

Результати імуногістохімічного дослідження свідчили про наявність трансплантованих ММСК у пересаджених графтах на 2-й і 4-й тижні експерименту.

Необхідно зауважити, що кількість ММСК у трансплантатах на 4-й тиждень експерименту збільшувалася, причому більшість клітин містилась у стінках судин дрібного та середнього калібру і перивазальному просторі, що вказує на можливість їх ендотеліального диференціювання.

Цікавим є факт візуалізації трансплантованих ММСК у контралатеральному (тканинному) графті, тобто було встановлено, що трансплантовані клітини здатні до мігрування. Аналіз результатів проведеного експериментального дослідження свідчив про те, що збагачення жирового графту кріоконсервованими ММСК призводить до розвитку у жировому графті деструктивно-дегенеративних процесів і асептичного запалення.

Короткотривале збільшення маси трансплантованих графтів пояснюється дією ДМСО, а у разі з клітинно-тканинним графтом — і запальною дією трансплантованих алогенних клітин.

Висновки

1. Збагачення донорськими алогенними кріоконсервованими ММСК жирової тканини призводить до активації дегенеративно-дистрофічних і запальних процесів у пересадженому графті та як наслідок — до некрозу і лізису адипоцитів із подальшим фіброзуванням.

2. Тимчасове збільшення маси трансплантованих графтів пояснюється, насамперед, дією ДМСО, який входить до складу розчину з ММСК, а його дія у разі з клітинно-тканинним графтом посилюється запальною дією донорських клітин.

3. Результати проведеного дослідження свідчать про те, що використання донорських кріо-

консервованих ММСК з метою запобігання тканинній резорбції жирового трансплантата є недоцільним, у разі застосування в клінічній практиці може призвести до значних негативних побічних реакцій.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Опыт применения аутолипофиллинга при инволюционных изменениях лица и других дефектах кожи* / О. С. Панова, И. А. Петров, Ю. А. Бритун, А. Л. Пирузян // *Анналы пластической, реконструктивной и пластической хирургии*. – 2002. – № 4. – С. 45–47.

2. Coleman S. Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations / S. Coleman // *Aesthetic Plast. Surg.* – 1995. – Vol. 19. – P. 421–425.

3. Hoerl H. W. Autologous fat volume retention evaluation by magnetic resonance imaging / H. W. Hoerl, A. M. Feller // *Private Practice Plastic Surgery (Munich, Germany)*. – 2001. – Vol. 4. – P. 41–53.

4. Locke M. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery / M. Locke, J. Windsor, P. Rod Dunbar // *ANZ J Surg.* – 2009. – Vol. 79. – P. 235–244.

5. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.

REFERENCES

1. Panova O.S., Petrov I.A., Britun Yu.A., Piruzyan A.L. Experience of application of eutolipolifting experience with involution changes of the face and other defects of the skin. *Annaly rekonstruktivnoi i plasticheskoi khirurgii* 2002; 4: 45-47

2. Coleman S. Long-term survival of fat transplants: Controlled demonstrations. *Aesthetic Plast. Surg* 1995; 19: 421-425.

3. Hoerl H.W., Feller A.M. Autologous fat volume retention evaluation by magnetic resonance imaging. *Private Practice Plastic Surgery*, Munich, Germany. 2001; 4: 41-53.

4. Locke M., Windsor J., Dunbar P.R. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery. *ANZ J Surg* 2009; 79: 235-244.

5. Sarkisov D.S., Perov Yu.L. Microscopic technics. *Meditsyna* 1996, 544 p.

Надійшла 27.12.2012

УДК 577.151.63:612.128

В. В. Конопельнюк, В. В. Войтенко, О. М. Савчук, Л. І. Остапченко

ВМІСТ СЕРОТОНІНУ ТА ТРИПТОФАНУ В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ХРОНІЧНОЇ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

УДК 577.151.63:612.128

В. В. Конопельнюк, В. В. Войтенко, А. Н. Савчук, Л. И. Остапченко
СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА И ТРИПТОФАНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, Украина

Исследовано содержание серотонина и триптофана в сыворотке крови крыс в условиях экспериментальной модели хронической алкогольной интоксикации. При развитии алкогольной интоксикации установлено значительное увеличение содержания серотонина и триптофана. Такие результаты указывают на вовлечение серотонинергической системы в процесс формирования данной патологии. Несмотря на это, перспективными являются более углубленные исследования функционирования данной системы в условиях развития хронической алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: серотонин, триптофан, серотонинергическая система, хроническая алкогольная интоксикация.



SEROTONIN AND TRYPTOPHAN LEVEL IN BLOOD SERUM UNDER DEVELOPMENT OF CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION*The Kyiv National University named after T. Shevchenko, Kyiv, Ukraine*

Serotonergic system abnormality usually follows different pathology in organism, a classic example is alcoholic intoxication, which causes increasing of serotonin and tryptophan level.

The **goal** of this research is the investigation of the serotonin and tryptophan level in rat's blood serum during chronic alcoholic intoxication including abstinent period.

Materials and methods. The experiment was carried out on white nonlinear rats with weight of 180–200 g that were fed a standard vivarium fodder with free water access. The animals were divided into two parts. The first group consisted of animals, that were intragastric administered distillate water during 10 days. The animals from the second group were administered 30% ethanol. Serotonin and tryptophan level was determined using Ion exchange chromatography and spectroscopy-fluorometric method.

The results of research. Elevation of these metabolites level was shown during a whole period of ethanol introduction including abstinent period, that is the main sign of alcoholic intoxication. These results identify at involving serotonergic system in forming this pathology. Therefore, deep researches are forward-looking, because information of functioning and abnormality of serotonergic system is still not complete.

Key words: serotonin, tryptophan, serotonergic system, chronic alcohol intoxication.

Сьогодні одним із поширених факторів несприятливого впливу на організм є алкоголь. Алкогольна залежність — одна з найактуальніших проблем, пов'язаних зі здоров'ям людини, серед тих, що постають сьогодні перед суспільством. Офіційна статистика свідчить, що за останні три десятиліття вживання алкоголю у промислово розвинених країнах збільшилось у середньому в 15 разів, що призвело до ураження алкоголізмом від 1 до 10 % дорослого населення. Алкоголізм характеризується високим показником смертності, що пов'язано з травматизмом і серйозними розладами метаболічних процесів — розвитком цирозу печінки, гепатиту, гепатохолециститу, гастриту та виразкової хвороби, туберкульозу, кардіоміопатії, гіпертонічної хвороби та ін. [1].

Незважаючи на значну кількість наукових праць, присвячених вивченню механізмів розвитку даної патології, залишається мало вивченим функціонування серотонінергічної системи за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації [2]. Серотонін пов'язаний із регуляцією та функціями рухової системи, циклу сну, циркадних ритмів, дихальної стабільності, ембріонального розвитку [3; 4]. Також даний нейромедіатор впливає на такі функції мозку, як навчання та пам'ять, сприйняття навколишнього середо-

вища, формування настрою та відповіді на вживання алкоголю [5]. Сучасні дослідження з геноміки, анатомії, біохімії нервової системи, електрофізіології та поведінки дають значну інформацію щодо серотонінергічної системи, але причинні механізми функціонування серотонінергічної системи як у нормі, так і за умов розвитку різних патологій і впливу фармакологічних агентів залишаються ще маловивченими.

Метою даного дослідження було визначення вмісту триптофану та серотоніну в сироватці крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації, а також під час абстинентного синдрому.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проводили на білих нелінійних щурах обох статей масою 160–200 г. Виконані дослідження відповідають основним вимогам щодо утримання та роботи з лабораторними тваринами згідно з правилами Європейської конвенції щодо захисту тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою (Страсбург, 1986) та відповідно до етичних норм українського законодавства.

Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації у піддослідних тварин відтворю-

вали за методом [6] шляхом внутрішньошлункового введення 30 % етилового спирту з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини. Контрольну групу утворили щури, яким у тому ж віці внутрішньошлунково вводили воду, яку використовували для розведення етанолу. Тварини були розподілені на 2 групи: 1-ша — контрольна група щурів; 2-га — група щурів, яким вводили розчин етанолу протягом 11 діб. Для визначення вмісту триптофану та серотоніну сироватку крові відбирали на 1-шу, 3-тю, 7-му та 11-ту добу введення спиртового розчину та на 21-шу добу від початку введення етанолу.

Для аналізу вмісту триптофану та серотоніну було використано метод іонообмінної хроматографії на КМ-сефарозі [7]. Вимірювання вмісту триптофану та серотоніну проводили на спектрофлуорофотометрі Shimadzu при довжині хвилі збудження 359 і 295 нм, довжині хвилі поглинання 485 і 550 нм порівняно з пробкою, яка містила дистильовану воду [8; 9].

Статистичний аналіз здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу Microsoft Excel. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний критерій Стьюдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.



Результати дослідження та їх обговорення

Результати експериментальних і клінічних досліджень свідчать про те, що вміст і метаболізм амінокислот порушуються при розвитку алкогольної інтоксикації. Загальновідомо, що вільні амінокислоти є матеріалом для синтезу білків і біологічно активних речовин, гормонів, ферментів, пуринових і піримідинових основ, нуклеїнових кислот і вітамінів у організмі. Амінокислоти — основні компоненти системи метаболічного контролю як синтезу, так і катаболізму білків, вони створюють регуляторні передумови для зовнішнього контролю. У зв'язку з цим усе більше уваги приділяється вивченню впливу амінокислот і їх похідних на метаболічні порушення при алкоголізмі та наркоманії, пошуку нових біологічно активних препаратів на їх основі для лікування цих захворювань. Дослідження показали, що включення амінокислот і їх похідних у комплекс лікувально-реабілітаційних заходів при наркологічних захворюваннях може бути патогенетично обгрунтованим.

Нами було визначено вміст триптофану, широко розповсюдженої в природі незамінної амінокислоти, попередника для синтезу серотоніну, у сироватці крові щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, зумовленій введенням 30 % розчину етанолу. Встановлено, що за умов формування хронічної алкогольної інтоксикації вміст триптофану у сироватці крові щурів на 1-шу добу знаходився у межах контрольних значень. У подальшому введення етанолу піддослідним тваринам на 3-тю, 7-му та 11-ту добу спричинювало поступове зростання вмісту триптофану: в 1,3; 1,6 та 1,7 рази відповідно щодо контрольних значень (рис. 1).

Одна з основних ознак хронічної алкогольної інтоксикації — виникнення абстинентного синдрому. Основним фактором, що спричинює абстинент-

ний синдром, є високий вміст в організмі токсичних речовин, які суттєво порушують роботу багатьох внутрішніх органів. При дослідженні його рівня в періоді абстинентного синдрому в сироватці крові щурів було встановлено зростання вмісту триптофану в 2,3 рази порівняно з контрольними показниками (див. рис. 1).

Триптофан у крові знаходиться у двох формах: вільній і зв'язаній з альбуміном. Комплекс триптофан-альбумін (90 %) не може долати гематоенцефалічний бар'єр, решта вільного триптофану легко його перетинає та потрапляє в мозок. Визначальним фактором співвідношення вільного триптофану та комплексу триптофан-альбумін є концентрація в плазмі крові вільних жирних кислот, які також зв'язуються з альбуміном. Згідно з даними літератури, спостерігається зростання концентрації вільних жирних кислот при алкоголізмі, які, утворюючи комплекс з альбуміном, витісняють триптофан з його місць зв'язування, у результаті чого збільшується вміст вільного триптофану в плазмі крові [10]. Ще однією причиною зростання вмісту триптофану в сироватці крові щурів із хронічною алкогольною інтоксикацією може бути конкуренція досліджуваної амінокислоти з іншими велики-

ми нейтральними амінокислотами за шляхи проходження гематоенцефалічного бар'єру.

Таким чином, можна стверджувати, що протягом усього періоду розвитку хронічної алкогольної інтоксикації відбувається зростання вмісту триптофану в сироватці крові щурів.

Основне джерело серотоніну — головний мозок і травна система. Оскільки серотонін не долає гематоенцефалічного бар'єру, то серотонін-продукуюча система умовно поділена на центральну та периферичну. Периферичний серотонін відіграє важливу роль у регуляції моторики шлунково-кишкового тракту, рівня глюкози в крові, в активації тромбоутворення, регуляції судинного тону та артеріального тиску, серцевого ритму, сили серцевих скорочень. Порушення в серотонінергічній системі призводять до розвитку різних патологічних станів організму, у тому числі психічних розладів, таких як маніакально-депресивний психоз, шизофренія, депресія та тривожні стани, які можуть провокувати виникнення алкогольної залежності, тому доцільним було дослідження вмісту серотоніну в сироватці крові.

При вивченні дії етанолу на вміст серотоніну в сироватці крові щурів було виявлено підвищення вмісту даного мета-

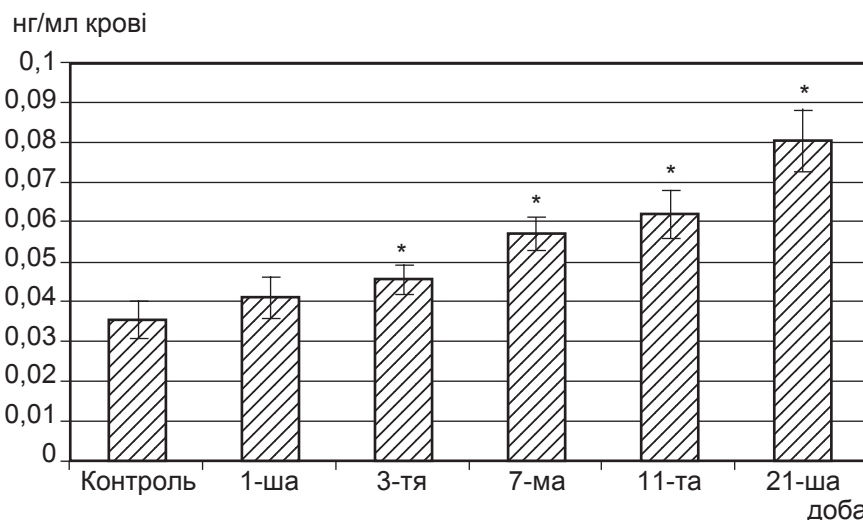


Рис. 1. Вміст триптофану в сироватці крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. На рис. 1 і 2: * — $p < 0,05$ порівняно з контролем

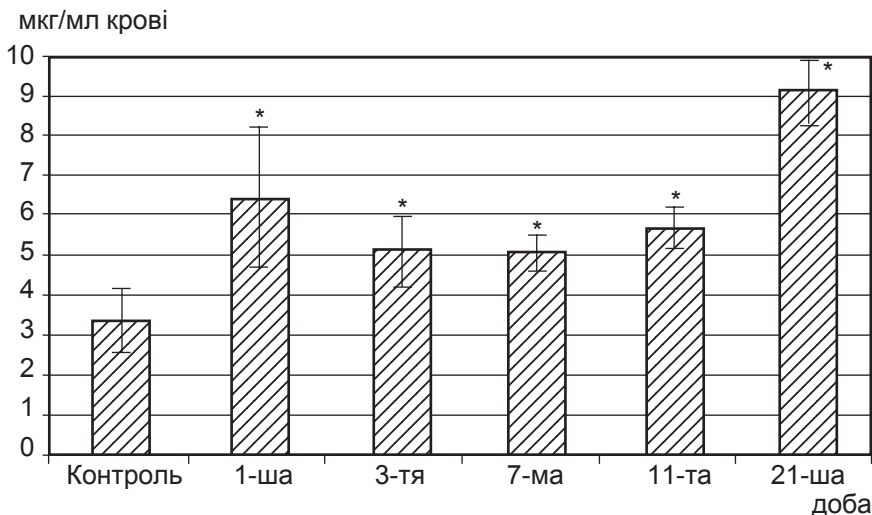


Рис. 2. Вміст серотоніну в сироватці крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації

боліту протягом усього періоду розвитку хронічної алкогольної інтоксикації порівняно з показниками тварин контрольної групи (рис. 2). У періоді абстинентного синдрому спостерігається значне підвищення (у 2,3 рази) вмісту серотоніну в сироватці крові щурів порівняно з контролем (див. рис. 2).

Можливою причиною підвищення вмісту периферичного серотоніну у тварин із хронічною алкогольною інтоксикацією може бути порушення функціонування ентерохромафінних клітин шлунково-кишкового тракту (ШКТ), які вивільняють серотонін у відповідь на надходження їжі до ШКТ. Також зростання вмісту периферичного серотоніну може бути зумовлене порушенням функціонування судинно-тромбоцитарної ланки системи гемостазу, оскільки значна частина серотоніну утворюється у ентерохромафінних клітинах і адсорбується тромбоцитами.

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлено вірогідні зміни основних показників серотонінового шляху метаболізму триптофану в сироватці крові щурів із хронічною алкогольною інтоксикацією. Такі результати вказують на залучення серотонінергічної системи до процесу формування даної патології. Зважаючи на це, перспектив-

ними є більш глибокі дослідження функціонування серотонінергічної системи за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дереча Л. М. Алкоголь та його дія на організм: огляд літератури / Л. М. Дереча // Вісник Харківського національного університету. – 2007. Вип. 6. – № 788. – С. 7–16.
2. Chronic ethanol consumption by mice results in activated splenic T cells / K. Song, R. A. Coleman, X. Zhu [et al.] // J. Leukoc. Biol. – 2002. – Vol. 72. – P. 1109–1116.
3. Rhythmic serotonin N-acetyltransferase mRNA degradation is essential for the maintenance of its circadian oscillation / T. D. Kim, J. S. Kim, J. H. Kim [et al.] // Mole Cell Biol. – 2005. – Vol. 25. – P. 3232–3246.
4. Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development / F. Cote, C. Fligny, E. Bayard [et al.] // PNAS. – 2007. – Vol. 104. – P. 329–334.
5. Lam D. D. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes / D. D. Lam, L. L. Heisler. – Cambridge University Press, 2007. – Vol. 9. – P. 5.
6. Халилов М. Х. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации / М. Х. Халилов, Ш. Я. Закиходжаев // Вопросы клиники алкоголизма : сб. науч. тр. – Ташкент, 1983. – С. 38–41.
7. Максименко Е. Г. Уровень триптофана и серотонина в условиях судорожной активности головного мозга / Е. Г. Максименко, В. Н. Савченко // Вісник Харківського національного університету ім. В. Н. Кара-

зіна. Медицина. – 2000. – Т. 1, № 494. – С. 40–43.

8. Gaitonde M. K. A fluorimetric method for the determination of tryptophan in animal tissues / M. K. Gaitonde // Biochem. S. – 1974. – Vol. 139. – P. 625–631.

9. Weissbach H. A simplified method for measuring serotonin in tissue; simultaneous assay of both serotonin and histamine / H. Weissbach, P. Waalkes, S. Udenfriend // J Biol Chem. – 1957. – Vol. 230, N 2. – P. 865–871.

10. Буверов А. О. «Жирная печень»: причины и последствия / А. О. Буверов // Consilium Medicum. – 2007. – № 9. – С. 74–78.

REFERENCES

1. Derecha L.M. The alcohol effect on the organism: literature review. *Visnyk Kharkivskogo natsionalnogo universitetu* 2007; 6 (788): 7-16.
2. Song K., Coleman R.A., Zhu X. et al. Chronic ethanol consumption by mice results in activated splenic T cells. *J. Leukoc. Biol.* 2002; 72: 1109-1116.
3. Kim T.D., Kim J.S., Kim J.H., Myung J., Chae H.D., Woo K.C., Jang S.K., Koh D.H., Kim K.T. Rhythmic serotonin N-acetyltransferase mRNA degradation is essential for the maintenance of its circadian oscillation. *Mole Cell Biol* 2005, 25: 3232-3246.
4. Cote F., Fligny C., Bayard E., Launay J.M., Gershon M.D., Mallet J. Vojdani G. Maternal serotonin is crucial for murine embryonic development. *PNAS* 2007; 104: 329-334.
5. Lam D.D., Heisler L.L. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes. Cambridge University Press 2007; 9: 5.
6. Halilov M.H., Zakyhordzhaev S.Yu. On the characterization of certain pathochemical shifts in blood, liver and brain in experimental alcohol intoxication. *Voprosy kliniki algokolizma. Sbornic nauchnykh trudov.*, Tashkent 1983, p. 38-41.
7. Maksimenko Ye.G., Savchenko V.N. Tryptophan and serotonin levels in the brain seizure activity. *Visnyk Charkivskogo natsionalnogo universiteta im. V. N. Karazina. Meditsyna.* 2000; 1 (494), p. 40-43.
8. Gaitonde M.K. A fluorimetric method for the determination of tryptophan in animal tissues. *Biochem. S.* 1974; 139: 625-631.
9. Weissbach H., Waalkes T.P., Udenfriend S. A simplified method for measuring serotonin in tissue; simultaneous assay of both serotonin and histamine. *J Biol Chem* 1957; 230, 2: 865-71.
10. Bueverov A.O. "Fatty liver": causes and consequences. *Consilium Medicum* 2007; 9: 74-78.

Надійшла 6.12.2012

