

УДК 612.396.13: 612.35: 547.262: 577.169)- 092.9

МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ В ПЕЧЕНИ КРЫС И ЕГО ГОРМОНАЛЬНАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

С.В. Лелевич, к.м.н.; А.Н. Бородинский, к.б.н.

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси

Исследовано состояние метаболизма глюкозы в печени и его гормональная регуляция при однократном введении различных доз этанола. Выявлены изменения содержания субстратов углеводного обмена в ткани печени, а также уровней гормонов в сыворотке крови. Выраженность нарушений при этом определяется дозой вводимого алкоголя.

Ключевые слова: алкоголь, глюкоза, гликоген, инсулин, тироксин.

The glucose metabolism in rat liver and its hormonal regulation were studied after the acute administration of the different doses of ethanol. The reliable changes in the substrates contents of the hepatic carbohydrate metabolism were determined, as well as in the levels of hormones in serum. The metabolic changes noted depended upon the doses of the ethanol injected.

Key words: alcohol, glucose, glycogen, insulin, thyroxin.

Алкоголь оказывает разностороннее влияние на организм. Его повреждающее действие обусловлено нарушением клеточного метаболизма, отклонениями функционирования при этом многих органов и систем организма [9, 10, 11]. Потребление алкоголя является одним из ведущих этиологических факторов в развитии эндокринных нарушений. Алкоголизм – одна из причин острых и хронических заболеваний поджелудочной железы [1, 20]. Однократное введение этанола (2,5-3 г/кг) приводит к понижению в сыворотке крыс концентрации инсулина [18]. Полагают, что данный эффект опосредуется угнетением функций β -клеток. В то же время функция α -клеток и уровень глюкагона в крови повышается только под действием больших доз алкоголя. Нагрузка этанолом (3 г/кг) при голодании также понижает содержание инсулина в крови крыс, что, как предполагают, вызвано падением уровня гликемии [18]. Алкоголь, вводимый внутрижелудочно или интрадуоденально, стимулирует базальную и индуцированную гормонами экзокринную функцию поджелудочной железы [20]. Полагают, что данный эффект реализуется рефлекторно или с участием гормонов ЖКТ. Внутривенное введение алкоголя подавляет стимулирующее действие секретина и холецистокинина на функции поджелудочной железы [20]. Это может быть связано с его влиянием на специфические рецепторы данного органа. В результате воздействия алкоголя на щитовидную железу нарушается процесс синтеза тироксина и развивается гипотиреоз, происходит снижение концентрации в сыворотке крови тироксинсвязывающего глобулина и трийодтиронина [1].

Метаболизм глюкозы – комплексный физиологический процесс, в регуляцию которого вовлечен ряд гормонов. Нарушения углеводно-энергетического обмена, вызванные употреблением этанола, проявляются в виде изменения уровня гликемии, снижения глюконеогенеза, подавления синтеза гликогена [2, 21]. Последствием этих эффектов являются изменения уровня гормонов, контролирующих углеводный обмен. Этанол, поступающий в организм в токсических дозах, вызывает изменения в железах внутренней секреции посредством влияния на ЦНС, релизинг-факторы и уровень цАМФ [1].

Целью данной работы явилось изучение метаболизма глюкозы в печени крыс и его гормональной регуляции при острой алкогольной интоксикации.

Материалы и методы

В эксперименте использовалось 29 белых беспородных крыс самцов, массой 180-220 грамм. Изучение литературных источников, содержащих данные о влиянии однократного введения алкоголя на обмен углеводов [13, 14, 19], позволило остановиться на дозах 1, 2,5 и 5 г/кг этанола. Перед декапитацией все животные 12 часов содержались без пищи при свободном доступе к воде. Особям первой экспериментальной группы (контроль, 7 животных) внутрибрюшинно вводили 1 мл физиологического раствора NaCl, второй (7 животных) – 10% раствор этанола в дозе 1 г/кг, третьей (7 животных) – 25% раствор этанола в дозе 2,5 г/кг и четвертой (8 животных) – 25% раствор этанола в количестве 5 г/кг массы тела. Декапитацию производили через 1 час после инъекций. Содержание

субстратов – глюкозы [6], глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) [16], пирувата [8], лактата [3] и гликогена [6] – определяли в гомогенатах, для приготовления которых использовали ткани, замороженные в жидком азоте. В сыворотке крови определяли концентрацию глюкозы и содержание гормонов – инсулина, трийодтиронина (T_3), тироксина (T_4) и тиреотропного гормона гипофиза (ТТГ). Уровень гликемии определяли с помощью стандартных наборов, используя глюкозооксидазный метод. Для определения гормонов в сыворотке крови использовали наборы реактивов Института биоорганической химии НАН Беларуси, в основе которых лежит метод радиоиммунологического анализа. Определение инсулина проводили по принципу «конкуренции» между меченым йодом-125 инсулином и инсулином калибровочной пробы за связывание со специфическими антителами. Фракции свободного и связанного с антителами инсулина разделяли с помощью полиэтиленгликоля. Концентрацию гормона в исследуемых пробах определяли по калибровочной кривой зависимости активности связанного [^{125}I]-инсулина от концентрации инсулина в калибровочных пробах. Счет радиоактивности проводили на установке для радиоиммунологического анализа «Иммунотест» (Медиас – Москва). В ходе определения содержания в сыворотке крови T_3 , T_4 и ТТГ использовали методы, основанные на прямом определении гормонов в малом объеме (0,1 мл) сыворотки крови.

Результаты исследований обрабатывались методом вариационной статистики для больших и малых выборок с вычислением средних арифметических (M) и стандартных ошибок для M (m). Достоверность различий в группах оценивали по t -критерию Стьюдента. Различия считались достоверными при $p < 0,05$. Обработка результатов проводилась с применением пакета статистических программ Microsoft Excel 2000.

Результаты и обсуждение

Введение этанола в дозе 1 г/кг массы тела не изменяет уровень глюкозы в печени по сравнению с контрольной группой (рис.). Это согласуется со стабильным содержанием здесь гликогена и неизменным профилем гликемии в данных экспериментальных условиях (табл.). Назначение алкоголя в аналогичной дозе не оказывает влияния на уровень глюкозы и в различных отделах головного мозга крыс [4], что указывает на незначительные отклонения метаболизма этого субстрата в различных тканях на фоне введения малой дозы этанола. В то же время содержание остальных изученных субстратов гликолиза в печени животных 2-ой группы статистически значимо снижается

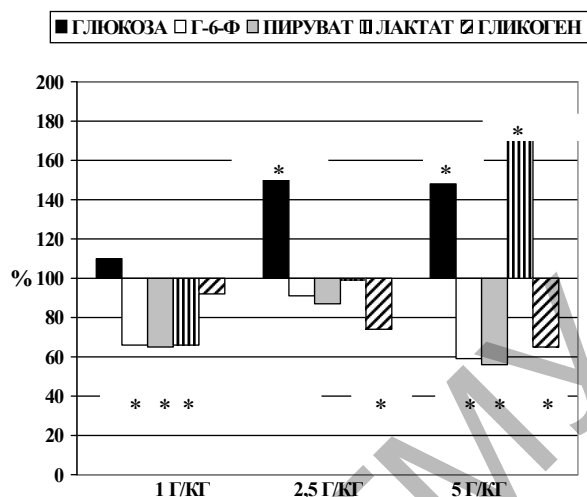


Рис. Содержание субстратов углеводного обмена в печени крыс при острой морфиневой интоксикации

(рис.). Уровень Г-6-Ф составляет 66% от контрольных значений, пирувата – 65%, а лактата – 66%. Выявленный эффект, возможно, связан с ингибированием активности некоторых ферментов данного метаболического пути и частично подтверждает ранее полученные данные [15]. Еще одной причиной выявленных отклонений может являться гормональный дисбаланс, развивающийся при введении малой дозы этанола. Уровень инсулина в сыворотке крови животных 2-ой группы понижается и составляет 62 % от контрольных значений (табл.). Данный эффект этанола, вероятно, реализуется посредством угнетения функций β -клеток, что приводит к нарушению образования цАМФ и перераспределению ионов Ca^{2+} в клетках поджелудочной железы [17]. Несмотря на снижение уровня одного из главных регуляторов метаболизма глюкозы в организме – инсулина, ее уровень в печеночной ткани у животных 2-ой группы остается неизменным. Это, на наш взгляд, объясняется стабильным уровнем гликемии у крыс, а также отсутствием гликолитического эффекта малой дозы этанола. Вероятно, алкоголь, введенный в количестве 1 г/кг, не оказывает выраженного эффекта на интегральный механизм регуляции метаболизма глюкозы в организме, который мог бы изменить ее концентрацию в ткани печени. Функциональная активность щитовидной железы на фоне

Таблица. Содержание глюкозы и гормонов в сыворотке крыс при острой алкогольной интоксикации.

| Показатель | Экспериментальные группы | | | |
|-------------------|--------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| | 1-ая группа контроль | 2-ая группа 1 г/кг | 3-я группа 2,5 г/кг | 4-ая группа 5 г/кг |
| Глюкоза (ммоль/л) | 5,23±0,63 | 5,39±0,46 | 7,29±0,73* | 7,36±0,74* |
| Инсулин (пмоль/л) | 160,9±18,16 | 100,6±9,38* | 108,8±11,04* | 109,4±11,31* |
| T_4 (нмоль/л) | 68,09±6,43 | 77,5±6,98 | 93,6±9,06* | 96,5±9,27* |
| T_3 (нмоль/л) | 2,70±0,34 | 2,85±0,26 | 2,57±0,18 | 2,31±0,29 |
| ТТГ (мМЕ/л) | 0,39±0,041 | 0,46±0,056 | 0,88±0,083*е | 0,91±0,098*е |

Примечание: * - статистически значимые различия с 1-ой группой;
е - статистически значимые различия со 2-ой группой.

слабовыраженной алкогольной интоксикации существенно не изменяется, на что указывает стабильный уровень T_4 , T_3 и ТТГ в сыворотке (табл.).

Назначение этанола в дозе 2,5 г/кг приводит к увеличению в печени уровня глюкозы (рис.). Данный эффект алкоголя, очевидно, является результатом действия нескольких факторов. Во-первых, снижается уровень гликогена в ткани печени, что указывает на развитие гликогенолитического эффекта. Во-вторых, у животных 3-ей экспериментальной группы развивается гипергликемия (табл.). Хорошо известно о высокой проницаемости мембран гепатоцитов для глюкозы. Вследствие этого внутриклеточная концентрация данного субстрата в печени обычно достаточно близка к таковой во внеклеточном пространстве [7]. Схожие изменения содержания глюкозы при введении алкоголя в дозе 2,5 г/кг отмечаются в головном мозге экспериментальных животных [4]. Это, вероятно, связано с замедлением ее утилизации при усиленном поступлении глюкозы из крови. Концентрация других изученных субстратов гликолиза в печени – Г-6-Ф, пирувата и лактата – не отличается при этом от значений контрольной группы (рис.). Введение этанола в средней дозе сопровождается нарушениями эндокринной деятельности щитовидной и поджелудочной желез. Концентрация инсулина несколько повышается в сравнении с предыдущей экспериментальной группой, но продолжает оставаться ниже контрольного уровня (табл.). Это, наряду с прочими факторами, может являться причиной развития гипергликемии и увеличения уровня глюкозы в печени животных 3-ей группы. Концентрация T_4 при этом повышается на 37% по сравнению с контролем. С данными изменениями согласуется увеличение в сыворотке крови содержания ТТГ (табл.).

Введение этанола в максимальной дозе (5 г/кг) сопровождается нарушениями метаболизма глюкозы в печени, которые отличаются от таковых при назначении меньших доз алкоголя. Уровень глюкозы превышает при этом контрольные значения на 48% (рис.). Это согласуется с высоким профилем гликемии, значения которого у животных 4-ой группы выше не только контроля (на 41%), но и показателей двух других групп. Кроме этого, тяжелая алкогольная интоксикация обладает наиболее выраженным гликогенолитическим эффектом, на что указывает значительное снижение уровня данного полисахарида (рис.). Активация процессов распада гликогена при этом может реализоваться как через увеличение активности ферментов катаболизма данного субстрата, так и через механизм стимулирования эндокринной деятельности

щитовидной железы. Концентрация глюкозы в различных отделах головного мозга крыс при введении 5 г/кг этанола, так же, как и печени, повышена [4]. Однако на фоне выраженной алкогольной интоксикации отмечаются различия по содержанию данного субстрата в некоторых образованиях головного мозга. Это, в известной степени, может отражать различную скорость метаболизма глюкозы в отделах мозга при алкоголизации. У животных 4-ой группы отмечается снижение содержания Г-6-Ф и пирувата в печени (рис.). Понижение уровня Г-6-Ф в данных условиях может быть связано с ингибирующим эффектом алкоголя на активность некоторых ферментов глюконеогенеза. Так, назначение этанола в аналогичной дозе приводит к резкому торможению активности глюкозо-6-фосфатазы в печени крыс [15]. В то же время у животных 4-ой группы статистически значимо по сравнению с контролем увеличивается уровень лактата (рис.). При этом резко возрастает отношение лактат/пируват, что указывает на формирование анаэробной ориентации метаболизма глюкозы на фоне выраженной алкогольной интоксикации. Введение этанола в дозе 5 г/кг приводит к изменению гормонального фона в сыворотке крови животных (табл.). Так, у особей 4-ой группы увеличивается уровень T_4 и ТТГ. Причем, изменение концентрации данных гормонов является наиболее выраженным для всех экспериментальных групп. Следовательно, можно говорить о существовании дозозависимого эффекта однократного назначения этанола на содержание T_4 в сыворотке крови. Концентрация T_3 при этом не отличается от контрольного уровня. Данная избирательность в действии этанола на гормоны щитовидной железы, вероятно, объясняется некоторыми особенностями их метаболизма в организме. Известно, что основное количество тиреоидного гормона в крови приходится на тироксин, концентрация которого в норме намного превышает уровень T_3 [12]. Однократное введение этанола, посредством влияния на ЦНС, приводит сначала к стимуляции выработки ТТГ гипофизом, что, в свою очередь, потенцирует секрецию тироксина. В ткани щитовидной железы при этом, вероятно, еще не развиваются изменения, следствием которых могло бы быть увеличение уровня обоих тиреоидных гормонов. Схожие изменения эндокринной деятельности щитовидной железы наблюдаются при моделировании острой морфиновой интоксикации [5]. Введение наркотика в малых и средних дозах сопровождается незначительным изменением уровня T_3 в сыворотке крови крыс, концентрация T_4 при этом значительно превышает контрольный уровень, что согласуется

с повышением содержания в крови ТТГ. Введение морфина в большой дозе приводит к увеличению концентрации обоих тиреоидных гормонов. В ткани щитовидной железы при этом развиваются выраженные деструктивные изменения. Содержание инсулина в крови при введении 5 г/кг этанола не отличается от такового у особей 3-ей группы, оставаясь ниже контрольного уровня на 32% (табл.).

Таким образом, острая алкогольная интоксикация сопровождается нарушениями метаболизма глюкозы в печени и его гормональной регуляции. Введение этанола в дозе 1 г/кг не изменяет содержания глюкозы в печени, что согласуется со стабильным уровнем гликемии и содержанием гликогена. Концентрация инсулина при этом ниже контрольных значений, а уровень тиреоидных гормонов не отличается от таковых. Алкогольная интоксикация средней степени несколько меняет состояние метаболизма глюкозы в печени по сравнению с предыдущей экспериментальной группой. Проявлением этого является увеличение содержания глюкозы в печени, что, вероятно, связано с ростом уровня гликемии и развитием гликогенолитического эффекта. Уровень инсулина при этом продолжает оставаться ниже контроля, а концентрация T_4 и ТТГ увеличивается. Это, при прочих условиях, может являться причиной увеличения уровня гликемии и содержания глюкозы в печени. Введение алкоголя в дозе 5 г/кг еще более потенцирует гликогенолитический эффект, а также инициирует формирование анаэробной ориентации метаболизма глюкозы в печени. Дозозависимый эффект острой алкогольной интоксикации проявляется также в отношении T_4 , уровень которого в крови растет пропорционально увеличению дозы вводимого этанола.

Заключение

Резюмируя полученные в ходе исследования результаты, можно говорить о несомненном влиянии гормональных нарушений при однократном введении этанола на ключевые процессы метаболизма глюкозы в печени крыс. При этом затрагиваются основные звенья обмена данного субстрата – содержание в ткани, уровень в крови, а также концентрация основного депонирующего метаболита – гликогена. Все это, безусловно, дополняет данные о многочисленности и разносторонности эффектов этанола и создает предпосылки к разработке комплексных, научно-обоснованных подходов метаболической коррекции при алкогольной интоксикации.

Литература

1. Афендикова А.П., Боднар П.Н. // Врачебное дело. 1987. № 6. С. 16-20.
2. Грабовска-Гибнер Е., Стасно И., Шукальски Б. // Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej. 1979. Т.33, №2. С.197-219.
3. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. – Минск: Беларусь, 1982. – 366 с.
4. Лелевич В.В. // Автореф. дисс. ... докт. мед. наук: 14.00.45 / НИИ Наркологии МЗ РФ. – Москва, 1992. – 38 с.
5. Лелевич С.В. // Автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 03.00.04 / БГМУ. – Минск, 2005. – 24 с.
6. Мильман Л.С., Юровицкий Ю.Г., Ермолаева Л.П. // Методы биологии развития. – М.: Наука, 1974. – С. 415-433.
7. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. – М.: Мир, 1977. – 407 с.
8. Прохорова Ж.И. Методы биохимических исследований. – Л., 1982. – 272 с.
9. Рослый И.М., Абрамов С.В., Водолажская М.Г., Шуляк Ю.А. // Вопросы наркологии. 2005. № 1. С. 59-67.
10. Рослый И.М., Абрамов С.В., Агаронов В.Р., Рожкова Е.С., Шуляк Ю.А. // Вопросы наркологии. 2004. № 5. С. 46-56.
11. Стрелец Н.В., Уткин С.И. // Наркология. 2005. № 6. С. 20-28.
12. Теппермен Дж., Теппермен Х. Физиология обмена веществ и эндокринной системы. – М.: Мир, 1989. – 653 с.
13. Ai Hua Bo, Cui Shi Tian, Gui Ping Xue et al. // World Chin J Dig. 2001. Vol. 9, № 2. P. 157-160.
14. Duruibe V., Tejwani G. et. al. // Molec. Pharmacol. 1982. Vol.22, №4. P.620-625.
15. Duruibe V., Tejwani G.A. // Molec. Pharmacol. 1981. Vol. 3, № 3. P. 621-630.
16. Hohorst H., Krentz F., Bucher T. // Biochem. Ztschrft. – 1959. – Bd. 332, № 1. – P. 18-46.
17. Izumihara Yamato, Koyama Hirochi, Muracami Tetsuo // J. Jap. Diabet. Soc. 1984. Vol. 27, № 9. P. 1017-1023.
18. Potter D., Chin C., Rowland J. // J. Stud. Alc. 1980. Vol.41, №12. P.814-815.
19. Siler Scott Q., Neese Richard A., Christiansen Mark P. // Amer. J. Physiol. 1998. Vol. 275, № 5. P. 987-997.
20. Singer M. // Mech. Gastrointest. Motil. And Secr. Proc. N. Y. London. 1984. P. 281-286.
21. Ramakrishnan S., Prassana C.V., Balasudramanian A. // Indian J. Biochem. and Biophys. 1976. Vol. 13, № 1. P. 49-51.

Resume

GLUCOSE METABOLISM IN RAT LIVER AND ITS HORMONAL REGULATION UNDER ACUTE ALHOGOL INTOXICATION

S.V. Lelevich, A.N. Borodinsky
Grodno State Medical University

Ministry of Public Health of the Republic of Belarus

The ethanol administration in the dose of 1 g/kg doesn't change the hepatic glucose metabolism and its hormonal regulation. When the dose of ethanol increased to 2,5 g/kg the rise in the glucose level was observed in liver and serum, followed by the glycogenolytic effect at the same time, the insulin level decreased, and T and TTH increased. The ethanol administration in the dose of 5 g/kg caused the potentiation of glycogenolytic effect compared to the lower dose, and shifted hepatic glycolysis to anaerobic direction.

Поступила 16.01.07