

Министерство здравоохранения БССР
Минский ордена Трудового Красного Знамени
государственный медицинский институт

На правах рукописи

ЛЕЛЕВИЧ

Владимир Валерьянович

УДК 613.816:577.154.5

ОСОБЕННОСТИ НАЧАЛЬНЫХ РЕАКЦИЙ ГЛИКОЛИЗА
В ПЕЧЕНИ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ
МОТИВАЦИЕЙ

03.00.04 — биохимия

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Минск — 1984

Работа выполнена на кафедре биоорганической и биологической химии Гродненского государственного медицинского института.

Научный руководитель:

Кандидат медицинских наук, доцент Н. К. ЛУКАШИК.

Научный консультант:

Заслуженный деятель науки БССР, член-корреспондент АН БССР, доктор медицинских наук, профессор Ю. М. ОСТРОВСКИЙ

Официальные оппоненты:

Доктор биологических наук, профессор П. А. СЫТИНСКИЙ

Доктор медицинских наук, профессор В. Г. КОЛБ

Ведущее учреждение: Институт питания АМН СССР.

Защита диссертации состоится « 6 » марта 1984 г.

часов на заседании специализированного Совета К 077.01.02. по присуждению ученой степени кандидата медицинских наук в Минском медицинском институте (220798, ГСП, проспект им. газеты «Правда», 13).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Минского медицинского института.

Автореферат разослан «22»

1984 г.

Ученый секретарь
специализированного Совета
кандидат биологических наук

А. Н. СТОЖАРОВ

Актуальность проблемы: Одной из актуальных проблем современной медицины является борьба с алкоголизмом. По частоте возникновения он занимает одно из первых мест среди заболеваний, поражающих организм человека (Стрельчук, 1973; Bourson, 1975). Отмечается выраженная тенденция к увеличению роста алкоголизма во многих странах мира (Хроника ВОЗ, 1979). Отсутствие точных научных сведений, касающихся патогенеза алкоголизма, методов ранней диагностики и профилактики, трудности терапевтического воздействия порождают необходимость более внимательного и детального изучения причин его возникновения. Указанные выше обстоятельства, постановления ЦК КПСС и Совета Министров СССР (1972, 1978, 1980), посвященные борьбе с алкоголизмом, ставят перед исследователями (наркологами, биохимиками, генетиками и др.) ряд задач целенаправленной научной разработки новых мер и способов борьбы с этим заболеванием.

В литературе имеется значительное количество работ, посвященных влиянию острой и хронической алкогольной интоксикации на обмен углеводов, белков и липидов, нервную и психическую деятельность человека и животных. Многие данные этих исследований получены на интактных животных без учета потребности и генетически (метаболически) обусловленной предрасположенности к потреблению этанола.

Более дифференцированными, позволяющими вскрыть этиопатогенетические моменты формирования патологической картины заболевания являются исследования, проводимые на животных с существующим предпочтением к потреблению этанола. Данные об особенностях обмена веществ у предпочитающих воду (ПВ) и предпочитающих этанол (ПЭ) особей (Koivula, 1975; Goas, 1979; Островский, 1982) указывают на существование биологических (врожденных и приобретенных) факторов склонности к потреблению этанола.

В немногочисленных работах, выполненных на животных с различным предпочтением к потреблению алкоголя, показано, что в печени крыс ПЭ снижен уровень пировиноградной кислоты, глюкозо-6-фосфата и фруктозо-6-фосфата в сравнении с

животными ПВ (Островский, 1976, 1978). Крысы ПВ и ПЭ **отличаются между** собой по скорости катаболизма глюкозы до CO_2 (Segovia-Riquelme, 1964). Нагрузка углеводами ведет к более выраженному повышению концентрации инсулина в сыворотке крови мышей ПЭ (Goas, 1979).

Сведения, касающиеся изменения других показателей гликолиза у ПЭ животных, в доступной литературе отсутствуют. Знание их, кроме теоретического, имеет определенный практический интерес. Установление особенностей в протекании гликолиза у животных ПЭ позволит расширить наши **представления** о патогенезе алкоголизма на молекулярном **уровне**, наметить пути коррекции имеющихся метаболических отклонений и терапий заболевания.

Цель работы: изучить особенности функционирования начальных реакций гликолиза в печени крыс с различным предпочтением к этанолу путем определения активности лимитирующих ферментов гликолиза, основных субстратов углеводного обмена, а также некоторых сопряженных с ними показателей.

Задачи исследования:

- определить активность ферментов и содержание субстратов начальных реакций гликолиза в печени ПВ и ПЭ **крыс**;
- установить влияние острой и хронической алкогольной интоксикации на функционирование начальных стадий гликолиза в печени крыс с различным предпочтением к этанолу;
- выяснить воздействие голодания и нагрузки глюкозой на активность ферментов и содержание субстратов начальных реакций гликолиза у животных ПВ и ПЭ;
- изучить влияние **гипогликемических** факторов (инсулина, букарбана) на потребление этанола и **показатели** гликолиза у крыс с различной алкогольной мотивацией.

Научная новизна работы. Впервые показано; крысы ПЭ отличаются более низкой активностью глюкокиназы в печени и уровнем инсулина в сыворотке крови в сравнении с животными ПВ; острая и хроническая алкогольная **интоксикация** снижает выраженность различий между ПВ и ПЭ особями в протекании начальных реакций гликолиза, нивелируя различия в

активности ферментов и **содержании** субстратов этого метаболического пути.

Приведены новые данные о влиянии голодания и нагрузки **глюкозой** на функционирование гликолиза у крыс с различной алкогольной мотивацией. Установлено активирование начальных реакций гликолиза в печени ПЭ животных при введении глюкозы на фоне 12-часового голодания. Показано, что при этом **фосфорилирование** введенной глюкозы у ПЭ крыс происходит в основном по **глюкокиназной**, а у ПВ - по **гексокиназной** реакции. Выявлена высокая толерантность ПЭ животных к 48-часовому голоданию **как** по активности ферментов, так и по содержанию субстратов начальных реакций гликолиза. Установлены особенности в функционировании **инсулярного** аппарата у крыс ПЭ.

Показана возможность коррекции найденных метаболических отклонений гликолиза у ПЭ особей **гипогликемическими** средствами (инсулином, букарбаном) с **целью** уменьшения **потребления** ими этанола. Выявлено преимущественное **индуцирующее** влияние этих препаратов на начальные реакции гликолиза в печени ПЭ животных. Установлено снижение букарбаном потребления этанола у крыс с выраженной алкогольной мотивацией.

Практическая ценность работы. Установленные особенности функционирования гликолиза у животных с различным предпочтением к этанолу **открывают** реальные пути исследований в клинической практике с целью поиска аналогичных метаболических нарушений у людей. Наряду с этим они имеют важное значение для разработки оптимальных методов **коррекции** нарушений обмена углеводов при алкоголизме.

Букарбан, обладающий противоалкогольной **активностью**, заслуживает дальнейшего изучения и клинического **испытания**. Разработан и внедрен в **экспериментальную** практику метод **изучения** метаболизма углеводов у **животных** с различной алкогольной мотивацией (**Рац. предложение № 689** от 8 декабря **1981 г.**, выданное **БРИЗом** Гродненского медицинского **института**).

Апробация работы. Результаты исследований доложены и обсуждены на: научно-практической конференции "Связь науки с практикой - важнейший фактор повышения эффективности общественного производства" (Гродно, 1982); 2-й Гродненской областной конференции молодых ученых (Гродно, 1983); 4-ом Республиканском съезде фармацевтов, фармакологов и токсикологов БССР (Минск, 1983); объединенных заседаниях лабораторий Отдела регуляции обмена веществ АН БССР, кафедр биохимии и фармакологии Гродненского государственного медицинского института (Гродно, 1982, 1983).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 научных работ.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 158 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, методов и результатов исследования, их обсуждения, заключения, выводов и литературного указателя, включающего 65 работ отечественных и 224 зарубежных авторов. В тексте диссертации приводятся 28 таблиц, 1 схема, 7 рисунков.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на беспородных крысах массой 180-220 г, предварительно отобранных по признаку предпочтения этанола или воды в условиях свободного выбора (Островский и др., 1976). Каждую из используемых в отборе крыс помещали на 48 часов в индивидуальную клетку, содержащую две поилки - с водой и с 5% раствором этанола. По преимущественному потреблению жидкости выделяли две группы крыс - ПВ и ПЭ. Аналогичные серии отбора проводили еще дважды с интервалом в две недели. Для избежания метаболических последствий принятого во время отбора алкоголя животные брались в опыт не ранее двух недель после контакта с этанолом.

При моделировании острой алкогольной интоксикации крысам ПВ и ПЭ однократно внутривенно вводили 25% раствор этанола в дозе 2,5 г/кг массы тела за час до де-

капитации. Контрольным животным вводили изотонический раствор хлористого натрия. Перец **декапитацией** крысы в течение **12** часов голодали и получали только воду. При воспроизведении хронической алкогольной интоксикации ПВ и ПЭ животные в течение **14** суток **потребляли 5%** раствор этанола в качестве единственного источника жидкости. Контролем служили крысы, получавшие воду.

При установлении влияния голодания и нагрузки глюкозой на функционирование начальных реакций **гликолиза** у крыс ПВ и ПЭ выполнены 2 экспериментальные серии. В первой животные голодали **12**, а во второй - **48** часов. За 1 или 2 часа до **декапитации** внутрижелудочно однократно вводили опытной группе глюкозу в дозе 4,0 г/кг массы тела (**30% раствор**), а контрольной - изотонический раствор хлористого натрия.

Протамин цинк-инсулин вводили крысам ПВ и ПЭ подкожно, однократно в день, в течение четырех дней подряд в дозе **10 ЕД/кг** массы тела. В этой дозе препарат обладает выраженной биологической активностью (**Гордиенко и др., 1973**). Контрольные животные **получали** изотонический раствор хлористого натрия.

Букарбан назначали опытным крысам ПВ и ПЭ внутрижелудочно два раза в день в течение четырех дней подряд в дозах **150** и **300 мг/кг** массы тела в форме взвеси в **1%** слизи крахмала. Контрольным животным вводили слизь крахмала. Букарбан в вышеуказанных дозах **проявляет** выраженный **гипогликемический эффект** (**Галлер, Штрауценберг, 1973**).

Активность ферментов определяли в **центрифугатах** (**10000 г x 20 мин**), получаемых на холоду (**+ 2 °C**). Активность **гексокиназы (ГК)** (К.Ф. 2.7.1.1.) и **глюкокиназы (ГЛК)** (К.Ф. 2.7.1.2.) определяли в системе, сопряженной с **глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой** (**Salas et al., 1963**). Активность **фосфофруктокиназы (ФФК)** (К.Ф. 2.7.1.11.) устанавливали методом **Ундервуда** (**1965**). Известными методами определяли активность альдозазы **фруктозо-1,6-дифосфата (Ф-1,6-Ф)** (К.Ф. 4.1.2.13.) (**Товарницкий, Валуцкая, 1955**), **глюкозо-6-фосфатазы** (К.Ф. 3.1.3.9.) (**Koide, Oda,**

1959), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (К.Ф. I.I.I.49.) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (К.Ф. I.I.I.44.) (Glock, Mc Lean, 1953). Концентрацию глюкозы, глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф), фруктозо-6-фосфата (Ф-6-Ф) и гликогена в печени определяли в безбелковых центрифугатах, получаемых с помощью 6% HClO_4 из замороженной в жидком азоте ткани. Глюкозу и гликоген определяли в системе, содержащей глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу и ГК (Мильман и др., 1974). Количество Г-6-Ф и Ф-6-Ф находили с помощью ферментативного метода (Hohorst, 1959) с использованием дегидрогеназы Г-6-Ф и фосфогексоизомеразы (К.Ф. 5.3.1.9.).

Сыворотку крови, в которой определяли уровень глюкозы и инсулина, получали центрифугированием крови на холоду ($+ 2^\circ\text{C}$, 1500 об/мин x 30 мин). Концентрацию глюкозы устанавливали орто-толуидиновым методом с использованием стандартных наборов фирмы "ЛАХЕМА" (ЧССР). Содержание инсулина определяли радиоиммунологическим методом с помощью наборов деактивов гад kit "RK-2" (Венгрия). Счет радиоактивности проводили на сцинтилляционном счетчике NR -420 (Венгрия). Белок определяли по Лоури. Статистическую обработку результатов проводили по Росицкому (1973), достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Начальные реакции гликолиза у КРЫС с различным предпечтением к этанолу. В функционировании начальных стадий метаболизма глюкозы в печени ГШ и ПЭ крыс имеется много общего. Общность проявляется в отсутствии разницы по активности ГК, ФФК, альдолазы Ф-1,6-Ф, дегидрогеназ Г-6-Ф и 6-фосфоглюконата, глюкозо-6-фосфатазы, содержание глюкозы и гликогена. Несмотря на это существует различия в активности ГЛК, содержании Г-6-Ф, Ф-6-Ф в печени и инсулина в сыворотке крови (табл. I).

Крысы ПЭ (самцы) отличаются от ПВ в 2,7 раза более низкой активностью ГЛК в печени. Указанная выше особен -

Таблица I

Активность глюкокиназы (нМоль НАДФН · мг белка · мин),
содержание **гексозомонофосфатов** (мкМоль/г ткани) в
печени и инсулина (мМЕ/л) в сыворотке крови у ПВ и
ПЭ крыс (самцов)

Показатель	ПВ	ПЭ	р
Глюкокиназа	10,90 ± 1,55	4,07 ± 0,39	<0,001
Глюкозо-6-фосфат	0,40 ± 0,035	0,27 ± 0,029	<0,01
Фруктозо-6-фосфат	0,20 ± 0,018	0,12 ± 0,020	<0,01
Инсулин	16,45 ± 2,00	7,52 ± 0,86	<0,001

НОСТЬ присуща не только самцам, но и самкам, хотя у последних она менее выражена. У самцов ПВ активность ГЛК выше в сравнении с ПЭ группой на **168%**, а у самок - на **68%**. Обнаруженное различие изменяет соотношение ферментативной активности **ГЛК/ГК**. В группе ПВ особой оно равно **3,4**, а у ПЭ крыс - **1,3**.

Животные ПЭ **отличаются** от крыс ПВ более низким **содержанием Г-6-Ф** (табл. I), что обусловлено замедленным **фосфорилированием** глюкозы в первой группе по ГЛК - **реакции**. Подтверждением этому служит отсутствие различий между группами в активности ферментов других путей метаболизма **Г-6-Ф - ГК, ФФК, глюкозо-6-фосфатазы, дегидрогеназ Г-6-Ф и 6-фосфоглюконата**, а также содержании гликогена. У ПЭ крыс снижен уровень **Ф-6-Ф** (табл. I), **который** соответствует таковому для **Г-6-Ф**.

Обращает на себя внимание более высокое содержание инсулина в сыворотке крови **ГШ** животных в сравнении с крысами ПЭ (табл. I). Это позволяет **понять** причину выраженной разницы в активности ГЛК между группами, как результат слабой гормональной индукции фермента у ПЭ животных.

Влияние острой и хронической алкогольной интоксикации на реакцию гликолиза у ПВ и ПЭ крыс. Алкогольная интоксика-

кация оказывает выраженное влияние на превращение углеводов (Lundquist , 1971; Badawy , 1977). Это влияние зависит от индивидуальных, видовых, генетических и других особенностей организма. В связи с этим представлялось обоснованным изучить воздействие алкогольной интоксикации на начальные реакции гликолиза у ПВ и ПЭ крыс.

При острой алкогольной интоксикации в печени ПВ и ПЭ крыс не изменяется активность ФФК, содержание глюкозы и гликогена. Активность ГК у ПВ животных не изменяется, а у крыс ПЭ снижается на 34% в сравнении с контролем ($P < 0,05$). Снижение активности ГЛК проявляется при этом практически в одинаковой степени у животных с различным предпочтением к этанолу. Однако имеющаяся до этого разница в активности фермента между группами исчезает на фоне алкогольной интоксикации. Уровень Г-6-Ф повышается у крыс ПВ на 51%, а у особей ПЭ - на 104% в сравнении с контролем. При этом возрастает в печени и концентрация Ф-6-Ф. У ПВ животных она увеличивается на 52%, у ПЭ - на 97%. Это нивелирует имеющиеся до введения алкоголя различия между группами в содержании гексозомонофосфатов. Полученные результаты указывают на ингибирование начальных реакций гликолиза при острой алкогольной интоксикации, что согласуется с литературными данными, полученными на животных, не дифференцированных по предпочтению к этанолу (Rawat , 1975).

При хронической алкогольной интоксикации в печени ПВ крыс не изменяется в сравнении с контролем активность ГК, ГЛК, ФФК, содержание глюкозы, Г-6-Ф, Ф-6-Ф. У животных ПЭ в отличие от ПВ особей отмечаются более существенные изменения. В этой группе повышается в сравнении с контролем активность ГК ($\text{нМоль НАДФН/мг белка} \cdot \text{час}$, $3,08 \pm 0,19$; $3,97 \pm 0,34$; $P < 0,05$), ГЛК ($3,87 \pm 0,35$; $11,10 \pm 1,28$; $P < 0,001$), содержание Ф-6-Ф (мкмоль/г ткани , $0,15 \pm 0,010$; $0,21 \pm 0,025$; $P < 0,05$). Суммируя данные по изменению активности ферментов и содержанию субстратов, можно отметить, что хроническая алкогольная интоксикация активирует начальные стадии гликолиза в печени ПЭ животных. При этом происходит

исчезновение различий между ГШ и ПЭ группами по активности ГЛК, ~~содержанию Г-6-Ф и Ф-6-Ф.~~

Длительное потребление этанола снижает уровень гликогена в печени ПВ крыс (~~ммоль/г~~ ткани, $158,7 \pm 12,6$; $120,4 \pm 9,9$; $P < 0,05$). У ПЭ животных содержание гликогена не изменяется.

Таким образом, этанол при однократном и ~~многократном~~ воздействии сглаживает ~~имевшиеся~~ между ПВ и ПЭ группами различия по ряду показателей обмена углеводов.

Функционирование начальных реакций гликолиза у крыс с различным отношением к этанолу при голодании и нагрузке глюкозой. Функциональное состояние начальных реакций гликолиза зависит от обеспеченности организма углеводами (Pilkis, 1970; Hoddevik, 1974). Данное обстоятельство и установленные нами различия в метаболизме ~~глюкозы~~ на уровне этих реакций в печени ПВ и ПЭ крыс послужили основанием к ~~выполнению~~ настоящей серии исследований.

При 12-часовом голодании животные ПЭ отличаются от особей ГШ более низкой ~~активностью~~ ГЛК, пониженным ~~содержанием Г-6-Ф и Ф-6-Ф~~ в печени и инсулине в сыворотке крови (табл. 2).

Нагрузка глюкозой на фоне 12-часового голодания приводит через один час к увеличению ее уровня в сыворотке крови и в ~~печени~~, а также повышает количество инсулина в сыворотке крови у ПВ и ПЭ крыс. ~~Содержание~~ инсулина возрастает в группе ГШ особей на 187%, а у ПЭ - на 360%, что указывает на ~~разную~~ чувствительность инсулярного аппарата к глюкозе у ПВ и ПЭ животных. Через один час после введения глюкозы отмечается повышение у ПЭ крыс активности ГЛК ($3,68 \pm 0,76$; $6,58 \pm 0,94$; $P < 0,05$) и ФФК (нМоль НАДН · мг белка · мин, $7,01 \pm 0,61$; $11,25 \pm 0,91$; $P < 0,01$) в сравнении с контролем. У ПВ животных ~~фосфорилирование~~ введенной глюкозы происходит в основном за счет ГК - ~~реакции~~, на что указывает активирование этого фермента ($2,63 \pm 0,21$; $5,20 \pm 0,49$; $P < 0,001$). В то же время у ПВ особей активность ГЛК не ~~из-~~меняется при увеличении уровня глюкозы в крови и ~~печени~~.

Таблица 2

Активность **глюкокиназы** (нМоль НАДФН • мг белка • мин), **фосфофруктокиназы** (нМоль НАДН • мг белка • мин), **альдолазы фруктозо-1,6-дифосфата** (мкМоль триоз • мг белка • час), содержание субстратов гликолиза (мкМоль/г ткани) в печени, **глюкозы** (мМоль/л) и **инсулина** (мМЕ/л) в сыворотке крови у **ПВ** и **ПЭ** крыс при 12-часовом (числитель) и **48-часовом** (знаменатель) голодании

Показатель	: ПВ	: ПЭ	: Р
Сыворотка крови			
Глюкоза	6.24 ± 0.50	5.41 ± 0.40	> 0,5
	$5,07 \pm 0,13^*$	$4,70 \pm 0,38$	> 0,5
Инсулин	12.31 ± 2.20	5.50 ± 0.53	4 0,01
	$8,32 \pm 0,87$	$7,35 \pm 0,44^*$	> 0,5
П е ч е н ь			
ГлЕкоза	8.28 ± 0.65	8.85 ± 0.71	> 0,5
	$5,34 \pm 0,59^*$	$10,79 \pm 1,08$	4 0,001
ГлЕкокиназа	11.3 ± 1.20	3.68 ± 0.76	< 0,001
	$1,33 \pm 0,29^*$	$3,36 \pm 0,50$	< 0,01
Фосфофруктокиназа	8.45 ± 0.65	7.01 ± 0.51	4 0,2
	$5,42 \pm 0,49^*$	$7,22 \pm 0,70$	4 0,1
Глюкозо-6-фосфат	0.39 ± 0.042	0.26 ± 0.025	< 0,02
	$0,124 \pm 0,015^*$	$0,224 \pm 0,028$	< 0,01
Фруктозо-6-фосфат	0.22 ± 0.030	0.13 ± 0.010	40,02
	$0,065 \pm 0,012^*$	$0,165 \pm 0,034$	40,02
Альдолаза Ф-1,6-Ф	48.6 ± 5.05	52.3 ± 5.40	> 0,5
	$34,26 \pm 3,28^*$	$46,95 \pm 3,11$	< 0,02

Примечание: * - достоверно значимые изменения в сравнении с **12-часовым** голоданием.

Введение глюкозы на фоне 12-часового голодания сопровождается повышением у ПЭ животных через 2 часа содержания Γ -6-Ф ($0,260 \pm 0,025$; $0,600 \pm 0,051$; $P < 0,001$) и Ф-6-Ф ($0,130 \pm 0,010$; $0,300 \pm 0,020$; $P < 0,001$) в печени. В группе ПВ крыс содержание гексозомонофосфатов при этом не изменяется. Нагрузка **глюкозой** увеличивает через два часа уровень гликогена у ПВ животных на **58%** ($P < 0,02$), а у ПЭ - на **81%** ($P < 0,01$).

При 48-часовом голодании отмечаются неоднотипные изменения в функционировании гликолиза у крыс с различным **предпочтением** к этанолу (табл. 2). Особи ПЭ характеризуются выраженной устойчивостью к голоданию, что проявляется как по активности ферментов, так и содержанию субстратов.

48-часовое голодание **сопровождается снижением** в группе ПВ животных уровня гликемии, активности ГЛК, ФФК, **альдолазы** Ф-1,6-Ф, содержания глюкозы, Г-6-Ф, Ф-6-Ф в печени. 7 ПЭ особей эти показатели не изменяются (табл. 2). Отмечается качественно противоположная ответная реакция **исследуемых групп** на **голодание** по изменению содержания инсулина. Необычность этой реакции у ПЭ крыс заключается в повышении у них при этом уровня **инсулина**, тогда как у ПВ животных его концентрация снижается на 33%.

Стабилизации начальных реакций гликолиза при **48-часовом голодании** у ПЭ особей **способствует**, кроме повышения уровня инсулина, более выраженное у них активирование **глюконеогенеза**, если судить по активности **глюкозо-6-фосфатазы**. Активность этого фермента у ПВ животных увеличивается на 70% в сравнении с 12-часовым лишением **корма**, а у ПЭ - на **113%**. На фоне 48-часового голодания крысы ПЭ отличаются от ПВ повышенной **активностью** глюкозо-6-фосфатазы ($\mu\text{моль } P_{\text{исорг}} \cdot \text{мг белка} \cdot \text{час}$, $3,85 \pm 0,33$; $2,54 \pm 0,26$; $P < 0,01$).

Таким образом, **особенности** начальных реакций гликолиза в печени крыс с различным **отношением** к этанолу при голодании и нагрузке глюкозой обусловлены специфичностью изменений содержания инсулина, а также, **очевидно**, функционированием отдельных метаболических процессов (**глюко-**

неогенез).

Влияние инсулина и букарбана на потребление этанола и начальные реакции гликолиза у ПВ и ПЭ крыс. Как уже отмечалось выше, особенности начальных стадий гликолиза у ПВ и ПЭ животных обусловлены существующими у них различиями по содержанию инсулина в сыворотке крови. В литературе имеются противоречивые данные (Forsander, 1958; Mardones, 1972), касающиеся влияния инсулина на потребление этанола, полученные на разном экспериментальном материале. Эти обстоятельства указывают на необходимость дальнейшего целенаправленного изучения роли инсулина в развитии влечения к этанолу, что послужило предпосылкой настоящего эксперимента.

Протамин цинк-инсулин (10 ЕД/кг массы тела) не изменяет потребление воды и этанола у ПВ крыс. У животных ПЭ потребление этанола снижается на 24% ($P > 0,05$), а потребление воды не изменяется. При введении инсулина в обеих группах снижается в сравнении с контролем уровень глюкозы сыворотки крови и активность глюкозо-6-фосфатазы, повышается активность ГЛК и содержание гликогена в печени. У крыс ПВ на 53% ($P < 0,01$) увеличивается активность ГК в сравнении с контрольной группой и на этом фоне она выше ($5,42 \pm 0,43$; $4,16 \pm 0,36$; $P < 0,05$), чем у особей ПЭ. Повышение активности ФФК при введении инсулина только у ПЭ животных ($8,11 \pm 0,69$; $11,29 \pm 1,03$; $P < 0,05$) указывает на более выраженное у них активирование начальных стадий гликолиза. Подтверждением этому служит увеличение содержания гексозо-монофосфатов Е этой группы особей: Г-6-Ф - на 41,7% ($P < 0,02$), Ф-6-Ф - на 52,6% ($P < 0,01$) в сравнении с контрольными животными. В группе ПВ крыс содержание этих субстратов не изменяется.

Букарбан (300 мг/кг массы тела) значительно снижает потребление этанола у крыс ПЭ (рис. 1). При этом объем потребляемого этанола уменьшается на 60% ($P < 0,001$) и составляет 57% от общего объема выпитой жидкости. Потребле-

ние воды увеличивается на 85% ($P < 0,02$) в сравнении с периодом до введения букарбана и становится равным потреблению этанола (мл/кг массы тела·сутки, $17,62 \pm 3,06$; $23,75 \pm 3,16$ соответственно; $P > 0,5$). По существу, происходит трансформация ПЭ крыс в животных без выраженного предпочтения. Отмена препарата приводит к постепенному повышению потребления этанола. В группе ПВ крыс букарбан не влияет на преимущественный выбор жидкости, хотя потребление этанола у них также сократилось ($7,55 \pm 1,53$; $3,44 \pm 0,46$; $P < 0,05$).

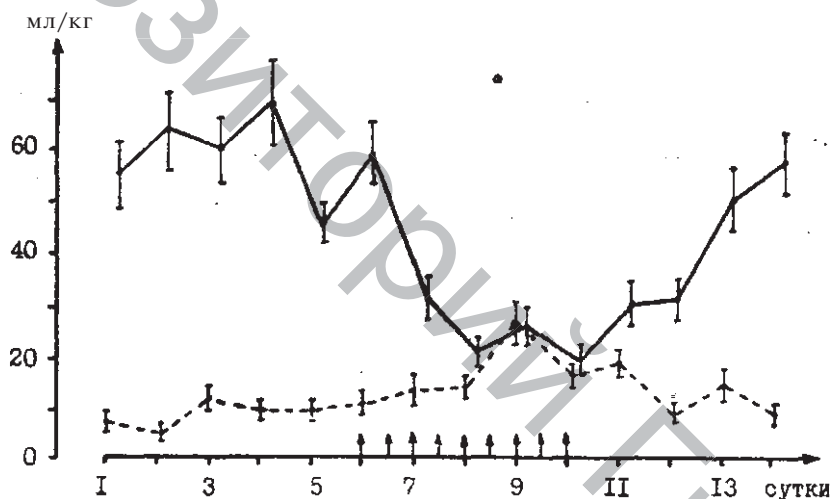


Рис. 1. Потребление воды (—) и 5% раствора этанола (—) крысами ПЭ при действии букарбана в дозе 300 мг/кг массы тела (↑ - дни введения).

Гипогликемический эффект букарбана выражен в одинаковой степени у крыс с различным отношением к этанолу. Отмечается преимущественное влияние препарата на начальные реакции гликолиза в печени ПЭ животных (табл. 3). В этой группе особей повышается в сравнении с контролем активность ГЛК,

ФФК, содержание гликогена, снижается активность ~~глюкозо-6-фосфатазы~~. У крыс ПВ увеличивается активность ГК. Более выраженные эффекты ~~букарбана, наблюдаемые~~ у ПЭ животных, в сравнении с особями ПВ обусловлены, надо полагать, специфическими особенностями функционирования их инсулярного аппарата.

Таблица 3

Активность гексокиназы, ~~глюкокиназы~~ (нМоль ~~НАДФН~~·мг белка·мин), фосфофруктокиназы (нМоль ~~НАДФН~~·мг белка·мин), ~~глюкозо-6-фосфатазы~~ (мк Моль ~~Р_{неорг}~~·мг белка·час), содержание гликогена (мкМоль·г ткани) в печени ПВ и ПЭ крыс после ~~внутрижелудочного~~ введения букарбана в дозе 300 мг/кг массы тела в течение 4 дней (знаменатель) в сравнении с контролем (числитель)

Показатель	ПВ	ПЭ	* Р
Гексокиназа	$3,37 \pm 0,26$	$3,29 \pm 0,30$	$>0,5$
	$4,82 \pm 0,45^*$	$4,27 \pm 0,39$	$>0,5$
Глюкокиназа	$1,12$	$10,60 \pm 0,92$	
	$16,34 \pm 1,81$	$15,98 \pm 1,32^*$	$>0,5$
Фосфофруктокиназа	$9,54 \pm 0,83$	$8,33 \pm 0,51$	$>0,5$
	$10,82 \pm 0,92$	$10,52 \pm 0,87^*$	$>0,5$
Глюкозо-6-фосфатаза	$0,85 \pm 0,086$	$1,26 \pm 0,120$	$4 0,02$
	$0,63 \pm 0,070$	$0,68 \pm 0,053^*$	$>0,5$
Гликоген	$181,2 \pm 19,10$	$162,7 \pm 12,30$	$>0,5$
	$204,5 \pm 19,30$	$221,7 \pm 23,80^*$	$>0,5$

Примечание: * - достоверно значимые изменения ($P < 0,05$) в сравнении с контролем.

Аналогичные, но менее выраженные изменения были получены при назначении букарбана в дозе 150 мг/кг массы тела.

Таким образом, букарбан более выраженно в сравнении с инсулином понижает потребление этанола, хотя его метабо-

лический эффект (активирование гликолиза) выражен в меньшей степени. Известно **ингибирование** производными **сульфомочевины**, к которым относится букарбан, активности **альдегиддегидрогеназы** (К.Ф. I.2.I.3.) (Lindros, 1978), что приводит к **повышению** уровня эндогенного этанола (Буров, 1983). В тоже время отмечается отрицательная зависимость между содержанием эндогенного этанола и добровольным потреблением алкоголя у крыс (Островский, 1976). Следовательно, влияние букарбана на потребление этанола является комплексным, **сочетанием** воздействия на различные (гликолиз, уровень эндогенного этанола) метаболические звенья.

Выводы

1. Крысы ПЭ, находящиеся в естественной популяции, отличается от крыс ПВ более низкой **активностью** ГЛК, пониженным содержанием **Г-6-Ф** и **Ф-6-Ф** в печени. В сыворотке крови ПЭ животных отмечается сниженный уровень инсулина в сравнении с ПВ особями.

2. При острой алкогольной интоксикации (**внутрибрюшинно** 2,5 г/кг массы тела через 1 час) в печени крыс ГО **снижается** активность ГК и ГЛК, повышается концентрация **Г-6-Ф** и **Ф-6-Ф**. У ПВ животных активность ГК не изменяется, а ГЛК снижается, увеличение уровня **Г-6-Ф** и **Ф-6-Ф** выражено в меньшей степени в сравнении с крысами ПЭ. На фоне действия этанола исчезает **имевшееся** до этого различия в активности ГЛК, содержания **гексозомонофосфатов** между ПВ и ПЭ группами.

3. Хроническая алкогольная интоксикация (**5% раствор** этанола единственный **источник** питья в течение **14** суток) оказывает неодинаковое **воздействие** на начальные **реакции** гликолиза в печени ПВ и ПЭ животных. У ПЭ крыс повышается активность ГК и ГЛК, увеличивается **содержание Ф-6-Ф**. У ПВ животных **функционирование** гликолиза при этом не изменяется.

4. Введение глюкозы (**внутрижелудочно** 4,0 г/кг массы тела через 1 час) приводит к **повышению** у ПЭ крыс активности ГЛК, ФФК, содержания **Г-6-Ф**, **Ф-6-Ф** в печени. У ПВ

животных эти показатели не изменяются, а активность ГК увеличивается в сравнении с контролем. Уровень инсулина в сыворотке крови более выражено повышается в группе ПЭ особей.

5. При 48-часовом голодании у крыс ПВ снижается, а у животных ПЭ не изменяется - уровень гликемии, активность ГЛК, ФФК, альцолазы Φ -1,6- Φ , содержание глюкозы, Г-6- Φ , Φ -6- Φ в печени. Голодание сопровождается повышением концентрации инсулина в сыворотке крови и более выраженным активированием ~~глюкозо-6-фосфатазы~~ в печени у ПЭ крыс в отличие от особей ПВ.

6. Протамин цинк-инсулин (подкожно 10 ЕД/кг массы тела однократно в день в течение 4 дней) более выражено активирует начальные реакции гликолиза в печени ПЭ животных в сравнении с животными ПВ. У крыс ПЭ при этом увеличивается, а у особей ПВ не изменяется в сравнении с контролем активность ФФК, содержание Г-6- Φ и Φ -6- Φ .

7. Букарбан (в дозах 150 и 300 мг/кг массы тела внутри-желудочно дважды в день в течение 4 дней) обладает противоалкогольной активностью. При его введении потребление этанола у крыс с выраженной алкогольной мотивацией закономерно снижается, а потребление воды повышается. Это позволяет рекомендовать букарбан для дальнейшего изучения как потенциального противоалкогольного препарата.

Основные подожения диссертации опубликованы в следующих работах:

1. Лелевич В.Б., Лукашик Н.К. Применение субстратных нагрузок для выявления особенностей метаболизма углеводов у животных с различным предпочтением к этанолу. - В кн.: Тезисы докладов научно-практической конференции "Связь науки с практикой - важный фактор повышения эффективности общественного производства". Гродно, 1982, т.4, с. 73-74.

2. Лелевич В.В. Активность гексокиназы и глюкокиназы у крыс с различным предпочтением к этанолу. - В кн.: Тезисы докладов 2-ой областной конференции молодых ученых. Гродно, 1983, с. 102-103.

3. Ostrovsky Yu.M., Sadovnik M.N., Satanovskaya V.I.
Ostrovsky S.Yu., Selevich M.I., Вико Lelevich V.V.,
Lukashik N.K. - Metabolic factors and preference for etha-
ноl. - Pharmacol. Biochem. Behav., 1983, vol. 18, № 1,
p. 531-535.

4. Лелевич В.В. Влияние букарбана на предпочтение к
этанолу и начальные реакции гликолиза в печени крыс с
различной алкогольной мотивацией. - Рукопись депонирована
в ВНИИМ, № Д - 7047.

5. Лелевич В.В. Влияние этанола на гликолиз печени крыс
с различным предпочтением их к этому наркотику. - В кн.:
Тезисы докладов 4-го съезда фармацевтов, фармакологов и
токсикологов БССР. Минск, 1983, с. 156-157.

Подписано к печати 11.01.1984 г. АИ-00029
Бумага 60x94 1/16 Изд. зак. 9 тир. 100 экз.

ротапринтный участок Гродненского медицинского института
Гродно, Горького, 80