

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© Коллектив авторов

### НЕЙРОМЕДИАТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ КОМПЛЕКСНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ И МОРФИНОМ

*И.М. Величко\*, С.В. Лелевич, В.В. Лелевич, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов*

Гродненский государственный медицинский университет,  
230000, Республика Беларусь, Гродно, ул. Горького, 80; \*эл. почта: velichko.ilona@mail.ru

Исследованы уровни биогенных моноаминов и их метаболитов в гипоталамусе, среднем мозге и мозжечке крыс при острой комплексной интоксикации морфином и этанолом. Установлены отличительные особенности нейромедиаторных нарушений в различных отделах головного мозга крыс при однократном воздействии этанола и морфина, а также различия между острой морфиново-алкогольной и алкогольно-морфиновой интоксикацией. Комплексная интоксикация этанолом и морфином привела к признакам расходования дофамина только в гипоталамусе независимо от очередности введения психоактивных веществ (ПАВ). Отмечен рост уровня метаболитов серотонинергической системы при алкогольно-морфиновой интоксикации в исследованных отделах мозга. Совместное действие двух ПАВ во многом соответствует эффекту последнего вводимого вещества в среднем мозге и мозжечке. Выявлены особенности изменений показателей дофаминергической и серотонинергической систем в данных экспериментальных условиях, проявляющиеся процессами катаболизма дофамина и снижением концентрации норадреналина и серотонина в гипоталамусе, которые не наблюдались при введении только этанола или морфина.

**Ключевые слова:** этанол; морфин; гипоталамус; средний мозг; мозжечок; дофамин; серотонин; норадреналин

**DOI:** 10.18097/PBMC20216704323

#### ВВЕДЕНИЕ

Среди структур организма человека, особенно чувствительных к токсическому действию психоактивных веществ (ПАВ), головной мозг занимает одно из первых мест [1-4]. Важную роль в формировании патохимической картины алкогольной и морфиновой интоксикации играют нарушения функционирования нейромедиаторных систем головного мозга [5, 6]. В ряде исследований показана направленность изменений основных нейрохимических систем головного мозга при действии алкоголя и морфина [1, 2, 4-6]. Приём ПАВ стимулирует дофаминовые структуры “системы награды”, компенсируя врождённую недостаточность функций лимбических структур головного мозга [7, 8].

В последнее время всё чаще сообщается об опиатной зависимости, осложнённой алкоголизмом [9, 10], а также о наличии наследственной отягощённости по алкоголизму у больных опийной наркоманией [11]. По мнению ряда авторов, сочетанное употребление разных наркотиков (полинаркомания), а также наркотиков и алкоголя (осложнённая наркомания) значительно меняет клинику заболеваний, приводит к более тяжёлым медицинским и социальным последствиям [10, 11]. В ряде экспериментальных работ были изучены механизмы совместного действия алкоголя и опиоидов, приводятся данные об изменении толерантности к респираторным депрессантным эффектам морфина у экспериментальных животных [12], а также морфологических изменениях головного мозга [13]. В клинической практике были изучены изменения состава биологических жидкостей умерших людей, отмечается проблема установления причины

наступления смерти при комплексном отравлении алкоголем и опиоидом [14]. Также имеются случаи употребления алкоголя среди лиц с хронической болью, которые используют опиоиды для её снятия [15].

Совместное употребление алкоголя и опиоидов является актуальной проблемой настоящего времени. Всё больше внимания уделяется изучению данного вопроса в клинических исследованиях [10, 11, 16]. Имеются сведения об отдельном влиянии алкоголя и морфина на функционирование катехоламиновых нейромедиаторов [3, 17]. Однако все эти данные не позволяют сформировать целостное представление о комплексе метаболических и нейрохимических нарушений при совместном введении психоактивных веществ в организм.

Целью исследования была оценка особенностей формирования пула показателей основных нейромедиаторных систем в головном мозге крыс при острой морфиновой и алкогольной интоксикации, а также при однократном комплексном введении данных веществ. В задачи исследования входило изучение содержания биогенных моноаминов, ряда их предшественников и метаболитов в гипоталамусе, среднем мозге и мозжечке крыс при острой алкогольной и морфиновой интоксикации, а также однократном комплексном введении этанола и морфина.

#### МЕТОДИКА

Эксперименты были выполнены на беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. В эксперименте были сформированы группы, представленные в таблице 1.

## ОСТРАЯ КОМПЛЕКСНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ МОРФИНОМ И ЭТАНОЛОМ

Таблица 1. Схематичное представление дизайна исследования

1 группа (n=6) Контроль	NaCl в/ж+в/бр	NaCl в/ж+в/бр	1 ч	Декапитация
	12 ч			
2 группа (n=9) ОАИ	NaCL в/ж+в/бр	Этанол в/ж + NaCl в/бр	1 ч	Декапитация
	12 ч			
3 группа (n=9) ОМИ	NaCl в/ж+в/бр	NaCL в/ж + Морфин в/бр	1 ч	Декапитация
	12 ч			
4 группа (n=9) Морфин+этанол	NaCl в/ж + Морфин в/бр	Этанол в/ж + NaCl в/бр	1 ч	Декапитация
	12 ч			
5 группа (n=9) Этанол+морфин	Этанол в/ж + NaCl в/бр	NaCLl в/ж + Морфин в/бр	1 ч	Декапитация
	12 ч			

Примечание. Здесь и в таблицах 2-4: ОАИ (2-я группа) — острая алкогольная интоксикация, ОМИ (3-я группа) — острая морфиновая интоксикация.

Учитывая хорошо известные представления о малых, средних и высоких экспериментальных дозах этанола и морфина, нами был реализован подход, при котором были использованы средние дозы обоих ПАВ. Морфина гидрохлорид в виде 1% раствора вводили однократно внутрибрюшинно (в/бр) в дозе 10 мг/кг массы тела, 25% раствор этанола — внутривенно (в/ж) в дозе 3,5 г/кг. Декапитацию осуществляли через 1 ч после последнего введения веществ с последующим забором тканей головного мозга.

На холоде выделяли головной мозг, отбирая для дальнейшей работы гипоталамус, верхний и нижний холмики среднего мозга справа вместе с покрывкой и чёрной субстанцией, часть правого полушария мозжечка, которые замораживали в жидком азоте. Затем образцы тканей (20-80 мг) взвешивали и гомогенизировали в 10 объёмах 0,2 М  $\text{HClO}_4$ , содержащей ванилиновую кислоту (VA, 10 мкМ), а также 50 мг/л ЭДТА и 50 мг/л  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  в качестве антиоксиданта, после чего центрифугировали при 40°C 15 мин при 16000 g, супернатант немедленно отделяли от осадка.

Уровни биогенных аминов, их предшественников и метаболитов (тирозин, диоксифенилаланин (ДОФА), дофамин, 3,4-диоксифенилуксусная кислота (3,4-ДОФУК), гомованилиновая кислота (ГВК), норадреналин, триптофан, 5-окситриптофан, серотонин, 5-оксиндолуксусная кислота (5-ОИУК)) определяли, используя колонку Zorbax Eclipse Plus C18, 3,5 мкм, 2,1×150 мм ("Agilent", США); подвижная фаза: 0,1 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 24 ммоль/л  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , pH 3,55, 110 мг/л октилсульфонат натрия, 0,1 мМ ЭДТА, с добавлением 5,2 об. % ацетонитрила. Скорость потока 0,2 мл/мин, температура колонки 27°C. Детектирование по природной флуоресценции (280/340 нм). Калибровку осуществляли с помощью смеси стандартов, содержащей 10 мкМ определяемых веществ. Прием и обработку хроматограмм осуществляли с помощью программно-аппаратного комплекса Agilent OpenLab C.01.05, обработку хроматограмм — по методу внутреннего стандарта.

Статистическую обработку данных проводили согласно существующим рекомендациям. Распределение значений ряда показателей в группах не соответствовало закону нормального распределения (согласно W-критерию Шапиро-Уилка, наличие

различий между средними и медианами, а также смещение пика гистограмм), поэтому данные обрабатывали с использованием непараметрических методов с помощью пакета программ Statistica 10.0. Значения в группах сравнивали с помощью ANOVA-теста Краскела-Уоллиса. Для оценки различий количественных признаков между независимыми группами применён U-критерий Манна-Уитни. Данные представлены в виде медианы и рассеяния (25%, 75%).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Однократное введение этанола не сопровождалось значимыми изменениями уровней исследованных показателей дофаминергической системы в гипоталамусе крыс (табл. 2). Отсутствие изменений содержания дофамина при ОАИ в данной структуре головного мозга, возможно, объясняется особенностями топографии дофаминовых нейронов в ЦНС. В гипоталамусе находятся в основном серотониновые нейроны, в данный отдел мозга проецируются в основном терминали норадреналиновых нейронов и только 20% дофаминовых [18]. В то же время отмечено статистически значимое увеличение концентрации серотонина, а содержание его предшественника (5-окситриптофана) и метаболита (5-ОИУК) оставались при этом неизменными.

Моделирование ОАИ привело к определённому нарушению функционирования серотонинергической системы в гипоталамусе крыс, что может являться следствием нарушения процессов катаболизма нейромедиатора, либо ускорения его синтеза в ответ на действие этанола. Ранее сообщалось, что однократное введение этанола сопровождается усиленным выбросом катехоламинов, что частично подтверждается нашими предыдущими результатами [3, 5]. Было высказано предположение, что этанол регулирует уровни нейротрансмиттера в синапсах клеток мозга и изменяет деятельность серотонин-специфических рецепторных белков в постсинаптической мембране [19]. Этанол лучше растворяется в воде, чем в липидах, поэтому он проникает через ионные каналы цитоплазматических мембран по градиенту концентрации и изменяет метаболизм нервных клеток. Растворяясь в липидах, этанол уже при однократном приёме влияет на функции многих нейромедиаторных систем [20].

Таблица 2. Содержание нейромедиаторов, их метаболитов (нмоль/г) в гипоталамусе крыс при острой комплексной интоксикации этанолом и морфином

Группы Вещества	Контроль (1 группа, n=6)	ОАИ (2 группа, n=9)	ОМИ (3 группа, n=9)	Морфин+этанол (4 группа, n=9)	Этанол+морфин (5 группа, n=9)
Тирозин	80,748 (59,214; 97,671)	99,111 (84,957; 113,881)	124,019* (120,232; 176,301)	94,233 (88,305; 105,757)	131,694* (120,685; 137,522)
ДОФА	0,065 (0,042; 0,073)	0,066 (0,050; 0,079)	0,049 (0,037; 0,068)	0,100 (0,075; 0,135)	0,051 (0,049; 0,053)
Дофамин	3,079 (2,509; 3,101)	2,754 (2,166; 3,588)	2,152 (1,988; 2,583)	2,016*° (1,643; 2,319)	2,029* (1,858; 2,180)
3,4-ДОФУК	2,439 (1,384; 3,598)	1,311 (1,209; 3,066)	4,208* (3,894; 4,393)	4,246*° (3,191; 6,180)	3,853* (3,571; 4,612)
ГВК	0,858 (0,630; 0,956)	1,036 (0,966; 1,371)	0,568 (0,479; 0,622)	0,802° (0,504; 1,047)	0,552 (0,504; 0,677)
Норадреналин	45,405 (41,222; 50,580)	48,180 (44,002; 49,675)	40,068 (38,175; 42,927)	40,920° (37,648; 46,302)	34,709*• (31,089; 36,995)
Триптофан	39,338 (25,209; 57,168)	35,905 (33,061; 41,201)	75,039* (68,667; 91,122)	38,429 (33,835; 41,442)	73,948* (72,108; 76,603)
5-окситриптофан	0,449 (0,283; 0,781)	0,346 (0,285; 0,552)	0,903* (0,796; 1,140)	0,655 (0,360; 0,684)	0,959* (0,894; 0,986)
Серотонин	9,716 (8,213; 10,168)	11,333* (10,531; 12,136)	9,730 (9,347; 10,182)	10,724 (9,966; 11,968)	9,153* (8,703; 9,519)
5-ОИУК	2,834 (1,910; 3,101)	2,754 (2,166; 3,588)	2,152 (1,988; 2,583)	2,042 (1,658; 2,383)	2,060 (1,882; 2,263)

Примечание. Здесь и в таблицах 3, 4: \* — достоверно значимое отличие с контролем, ° — со 2-й группой, • — с 3-й группой при  $p < 0,05$ .

При ОМИ (3-я группа) в гипоталамусе наблюдался достоверно значимый рост уровней продуктов катаболизма дофамина (тирозина, 3,4-ДОФУК) и предшественников серотонина (триптофана, 5-окситриптофана) в сравнении с контролем (табл. 2). Изменения функционального состояния серотонинергической системы при этом проявлялись повышением уровней предшественников нейромедиатора при неизменном содержании последнего. Известно, что токсические эффекты наркотических средств и алкоголя многообразны, однако есть и общие звенья их воздействия, одним из которых, в частности, являются взаимосвязанные и взаимообусловленные нарушения в системе катехоламиновой регуляции и нейромедиации [7].

Комплексная интоксикация ПАВ в очередности морфин+этанол (4-я группа) сопровождалась снижением концентрации дофамина и ростом продукта его катаболизма — 3,4-ДОФУК — по сравнению с контролем в гипоталамусе (табл. 2). Это может свидетельствовать об определённом ускорении процессов распада медиатора при совместном действии ПАВ. Значения изученных показателей серотонинергической системы в гипоталамусе при комплексной интоксикации (морфин+этанол) не отличались от контроля.

В 4-й экспериментальной группе было выявлено снижение содержания дофамина, норадреналина, а также ГВК и увеличение уровня 3,4-ДОФУК в гипоталамусе по сравнению с группой, которой вводили только этанол (2-я группа). Таким образом, однократное комплексное

введение ПАВ в режиме морфин+этанол приводит к изменениям функционирования дофаминергической нейромедиаторной системы гипоталамуса посредством вероятного усиления распада дофамина, а также снижения его синтеза в изученном регионе ЦНС.

Изменение очередности введения ПАВ на этанол+морфин (5-я группа) сопровождалось статистически значимым повышением содержания тирозина, 3,4-ДОФУК, триптофана, 5-окситриптофана и снижением концентрации дофамина, а также норадреналина по сравнению с контролем в гипоталамусе экспериментальных животных (табл. 2). Данные изменения могут свидетельствовать об определённом расходовании дофамина и накоплении предшественников серотонина, а также о нарушении синтеза норадреналина в данных экспериментальных условиях. Учитывая то, что основной пул самого дофамина локализуется в стриатуме (нигростриатная и мезолимбическая проекции), префронтальной коре (мезокортикальная) и гипофизе, при определении содержания дофамина в гипоталамусе, по-видимому, мы имеем дело с сомато-дендритным освобождением медиатора, играющим важную роль в ауторегуляции дофамин-синтезирующих нейронов гипоталамуса, что согласуется с исследованиями ряда авторов [21].

У животных 5-й экспериментальной группы выявлено уменьшение концентрации норадреналина и серотонина по сравнению с группой, которой вводили только морфин, значения остальных исследованных показателей дофаминергической и серотонинергической систем в гипоталамусе были во многом схожи с таковыми при ОМИ (табл. 2).

## ОСТРАЯ КОМПЛЕКСНАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ МОРФИНОМ И ЭТАНОЛОМ

Таблица 3. Содержание нейромедиаторов, их метаболитов (нмоль/г) в среднем мозге крыс при острой комплексной интоксикации этанолом и морфином

Группы Вещества	Контроль (1 группа, n=6)	ОАИ (2 группа, n=9)	ОМИ (3 группа, n=9)	Морфин+этанол (4 группа, n=9)	Этанол+морфин (5 группа, n=9)
Тирозин	65,315 (53,539; 84,530)	85,032* (80,035; 103,854)	146,955* (108,734; 154,945)	88,249* (84,133; 90,695)	128,357* (108,841; 138,631)
ДОФА	0,054 (0,042; 0,055)	0,060 (0,055; 0,069)	0,046 (0,031; 0,053)	0,045 (0,031; 0,060)	0,052 (0,042; 0,061)
Дофамин	0,562 (0,487; 0,903)	0,720 (0,663; 0,781)	0,750 (0,619; 0,838)	0,612 (0,584; 0,903)	0,629 (0,569; 0,841)
3,4-ДОФУК	3,583 (3,255; 4,705)	4,147 (3,958; 4,573)	2,207* (1,442; 2,693)	3,849 (3,467; 4,164)	2,056 (1,846; 3,285)
ГВК	1,253 (1,102; 1,308)	0,712* (0,496; 0,950)	0,641* (0,549; 0,676)	1,064 (0,827; 1,162)	0,755* (0,590; 0,894)
Норадреналин	7,967 (6,478; 10,355)	9,788 (9,683; 10,688)	8,635 (7,808; 9,376)	10,110 (9,404; 10,652)	8,873 (8,470; 9,541)
Триптофан	37,361 (20,603; 50,613)	32,520 (30,012; 39,539)	75,696* (61,329; 89,830)	35,792 (32,712; 41,405)	70,147* (69,147; 85,623)
5-окситриптофан	0,210 (0,157; 0,275)	0,242 (0,216; 0,278)	0,400* (0,280; 0,509)	0,284 (0,259; 0,376)	0,413* (0,358; 0,503)
Серотонин	8,618 (6,207; 9,243)	9,513* (9,408; 10,635)	8,436 (7,406; 8,843)	10,427* (9,770; 11,320)	7,934 (7,616; 8,971)
5-ОИУК	7,770 (6,166; 10,901)	8,280 (7,549; 8,525)	15,478* (12,851; 15,963)	8,817 (8,079; 9,502)	13,754* (11,914; 14,533)

Уменьшение выделения норадреналина из окончаний нейронов голубого пятна в различных отделах мозга снижает общий уровень возбудимости, тонус вегетативных функций и вызывает торможение стволовых структур, что сопровождается снотворным эффектом [20].

В гипоталамусе введение этанола и морфина сопровождалось изменениями между изучаемыми группами в содержании продуктов дофамин- и серотонинергической систем, что подтверждается достоверно значимыми изменениями концентрации тирозина ( $H=25,6$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0001$ ), дофамина ( $H=12,2$ ,  $df=4$ ,  $p=0,016$ ), 3,4-ДОФУК ( $H=14,2$ ,  $df=4$ ,  $p=0,007$ ), ГВК ( $H=16,7$ ,  $df=4$ ,  $p=0,002$ ), норадреналина ( $H=18,7$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0009$ ), триптофана ( $H=29,8$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0001$ ), 5-окситриптофана ( $H=15$ ,  $df=4$ ,  $p=0,005$ ) и серотонина ( $H=15,5$ ,  $df=4$ ,  $p=0,004$ ), выявленными с помощью ANOVA-теста Краскела-Уоллиса.

Выбор среднего мозга в качестве объекта исследования обосновывался тем, что в нём содержится основное количество серотонинергических нейронов, проецирующихся практически во все отделы головного мозга, а также дофаминовые нейроны вентральной области покрышки (ВОП), чёрной субстанции. ВОП является основным источником дофаминергических проекций, направляющихся, главным образом, в стриатум, гипоталамус и префронтальную кору [18, 19, 22].

В среднем мозге с помощью критерия Краскела-Уоллиса были выявлены изменения между изучаемыми группами в содержании продуктов дофамин- и серотонинергической систем после введения алкоголя и морфина, что подтверждается достоверно значимыми изменениями уровня

тирозина ( $H=24,8$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0001$ ), 3,4-ДОФУК ( $H=20,9$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0003$ ), ГВК ( $H=13,6$ ,  $df=4$ ,  $p=0,009$ ), норадреналина ( $H=12,9$ ,  $df=4$ ,  $p=0,012$ ), триптофана ( $H=29,6$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0001$ ), 5-окситриптофана ( $H=17,9$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0013$ ), серотонина ( $H=20,9$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0003$ ) и 5-ОИУК ( $H=29,2$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0001$ ).

ОАИ (2-я группа) сопровождалась повышением концентрации тирозина и серотонина и снижением ГВК в среднем мозге экспериментальных животных по сравнению с контролем (табл. 3). Ранее было показано, что высвобождение серотонина в ядрах шва среднего мозга критически зависит от активации ауторецепторов самого нейромедиатора в них. Предполагается, что ауторецепторы серотонина не тонически ингибируют высвобождение медиатора в ядрах шва, а скорее играют роль сенсоров, которые реагируют на избыток эндогенного медиатора. Возможно, мы имеем дело с пулом медиатора, играющим ауторегуляторную роль [23].

Однократное введение морфина (3-я группа) привело к повышению концентрации предшественника дофамина (тирозина) и снижению содержания продуктов его катаболизма (3,4-ДОФУК и ГВК); отмечен рост показателей серотонинергической системы (триптофан, 5-окситриптофан, 5-ОИУК) на фоне неизменного содержания самого нейромедиатора в среднем мозге по сравнению с контролем (табл. 3). Вышеуказанные изменения могут указывать на ускорение оборота серотонина в данном отделе головного мозга при введении наркотика по сравнению с однократным воздействием алкоголя, тогда как в гипоталамусе при данных экспериментальных условиях увеличивалось содержание предшественников серотонина.

Таблица 4. Содержание нейромедиаторов, их метаболитов (нмоль/г) в мозжечке крыс при острой комплексной интоксикации этанолом и морфином

Группы Вещества	Контроль (1 группа, n=6)	ОАИ (2 группа, n=9)	ОМИ (3 группа, n=9)	Морфин+этанол (4 группа, n=9)	Этанол+морфин (5 группа, n=9)
Тирозин	70,535 (57,576; 89,969)	104,515* (90,055; 118,481)	134,024* (105,031; 174,263)	100,035* (95,510; 105,458)	124,929* (116,755; 146,311)
ДОФА	0,347 (0,295; 0,400)	0,386 (0,348; 0,482)	0,376 (0,319; 0,468)	0,334 (0,247; 0,408)	0,403 (0,301; 0,485)
Дофамин	0,133 (0,120; 0,346)	0,198 (0,179; 0,244)	0,208 (0,189; 0,279)	0,214 (0,191; 0,294)	0,246 (0,126; 0,324)
3,4-ДОФУК	0,398 (0,299; 0,400)	0,386 (0,348; 0,482)	0,376 (0,319; 0,468)	0,334 (0,247; 0,408)	0,403 (0,301; 0,485)
ГВК	0,696 (0,405; 1,179)	0,672 (0,533; 0,741)	0,648 (0,476; 0,711)	0,566 (0,519; 0,665)	0,654 (0,491; 0,971)
Норадреналин	4,796 (3,576; 5,371)	7,436* (6,664; 7,576)	6,527 (5,795; 7,533)	6,906* (6,486; 7,316)	5,981 (5,114; 6,329)
Триптофан	35,070 (22,294; 44,600)	36,419 (31,458; 39,825)	76,649* (61,097; 103,635)	37,874 (36,455; 41,946)	68,110* (62,418; 76,265)
5-окситриптофан	0,024 (0,018; 0,024)	0,027 (0,023; 0,031)	0,039 (0,027; 0,056)	0,040 (0,021; 0,045)	0,026 (0,021; 0,039)
Серотонин	0,193 (0,110; 0,200)	0,245 (0,185; 0,297)	0,307* (0,259; 0,358)	0,195 (0,188; 0,244)	0,221 (0,210; 0,256)
5-ОИУК	0,327 (0,320; 0,380)	0,269 (0,201; 0,281)	0,581* (0,457; 0,663)	0,338 (0,269; 0,432)	0,481* (0,359; 0,590)

При комплексной интоксикации ПАВ в очерёдности морфин+этанол (4-я группа) не наблюдалось существенных изменений показателей дофаминергической системы в среднем мозге экспериментальных животных как в сравнении с контролем, так и с особями 2-й группы. Следует отметить только увеличение концентрации тирозина по сравнению с контрольными значениями в данных условиях (табл. 3). Известно, что тирозин является незаменимой аминокислотой, проходящей через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Её увеличение при однократном совместном морфин-алкогольном воздействии может быть следствием трансформации пула свободных аминокислот или изменения транспорта данной аминокислоты через ГЭБ.

Изменения в функционировании серотонинергической нейромедиаторной системы среднего мозга при сочетанной морфин-алкогольной интоксикации (4-я группа) проявлялись статистически значимым повышением уровня самого нейромедиатора в сравнении с контролем, что может свидетельствовать об активизации процессов синтеза и накопления серотонина в данном отделе ЦНС при последовательном введении наркотика и этанола экспериментальным животным, что также наблюдалось при действии только алкоголя в среднем мозге и гипоталамусе (2-я группа).

Изменение очерёдности введения ПАВ этанол+морфин (5-я группа) сопровождалось статистически значимым ростом концентрации тирозина, триптофана, 5-окситриптофана, 5-ОИУК и снижением уровня ГВК в сравнении с контролем в среднем мозге (табл. 3). Уменьшение концентрации ГВК наблюдалось также

при ОАИ и ОМИ, но отсутствовало при комплексном введении ПАВ в режиме морфин+этанол (табл. 3). Введение морфина после этанола (5-я группа) сопровождалось рядом изменений показателей серотонинергической системы в среднем мозге, которые также наблюдались при действии только морфина (3-я группа), что, в определенной степени, можно расценивать как признак усиления оборота катехоламина в данных экспериментальных условиях.

Необходимо отметить, что общей закономерностью в динамике изменения исследованных показателей дофаминергической и серотонинергической систем в среднем мозге при комплексной интоксикации морфином и этанолом было определённое превалирование метаболических эффектов последнего вводимого вещества.

Хорошо известна связь мозжечка со многими отделами головного мозга. Он является не только центром координации движений и равновесия, но и принимает непосредственное участие в регуляции многих других функций организма. Прямые гипоталамо-церебеллярные проекции мозжечка берут начало от нейронов ядер гипоталамуса и заканчиваются на нейронах мозжечковых ядер, а в его кору поступают в качестве многослойных волокон. Прямые мозжечково-гипоталамические пути выхода из ядер мозжечка могут достигать нейронов ядер гипоталамуса [19].

Однократное введение этанола (2-я группа) приводило к достоверно значимому росту концентрации норадреналина и тирозина в сравнении с контролем при неизменном уровне других исследованных параметров дофаминергической и серотонинергической систем в мозжечке (табл. 4).

При ОМИ (3-я группа) в данном отделе ЦНС статистически значимо возростал уровень тирозина, триптофана, серотонина, а также 5-ОИУК по сравнению с контрольной группой (табл. 4). Морфин, в отличие от этанола, существенно меняет состояние серотонинергической системы в мозжечке и способствует ускорению оборота серотонина, чего не наблюдалось при действии алкоголя. Избыток серотонина может быть очень вреден для организма. Симптомами серотонинового синдрома являются возбуждение, галлюцинации, повышение температуры тела, тахикардия, потливость, потеря координации, судороги, тошнота, рвота, диарея и изменения кровяного давления. Известно, что повышенный уровень серотонина в цельной крови коррелирует с проявлениями агрессии и насилия, а сниженный — с депрессивными расстройствами разной степени тяжести [24, 25].

Введение морфина и последующего этанола (4-я группа) приводило к росту содержания тирозина и норадреналина в мозжечке по сравнению с контрольными значениями (табл. 4). Эффекты совместного введения ПАВ в режиме морфин+этанол на изученные показатели в данном отделе головного мозга, в целом, аналогичны таковым при ОАИ.

Введение ПАВ в очередности этанол+морфин (5-я группа) сопровождалось увеличением концентрации тирозина, триптофана и 5-ОИУК в мозжечке по сравнению с контролем (табл. 4). Данные нейромедиаторные нарушения указывают на вероятное ускорение процессов распада серотонина в обсуждаемых экспериментальных условиях. Известно, что серотонинергическая система головного мозга имеет непосредственное отношение к формированию депрессивных состояний и участвует в контроле деятельности других медиаторных структур, прежде всего ГАМК-ергической, имеющих отношение к коррекции агрессивного и импульсивного поведения [25].

В мозжечке после введения этанола и морфина наблюдались изменения между изучаемыми группами в содержании продуктов дофамин- и серотонинергической систем, что подтверждается достоверно значимыми сдвигами тирозина ( $H=22,3$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0002$ ), норадреналина ( $H=11,9$ ,  $df=4$ ,  $p=0,018$ ), триптофана ( $H=30,2$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0001$ ), серотонина ( $H=12,9$ ,  $df=4$ ,  $p=0,012$ ) и 5-ОИУК ( $H=20,4$ ,  $df=4$ ,  $p=0,0004$ ), выявленными с помощью ANOVA-теста Краскела-Уоллиса.

Таким образом, острая алкогольная интоксикация сопровождалась увеличением концентрации катехоламинов (серотонина, норадреналина) в исследуемых отделах мозга. При однократном введении морфина были выявлены процессы ускорения оборота серотонина в мозжечке и среднем мозге, а также изменение концентрации продуктов метаболизма дофамина. Отклонения показателей дофаминергической и серотонинергической систем в мозжечке и среднем мозге при комплексной морфин-алкогольной интоксикации во многом были схожи с действием только этанола (ОАИ), однако в гипоталамусе в данных экспериментальных

условиях выявлены процессы распада дофамина и снижение концентрации норадреналина, чего не наблюдалось при ОАИ. При изменении очередности введения ПАВ (этанол+морфин) в гипоталамусе показатели дофаминергической системы были схожи с морфин-алкогольной интоксикацией, при этом концентрация серотонина и норадреналина была ниже, чем при действии только морфина. Из приведённых данных видно, что совместное действие двух ПАВ во многом соответствует эффекту последнего вводимого вещества, однако имеются особенности изменений показателей дофаминергической и серотонинергической систем, которые не наблюдались при отдельном действии этанола и морфина.

## **ВЫВОДЫ**

1. Острая алкогольная интоксикация сопровождалась незначительными изменениями показателей дофаминергической системы в изученных отделах мозга. При этом отмечается повышение уровня серотонина в среднем мозге и гипоталамусе крыс.
2. При однократном введении морфина в среднем мозге снижалось содержание продуктов катаболизма дофамина на фоне признаков ускорения оборота серотонина в среднем мозге и мозжечке экспериментальных животных.
3. Введение ПАВ в очередности морфин+этанол приводило к увеличению уровня серотонина в среднем мозге, тогда как при интоксикации в режиме этанол+морфин наблюдались признаки ускорения оборота данного нейромедиатора, проявляющиеся увеличением концентрации продуктов его метаболизма.
4. При комплексной интоксикации этанолом и морфином выявлено снижение содержания дофамина только в гипоталамусе, что не зависело от очередности введения ПАВ.
5. Нейромедиаторные изменения при комплексной интоксикации морфином и этанолом отличаются от таковых при введении одного ПАВ и во многом соответствуют эффектам последнего вводимого вещества.

## **ФИНАНСИРОВАНИЕ**

Финансовая поддержка осуществлялась за счёт республиканского бюджета РБ.

## **СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ**

Все опыты были проведены с учётом “Правил и норм гуманного обращения с биологическими объектами исследований” (протокол №1 от 30.01.2018 г.) Гродненского государственного медицинского университета на заседании комитета по биомедицинской этике.

## **КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

- Внуков В.В., Черникова Н.П., Малютина А.А., Ананян Л.Ф., Панченко Л.Ф. (2013) Журнал фундаментальной медицины и биологии, **3**, 4-12. [Vnuikov V.V., Chernikova N.P., Milutina A.A., Ananyan L.F., Panchenko L.F. (2013) Journal of Fundamental Medicine and Biology, **3**, 4-12.]
- Guan Y., Xiao C., Krnjevic K., Xie G., Zuo W., Ye J.H. (2010) J. Pharmacol. Exp. Ther., **341**(1), 33-42.
- Лелевич С.В. (2010) Нейрохимия, **4**(2), 137-141. [Lelevich S.V. (2010) Neurochemistry, **4**(2), 137-141.]
- Величко И.М., Лелевич С.В., Лелевич В.В. (2019) Журнал гродн. гос. мед. университета, **17**(5), 523-529. [Velichko I.M., Lelevich S.V., Lelevich V.V. (2019) Journal of Grodno State Medical University, **17**(5), 523-529.]
- Лелевич С.В. (2015) Центральные и периферические механизмы алкогольной и морфиновой интоксикации. Гродно: Гродн. гос. мед. ун-т, 252 с. [Lelevich S.V. (2015) Central and peripheral mechanisms of alcohol and morphine intoxication. Grodno State Medical University, 252 p.]
- Лелевич С.В., Величко И.М., Лелевич В.В. (2017) Журнал гродн. гос. мед. университета, **15**(4), 375-380. [Velichko I.M., Lelevich S.V., Lelevich V.V. (2017) Journal of Grodno State Medical University, **15**(4), 375-380.]
- Анохина И.П., Коган М.Б., Меньковская И.В., Реуцкова Е.В., Станишевская А.В. (1990) Фармакология и токсикология, **53**(4), 4-9. [Anohina I.P., Kogan M.B., Men'kovskaya I.V., Reshchikova E.V., Stanishevskaya A.V. (1990) Pharmacology and Toxicology, **53**(4), 4-9.]
- Курсов С.В., Михневич К.Г., Кривобок В.И. (2012) Медицина неотложных состояний, **46-47**(7-8), 22-35. [Kurosov S.V., Mihnevich K.G., Krivobok V.I. (2012) Emergency Medicine, **46-47**(7-8), 22-35.]
- Востриков В.В., Павленко В.П., Шабанов П.Д. (2004) Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, **3**(3), 18-55. [Vostrikov V.V., Pavlenko V.P., Shabanov P.D. (2004) Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy, **3**(3), 18-55.]
- Бохан Н.А., Благов Л.Н., Кургак Д.И. (2012) Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова, **112**(5), 17-23. [Bohan N.A., Blagov L.N., Kurgak D.I. (2012) S.S. Korsakov Journal of Neurology and Psychiatry, **112**(5), 17-23.]
- Вишнева С.А., Бисалиев Р.В. (2009) Наркология, **2**, 62-71. [Veshneva S.A., Bisaliev R.V. (2009) Narcology, **2**, 62-71.]
- Jalili C., Salahshoor M.R., Khademi F., Jalili P., Roshankhan S.H. (2014) Int. J. Morphol., **32**, 761-766.
- Беловицкий О.В. (2010) Таврический медико-биологический вестник, **13**(1), 13-16. [Belovitsky O.V. (2010) Tavrichesky medical and biological bulletin, **13**(1), 13-16.]
- Шугеев С.В., Жук Ю.М. (2005) Проблемы экспертизы в медицине, **5**(19), 30-33. [Shigeev S.V., Zhuk Yu.M. (2005) Problems of Expertise in Medicine, **5**(19), 30-33.]
- Rogers A.H., Shepherd J.M., Paulus D.J., Orr M.F., Ditre J.W., Bakhshaie J., Zvolensky M.J. (2019) Int. J. Behav. Med., **26**, 569-575.
- Zhang Z., Morse A.C., Koob G.F., Schulteis G. (2007) Alcohol Clin. Exp. Res., **31**(11) 1811-1819.
- Гуща В.К., Лелевич С.В. (2017) Журнал гродн. гос. мед. университета, **15**(5), 521-526. [Gushcha V.K., Lelevich S.V. (2017) Journal of Grodno State Medical University, **15**(5), 521-526.]
- Августинович Д.Ф., Алексеенко О.В., Бакитановская И.В., Корякина Л.А., Липина Т.В., Тендитник М.В., Бондарь Н.П., Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н. (2004) Успехи физиологических наук, **35**(4), 19-40. [Avgustinovich D.F., Alekseyenko O.V., Bakshtanovskaya I.V., Koryakina L.A., Lipina N.V., Tenditnik M.V., Bondar N.P., Kovalenko I.L., Kudryavtseva N.N. (2004) Advances in Physiological Sciences, **35**(4), 19-40.]
- Brand I., Fliegel S., Spanagel R. (2013) Alcohol. Clin. Exp. Res., **37**(12), 2048-2057.
- Осколок Л.Н., Терентьев А.А. (2011) Фундаментальные исследования, **10**(2), 340-344. [Oskolok L.N., Terentyev A.A. (2011) Basic Research, **10**(2), 340-344.]
- Stagkourakis S., Kim H., Lyons D.J., Broberger C. (2016) Cell Rep., **15**(4), 735-747.
- Ивлиев Н.Ю. (2010) Журнал высшей нервной деятельности, **60**(3), 259-278. [Ivliev N.Yu. (2010) Journal of Higher Nervous Activity, **60**(3), 259-278.]
- Adella A., Celada P., Abellán M.T., Artigas F. (2002) Brain Research Reviews, **39**(2-3), 154-180.
- Bassareo V., Talani G., Frau R., Porru S., Rosas M., Kasture S.B., Peana A.T., Loi E., Sanna E., Acquas E. (2019) Front. Neurosci., **13**, 545-550.
- Lovinger D.M. (1997) Alcohol Health Res. World, **21**(2), 114-120.

Поступила в редакцию: 26. 11. 2020.  
 После доработки: 25. 03. 2021.  
 Принята к печати: 07. 06. 2021.

NEUROTRANSMITTER CHANGES IN THE RAT BRAIN UNDER COMBINED INTOXICATION  
INDUCED BY ALCOHOL AND MORPHINE

*I.M. Vialichko\*, S.V. Lelevich, V.V. Lelevich, E.M. Doroshenko, V.Yu. Smirnov*

Grodno State Medical University,  
80 Gorkogo str., Grodno, 230000 Belarus; \*e-mail: velichko.ilona@mail.ru

We investigated the levels of biogenic monoamines and their metabolites in the rat hypothalamus, midbrain and cerebellum in acute complex intoxication with morphine and alcohol. The distinctive features of neurotransmitter disorders in various parts of the rat brain under a single exposure to ethanol and morphine, as well as the differences between acute morphine-alcohol and alcohol-morphine intoxication were established. Complex intoxication with alcohol and morphine resulted in signs of dopamine consumption only in the hypothalamus, regardless of the order of alcohol and morphine administration. Under conditions of alcohol-morphine intoxication an increase in the level of metabolites of the serotonergic system was noted in the investigated parts of the brain. In the midbrain and cerebellum the manifestation of combined action of ethanol and morphine is mainly determined by the effect of the last of the administered substances. There are features of changes in the indices of the dopaminergic and serotonergic systems in these experimental conditions, confirmed by the processes of dopamine catabolism and a decrease in the norepinephrine and serotonin concentration in the hypothalamus, which are not observed under individual action of ethanol and morphine.

**Key words:** ethanol; morphine; hypothalamus; midbrain; cerebellum; dopamine; serotonin; norepinephrine

**Funding.** The work was performed using the budgetary funds of the Republic of Belarus.

Received: 26.11.2020, revised: 25.03.2021, accepted: 07.06.2021.