

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ АЛКОГОЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ У САМОК КРЫС

Г.А. Ковалёв¹, А.Ю. Петренко²

¹Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

²Институт проблем криобиологии и криомедицины, г. Харьков

РЕЗЮМЕ

В работе представлена оригинальная модель формирования алкогольного поражения печени у самок крыс, включающая в себя три этапа: первый этап – отбор животных склонных к алкоголизации; второй этап – привыкание животных к алкоголю; третий этап – интенсивная алкоголизация, на этом этапе потребляемая доза алкоголя составляла 14-18 г/кг массы тела в сутки. Использование данной модели на самках крыс приводит к почти трехкратному повышению активности АЛТ и АСТ в плазме крови, более чем трехкратному увеличению продолжительности гексеналового сна, более чем двукратному увеличению протромбинового времени, к почти трехкратному снижению содержания альбумина в плазме крови, что характерно для алкогольного поражения печени. Предлагаемая модель не противоречит принципам биоэтики, так как исключает насильственное введение алкоголя, сопровождаемое стрессом.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальная модель, алкогольное поражение печени, самки крыс

Злоупотребление алкоголем широко распространено во всём мире. В последние годы наблюдается увеличение потребления алкоголя, в том числе в странах Европы [1]. Злоупотребление алкоголем оказывает негативное воздействие на все органы, однако главным органом – мишенью, безусловно, является печень, в которой происходит метаболизм алкоголя и наиболее опасного его метаболита – ацетальдегида. В результате длительного употребления, алкоголь может приводить к формированию алкогольного поражения печени или алкогольной болезни печени (Alcoholic liver disease). Существует прямая связь между алкогольной зависимостью и повреждением печени: злоупотребление алкоголем приводит к развитию алкогольной болезни печени [2]. Особого внимания заслуживает гендерный аспект проблемы. У женщин алкогольное поражение печени развивается при меньших дозах алкоголя, за более короткий период времени и протекает более тяжело, чем у мужчин [1, 5]. Кроме того, у них быстрее формируется пристрастие к алкоголю [6]. Это позволяет выделять пол, как фактор риска развития алкогольного поражения печени. Таким образом, разработка новых методов лечения алкогольного поражения печени является актуальной проблемой современной медицины и невозможна без постановки экспериментов на животных.

Существующие модели алкогольного поражения печени можно условно разделить на две основные группы: модели, предполагающие насильственное введение алкоголя и модели, предполагающие потребление алкоголя животными самостоятельно. Наиболее часто в научных исследованиях применяется модель длительного интрагастрального вве-

дения алкоголя (intragastric enteral feeding protocol) крысам по Tsukamoto and French [3]. Однако эта модель достаточно трудоёмка (каждому животному необходимо наложить гастростому) и требует известного хирургического опыта. Кроме того, с точки зрения биоэтики более предпочтительной следует признать вторую группу моделей. Подавляющее большинство моделей второй группы позволяют вводить относительно небольшое количество алкоголя, что значительно суживает область их применения. Исключением являются только модели, при которых животные полностью переводятся на жидкую диету (liquid diet), содержащую алкоголь. Классическим примером таких моделей является модель по Lieber CS, DeCarli LM. [4]. В соответствии с ней животные получают только жидкую диету, с содержанием алкоголя в концентрации 5 гр/дл или 36% от общей энергетической ценности пищи. Эта модель проста в применении и позволяет добиться потребления алкоголя в высоких дозах. Однако у неё есть и свои недостатки, одним из них является полное исключение из рациона животных привычной для них твёрдой пищи. Кроме того, используемые жидкие диеты имеют высокую стоимость, что значительно снижает привлекательность данной методики в условиях Украины.

Целью работы была разработка модели алкогольного поражения печени у самок крыс, требующей минимальных затрат времени и средств и не противоречащей при этом принципам биоэтики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнялось на самках белых беспородных крыс. На момент начала алкоголизации возраст животных составлял

три месяца. В качестве контрольной группы использовались животные того же пола и возраста, получавшие аналогичную диету, но без алкоголя. Разработанная нами модель формирования алкогольного поражения печени у самок крыс включает в себя три этапа.

Первый этап – отбор животных склонных к алкоголизации. Производился на основании отборочного теста. Процедура отборочного теста:

- за сутки до проведения теста животные лишались пищи со свободным доступом к воде;

- животные, помещенные в индивидуальные клетки, получали по 1мл 40% раствора этанола на стандартных кусочках белого хлеба;

- критерием отбора являлось количество съеденного хлеба в течение часа – животные, съедавшие менее половины кусочка, выбраковывались.

Второй этап – привыкание животных к алкоголю. Длительность второго этапа составляла две недели. В первую неделю они находились на обычной диете, но вместо воды в поилках получали 5% раствор этанола, во вторую неделю 5% раствор этанола заменялся 15% раствором.

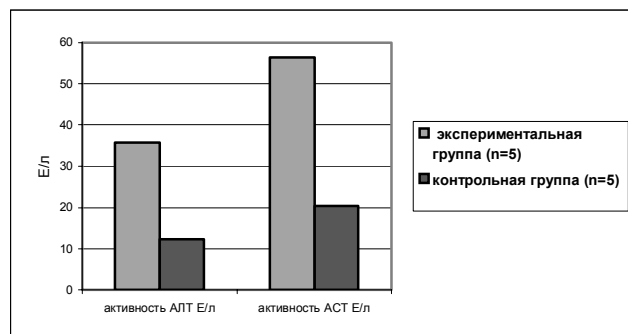
Третий этап – интенсивная алкоголизация. На третью неделю вместо обычной диеты животные получали 96% раствор этанола на стандартных кусочках белого хлеба. Два раза в неделю животные получали побег овса. Потребляемая каждым животным доза алкоголя составляла 14-18 г/кг массы тела в сутки. Длительность третьего этапа состав-

ляла одиннадцать недель.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве тестовых параметров были выбраны следующие показатели функциональных печеночных проб: активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) в плазме крови, продолжительность гексеналового сна, протромбиновое время, содержание альбумина в плазме крови.

После окончания эксперимента (алкоголизации) показатели активности АЛТ в плазме крови животных экспериментальной и



контрольной групп составили $35,8 \pm 2,4$ Е/л и $12,4 \pm 0,9$ Е/л, активности АСТ – $56,4 \pm 3,2$ Е/л и $20,4 \pm 1,2$ Е/л соответственно. Таким образом, показатели активности трансаминаз в плазме крови животных экспериментальной группы были значительно выше, чем у животных контрольной группы: активности АЛТ – в 2,9 раза, активности АСТ – в 2,8 раза. Более наглядно полученные результаты представлены на рисунке 1.

Рис. 1. Активность АЛТ и АСТ в плазме крови животных экспериментальной и контрольной групп после эксперимента

Средняя продолжительность гексеналового сна животных экспериментальной и контрольной групп до эксперимента составляла $7,7 \pm 0,7$ минуты и $8,3 \pm 0,7$ минуты соответственно. После эксперимента она составила $27,1 \pm 3,2$ минуты и $10,2 \pm 0,9$ минуты соответ-

ственно. Таким образом, продолжительность гексеналового сна животных экспериментальной группы увеличилась в 3,5 раза, животных контрольной группы – в 1,2 раза. Наглядно полученные результаты представлены на рисунках 2, 3.

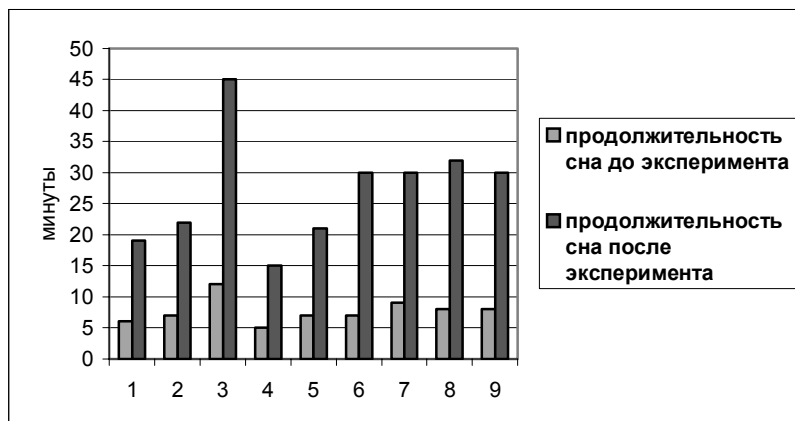


Рис. 2. Продолжительность гексеналового сна животных экспериментальной группы до и после эксперимента

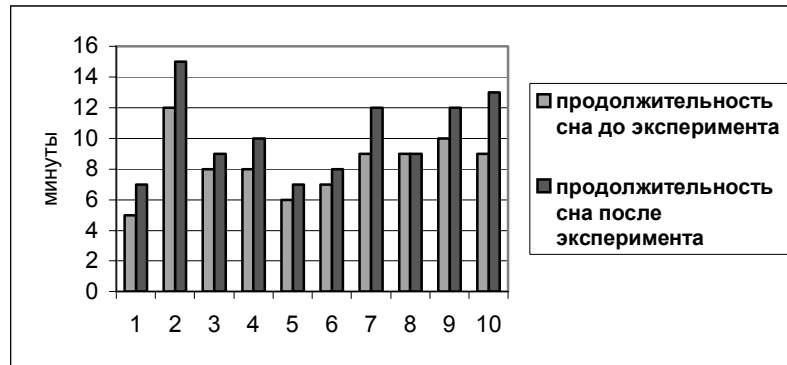


Рис. 3. Продолжительность гексеналового сна животных контрольной группы до и после эксперимента

Протромбиновое время у животных экспериментальной и контрольной групп до эксперимента составляло $24,9 \pm 0,4$ секунды и $25,4 \pm 0,3$ секунды соответственно. После воздействия оно составило $51,1 \pm 1,6$ секунды и $26,2 \pm 0,3$ секунды соответственно. Таким образом, протромбиновое время у животных экспериментальной группы увеличилась в 2,1 раза, у животных контрольной группы – практически не изменилось. Более наглядно результаты представлены на рисунке 4.

Содержание альбумина в плазме крови животных экспериментальной и контрольной групп до эксперимента составляло $2,8 \pm 0,1$ гр/дл. После эксперимента оно составило $0,98 \pm 0,1$ гр/дл и $2,73 \pm 0,1$ гр/дл соответственно. Таким образом, содержание альбумина в плазме крови у животных экспериментальной группы понизилась в 2,9 раза, у животных контрольной группы – практически не изменилось. Более наглядно результаты представлены на рисунке 5.

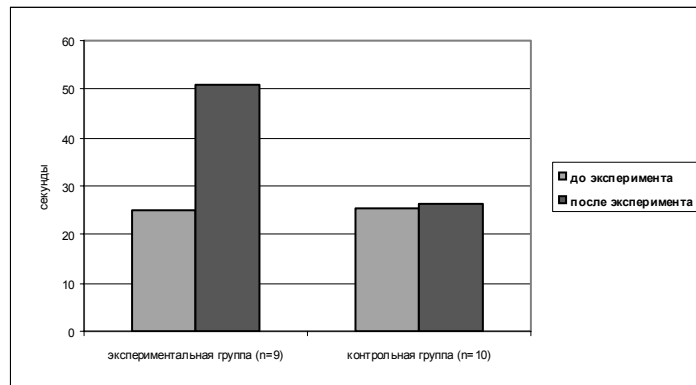


Рис. 4. Протромбиновое время у животных экспериментальной и контрольной групп

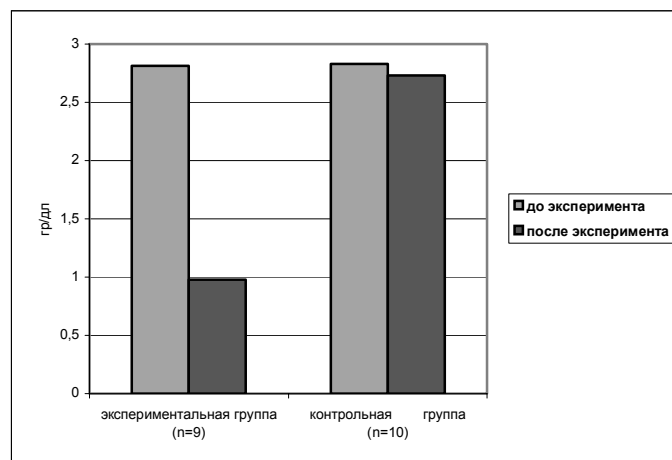


Рис. 5. Содержание альбумина в плазме крови животных экспериментальной и контрольной групп

ВЫВОДЫ

На основании полученных данных можно утверждать, что разработанная нами модель приводит к изменениям показателей функциональных печеночных проб характерным для алкогольного поражения печени. А именно, к повышению активности АЛТ и АСТ в плазме крови, увеличению продолжительности гексеналового сна, увеличению протромбинового времени, снижению со-

держания альбумина в плазме крови.

Таким образом, в ходе экспериментально-го исследования, разработана эффективная, простая и недорогая модель алкогольного поражения печени у самок крыс, не противоречащая при этом принципам биоэтики.

Данная модель может быть использована в исследованиях направленных на изучение механизмов развития алкогольного поражения печени и разработку новых методов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калинин А.В.//Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии.- 2001. - №4. - С. 8-14.
2. Маевская М. В.//Клинические перспективы в гастроэнтерологии, гепатологии.- 2001. - №1. - С.4-8.
3. Kono H, Bradford BU, Rusyn I, et. al.//J.Hepatobiliary Pancreat Surg. - 2000. -Vol. 7. - №4. - P.395-400.
4. Lieber C.S, DeCarli L.M. // Alcohol. - 1989. - Vol. 24. - № 3. - P. 197-211.
5. Nanji, Amin A., Kalle Jokelainen, et. al. // Am J.Phys.Gastr.Liver Phys. - 2002. - № 281. - P. 1348-1356.
6. Schenker S. // Alcohol Clin Exp Res. - 1997. - № 21. - P. 179-181.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МОДЕЛЬ АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ У САМОК ЩУРІВ

Г.О. Ковальов¹, О.Ю. Петренко²

¹Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна

²Інститут проблем кріобіології і кріомедицини, м. Харків

РЕЗЮМЕ

У роботі представлена оригінальна модель формування алкогольного ураження печінки у самок щурів, яка складається з трьох етапів: перший етап – відбір тварин, які схильні до алкоголізації; другий етап – звикання тварин до алкоголю; третій етап – інтенсивна алкоголізація, на цьому етапі вживана доза алкоголю складала 14-18 г/кг маси тіла за добу. Використання цієї моделі на самках щурів призводить до майже трьохкратного підвищення активності АЛТ та АСТ у плазмі крові, більш ніж трьохкратного збільшення тривалості гексеналового сну, більш ніж двохкратного збільшення протромбінового часу, майже трьохкратного зниження вмісту альбуміну в плазмі крові, що характерно для алкогольного ураження печінки. Модель, яка пропонується, не суперечить принципам біоетики, так як виключає насильницьке введення алкоголю, яке супроводжується стресом.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальна модель, алкогольне ураження печінки, самки щурів

AN EXPERIMENTAL MODEL OF ALCOHOL INDUCED HEPATIC INJURY AT FEMALE RATS

G.A. Kovalyov¹, A.Yu. Petrenko²

¹V.N. Karazin Kharkiv National University

²Institute for problems of cryobiology and cryomedicine, Kharkov

SUMMARY

In the work of original model of alcohol induced hepatic injury at female rats including three stages is submitted: the first stage is selection of animals inclined to alcoholization; the second stage is accustoming of animals to alcohol; the third stage is intensive alcoholization, at this stage the consumed doze of alcohol made 14-18 g/kg of weight of a body in days. Use of the given model on female rats results in almost triple increase of activity ALT and AST in plasma of blood, more than to triple increase of duration hexane sleep, more than to double increase prothrombin time, almost triple decrease of the contents albumin in plasma of blood, that is typical of alcohol induced hepatic injury. The offered model does not contradict to the principles of bioethics as excludes the violent introduction of alcohol accompanied with stress.

KEY WORDS: experimental model, alcohol induced hepatic injury, female rat