатиона и перекисное окисление липидов в патогенезе острых тяжелых интоксикаций циклофосфаном. // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Санкт-Петербург, 2003.
3. Афонский С.И. Биохимия животных. - М: «Средняя школа». 1970. - 605 с.
4. Овсянников М.В., Масловский С.Л., Милутина Н.П. Структурное состояние мембран эритроцитов в патогенезе опиоидной наркомании // Биологические мембраны. - 2005. - Т. 22, №2. - С. 100-104.
5. Батоштыренова Е.Г., Кострова Т.А., Жилыева Е.Х., Кашуро В.А. Изменение показателей ан-

- тиоксидантной системы при остром тяжелом отравлении тиопенталом натрия в отдаленный период в условиях десинхронизации // В сборнике: Окислительный стресс в психиатрии и неврологии. Всероссийская конференция с международным участием. -2016. - С. 19-20.
6. Усманова Н.Н. Соматические осложнения опиоидной наркомании в подростковом возрасте и роль свободнорадикальных процессов в их патогенезе: Автореф. дисс. на соискание учен. степени к.б.н. - М., 2000. - 20 с.
7. Попов В.Ф., Толстикова О.Н. Общая Экология. - Якутск: Изд-во Якутского университета, 2000. - 150 с.
8. Сердюкова Н.Б. Наркотики и наркомания. - Ростов Н/Д: Феникс, 2000. - 256 с.

9. Методические рекомендации. Моделирование интоксикаций депримирующими агентами и оценка выраженности депримирующего эффекта - М.: МР ФМБА России 21.10-13, 2013. - 31 с.
10. Н.А. Лошадкин, Б.А. Курляндский, Г.В. Безженарь, Л.В. Дарына Военная токсикология. - М.: «Медицина». 2006. - 207 с. .
11. Кубрикова Ю.В. Активность каталазы и супероксиддисмутазы в сыворотке крови людей, работающих в условиях повышенной концентрации металлов в окружающей среде [Текст] / Ю.В. Кубрикова, Т.Н. Попова, А.В. Макеева // Успехи современного естествознания. - 2011. - № 6. - С. 50 - 51.
12. Богачева Е.В. Определение концентрации

- малонового диальдегида в сыворотке крови крыс, облученных электромагнитным полем метрового диапазона [Текст] / Е.В. Богачева, В.В. Алабовский, С.Ю. Перов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. - 2016. - С. 12 - 17.
13. Кашуро В.А., Глушков С.И., Карпищенко А.И., Новикова Т.М., Глушкова Т.И., Минаева Л.В., Сибирев С.А. Состояние системы глутатиона в тканях паренхиматозных органов лабораторных животных при повторном введении циклофосфана // Нефрология. - 2006. - Т.10. №4. - С.82-86

REFERENCES:

1. Golikov S.N. General mechanisms of toxic effects. - Moscow: Medicine, 1986. - 264 p. (in Russian)
2. Kashuro V.A. Glutathione system and lipid peroxide oxidizing in acute severe intoxication caused by cyclophosphan. Cand. med. sci. diss. Saint-Petersburg, 2003. (in Russian)
3. Afonsky S.I. Biochemistry of animals. - M: "High school". 1970. - 605 p. (in Russian)
4. Ovsyannikov M.V., Maslovsky S.L., Milutina N.P. Structural state of erythrocyte membranes in the pathogenesis of opium addiction. Biological Membranes. - 2005. - T. 22, №2. - C. 100-104. (in Russian)
5. Batoshytrenova E.G., Kostrova T.A., Zhilyeva

- E.Kh. Kashuro V.A. Changes in the antioxidant system in acute severe poisoning with sodium thiopental in the long term in conditions of desynchronization. In: Oxidative stress in psychiatry and neurology. Proc. of the all-Rus. conf. with internat. part. 2016, 19-20. (in Russian)
6. Usmanova N.N. Somatic complications of opium drug addiction in adolescents and the role of free radical processes in their pathogenesis: Author's abstract. diss. for academic competition. degree of candidate of biological sciences. - M., 2000. - 20 p. (in Russian)
7. Popov V.F., Tolstikhina O.N. General Ecology. - Yakutsk: Publishing House of Yakut University, 2000. - 150 p. (in Russian)

8. Serdyukova N.B. Drugs and drug addiction. - Rostov N / A: Phoenix, 2000. - 256 p. (in Russian)
9. Methodical recommendations. Modeling of intoxications with depressimizing agents and evaluation of the severity of the depressive effect. - M.: FM FMBА of Russia 21.10-13, 2013. - 31 p. (in Russian)
10. N.A. Loshadkin, B.A. Kurylandsky, G.V. Bezhenar, L.V. Daryna Military Toxicology. - M: "Medicine." 2006. - 207 p. (in Russian)
11. Kubrikova Yu.V. The activity of catalase and superoxide dismutase in the blood serum of people working under conditions of an increased concentration of metals in the environment [Text] / Yu.V. Kubrikova, T.N. Popova, A.V. Makeyeva //

- The successes of modern natural science. - 2011. - No. 6. - P. 50-51. (in Russian)
12. Bogacheva E.V. Determination of the concentration of malonic dialdehyde in the blood serum of rats irradiated with an electromagnetic field of a meter range [Text] / E.V. Bogacheva, V.V. Alabovskiy, S.Yu. Perov // Proceedings of the Saratov University. New episode. Series Chemistry. Biology. Ecology. - 2016. - P. 12 - 17. (in Russian)
13. Kashuro V.A., Karpischenko A.I., Novikova T.M., Glushkova T.I., Minaeva L.V., Sibirev S.A. The system state of glutathione in the tissues of the parenchymatous organs of laboratory animals with repeated administration of cyclophosphamide. Nephrol. 2006.10(4):82-86. (in Russian)

D.V. Gorbunov¹, L.P. Erdniev², I.A. Nelga², I.V. Medvetzky², A.Yu. Mikshata², E.Yu. Andreeva²

EXPERIMENTAL STUDIES OF BIOCHEMICAL SYSTEMS OF WHITE RATS WITH FENTANYL ACUTE INTOXICATION

¹Institute of Toxicology of the Federal Medical and Biological Agency, 192019, Saint-Petersburg, Russian Federation

²The 33rd Central Scientific Research Institute, Ministry of Defense of the Russian Federation, 412918, Volsk-18, Russian Federation

Experimental studies of the biochemical systems of white outbred rats in a single intoxication with fentanyl have been carried out. It has been established that acute intravenous intoxication with synthetic narcotic analgesics (fentanyl) leads to an intensification of lipid peroxidation processes indicating the development of oxidative stress. The peculiar biochemical changes of acute drug intoxication are revealed. They are represented by certain combinations of impaired biochemical parameters of blood serum.

Keywords: white rats, fentanyl, biochemical parameters.

Материал поступил в редакцию 04.10.2018 г.