

УДК 547.262+615.217.7]:612.396.32:616.36.092]-092.9
©Лелевич

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МЕТАБОЛИЗМА ГЛЮКОЗЫ В ПЕЧЕНИ КРЫС ПРИ ОСТРОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ И МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

С.В. Лелевич

УО “Гродненский государственный медицинский университет”, ул. Горького, 80,
Гродно, 230009 Республика Беларусь; тел.: (0152) 53-23-91; факс: (0152) 43-53-41;
эл. почта: slelevich@yandex.ru

Проведён сравнительный анализ эффектов острой алкогольной и морфиновой интоксикации на гликолиз и пентозофосфатный путь в печени крыс. Выявлен дозозависимый ингибирующий эффект этанола на активность лимитирующих ферментов этих метаболических путей, а также анаэробная переориентация метаболизма глюкозы с увеличением дозы вводимого алкоголя. Морфин в дозе 10 мг/кг активизирует ферменты гликолиза и пентозофосфатного пути, в отличие от этанола, не оказывая влияния на эти показатели при дозах 20 и 40 мг/кг.

Ключевые слова: алкоголь, морфин, печень, глюкоза, транскетолаза.

ВВЕДЕНИЕ. В настоящее время одной из важнейших медико-социальных проблем современного общества является алкогольная и наркотическая зависимость. Массовое злоупотребление этими веществами приводит к увеличению случаев острых отравлений, многочисленных медицинских патологий, а также росту криминогенности [1, 2]. Формирование алкогольной и наркотической зависимости обусловлено нарушением функционального состояния различных биохимических и физиологических систем организма, многие из которых рассматриваются как первичные патогенетические факторы развития этих заболеваний [2, 3]. Такими факторами, в частности, являются: усиленное образование в печени ацетальдегида из этанола при его избыточном поступлении в организм, повреждающее действие алкоголя на клеточные мембраны многих органов, образование в ткани головного мозга алкалоидов с морфиноподобным действием, изменение функционального состояния нейромедиаторных систем ЦНС [4-6].

В последнее время активно обсуждается вопрос об общности патогенетических механизмов развития алкоголизма и наркоманий [4, 7]. Большинство исследований в этом направлении посвящены изучению “центральной” компоненты данной патологии. Показано, что этанол и опиаты меняют специфическую активность регуляторных белков мембран, модифицируют передачу нервного импульса в некоторых нейромедиаторных системах и др. [2, 5]. Именно нарушения процессов нейромедиации в настоящее время рассматриваются как основа формирования алкогольной и опиоидной зависимости [4-7].

Однако практически отсутствуют данные о сравнительной характеристике метаболических нарушений при алкоголизме и наркоманиях в периферических органах и тканях. Выявлены отклонения углеводно-энергетического обмена в печени крыс при острой алкогольной интоксикации [8, 9]. Обнаружены изменения функционального состояния гликолиза и пентозофосфатного пути

(ПФП) в печёночной ткани экспериментальных животных при однократном введении морфина [10, 11].

Учитывая роль печени как основного органа-мишени при алкогольной и опиойной интоксикации, представилось обоснованным провести сравнительный анализ механизмов действия этих соединений в данной ткани.

Целью работы являлось сравнительное изучение нарушений функционального состояния гликолиза и ПФП в печени крыс при однократном введении различных доз этанола и морфина.

МЕТОДИКА. Для обеспечения возможности корректного сравнения метаболических эффектов острой алкогольной и морфиновой интоксикации нами, на основании существующих представлений, были использованы малые, средние и большие дозы данных соединений [12, 13]. При моделировании острой алкогольной интоксикации это соответственно 1, 2,5 и 5 г/кг массы тела, при введении морфина гидрохлорида – 10, 20 и 40 мг/кг.

В эксперименте по моделированию острой алкогольной интоксикации (ОАИ) было использовано 29 белых беспородных крыс самцов, массой 180-220 г. Перед декапитацией всех животных 12 часов содержали без пищи при свободном доступе к воде. Особям первой экспериментальной группы (контроль) внутрижелудочно вводили 1 мл физиологического раствора NaCl, второй – 10% раствор этанола в дозе 1 г/кг, третьей – 25% раствор этанола в дозе 2,5 г/кг и четвёртой – 25% раствор этанола в количестве 5 г/кг массы тела. Декапитацию проводили через 1 ч после инъекций.

Острую морфиновую интоксикацию (ОМИ) моделировали на 32 белых беспородных крысах-самцах массой 180-220 г. Животных содержали на стандартном рационе вивария при свободном доступе к воде. ОМИ вызывали однократным внутрибрюшинным введением 1% раствора морфина гидрохлорида. Особи 2-й группы получали наркотик в дозе 10 мг/кг массы тела, 3-й группы – 20, а 4-й группы – 40. Контрольным животным (1-я группа) вводили эквивалентное количество 0,9% раствора NaCl. Декапитацию проводили через 1 ч после инъекции.

В гомогенатах печени с использованием высокочувствительных энзиматических методов определяли активность ферментов гликолиза – гексокиназы (ГК) и глюкокиназы (ГЛК), фосфофруктокиназы (ФФК) и пируваткиназы (ПК) [9]. Общепринятыми методами измеряли активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГДГ) и транскетолазы (ТК) [8]. Содержание субстратов – глюкозы, глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф), пирувата, лактата, гликогена [9] и пентоз [8] – определяли в гомогенатах, для приготовления которых использовали ткани, замороженные в жидком азоте.

Статистическую обработку данных выполняли с применением методов непараметрической статистики, используя U-критерий Манна-Уитни. В качестве дополнительного метода статистической обработки с целью изучения различий между экспериментальными группами по всему спектру показателей был применен пошаговый дискриминантный анализ. При этом использовался пакет статистических программ STATISTICA 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. При введении этанола в дозе 1 г/кг массы тела (2-ая группа) отмечено снижение активности ГК на 29 ($p < 0,02$), и ГЛК – на 34% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными значениями (таблица). Это, возможно, обусловлено снижением выработки инсулина поджелудочной железой, выявленное при введении алкоголя в аналогичной дозе [14]. У животных 2-ой группы снижалась активность ПК, тогда как активности ФФК и ЛДГ не отличались от контрольной группы. С пониженной скоростью выше перечисленных ферментных реакций гликолиза согласуется и уменьшение уровня субстратов данного метаболического пути. Во второй экспериментальной группе статистически значимо снижалось содержание Г-6-Ф, пирувата и лактата. Содержание глюкозы в печени при этом не изменялось, что согласовывалось со стабильным уровнем здесь гликогена (таблица).

Таблица. Эффекты острой алкогольной и морфиновой интоксикации на показатели метаболизма глюкозы в печени крыс.

Показатели	Острая алкогольная интоксикация			Острая морфиновая интоксикация		
	1 г/кг	2,5 г/кг	5 г/кг	10 мг/кг	20 мг/кг	40 мг/кг
ГК	71*	73*	64*	155*	112	110
ГЛК	66*	83	63*	136*	80	120
ФФК	102	70*	68*	131*	107	105
ПК	77*	90	68*	118	135*	129
ЛДГ	115	143*	156*	142*	139*	140*
Глюкоза	110	159*	148*	121	59*	73*
Г-6-Ф	66*	90	59*	106	63*	90
Пируват	65*	87	56*	149*	153*	114
Лактат	66*	99	156*	117	103	90
Гликоген	92	74*	65*	97	107	103
Г-6-ФДГ	101	75*	70*	123*	106	153*
6-ФГДГ	93	96	71*	94	89	93
ТК	63*	75*	49*	157*	123	134
Пентозы	95	64*	56*	89	98	92

Примечание. Результаты выражены в процентах. 100% - контроль,* - статистически значимые различия с контролем ($p < 0,05$).

Введение этанола в средней дозе (2,5 г/кг) снижало активность ГК в сравнении со значениями контрольной группы, тогда как активность ГЛК нормализовалась (таблица). Вероятно, это обусловлено понижением концентрации инсулина в сыворотке крови, которое отмечается при умеренной алкогольной интоксикации [14]. Активность лимитирующего фермента гликолиза – ФФК у особей 3-ей группы снижена, а ПК – не отличалась от контрольной группы. Выявленное повышение активности ЛДГ в данных экспериментальных условиях указывает на преобладание анаэробных процессов в ткани печени, которые проявляются при увеличении степени алкогольной интоксикации. Содержание глюкозы при назначении этанола в дозе 2,5 г/кг повышалось, а концентрации других метаболитов гликолиза – Г-6-Ф, пирувата и лактата, при этом не отличались от контроля.

Введение этанола в высокой дозе (5 г/кг) приводило к снижению активности всех определяемых ферментов гликолиза. Причём степень ингибирования выражена в большей степени, чем при введении более низких доз этанола: активность ГК снижалась на 37 ($p < 0,001$), ГЛК – на 37 ($p < 0,001$), ФФК – на 32 ($p < 0,02$) и ПК – на 32% ($p < 0,01$) по сравнению с контролем. В то же время статистически значимо повышалась активность ЛДГ и содержание лактата (таблица), что указывает на активизацию анаэробных процессов в печени при увеличении степени тяжести алкогольной интоксикации. Подтверждением этому служит резкое повышение отношения лактат/пируват при выраженной алкогольной интоксикации в сравнении с контрольными животными (30,8 и 11,1, соответственно). Ингибирование активностей ключевых ферментов гликолиза у особей 4-ой группы сопровождалось у них понижением уровня Г-6-Ф и пирувата.

МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ И МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В качестве дополнительного статистического метода для исследования различий показателей гликолиза между экспериментальными группами при острой алкогольной интоксикации был применён пошаговый дискриминантный анализ. В ходе его выполнения были получены следующие наиболее информативные показатели: ЛДГ, глюкоза, ГЛК, лактат, ПК, ФФК и ГК. Модель является статистически значимой ($F = 19,40$; $p < 0,0001$). Для интерпретации межгрупповых различий были построены дискриминантные функции, являющиеся линейной комбинацией дискриминантных переменных. Функции статистически значимы ($\chi^2_{1} = 68,11$, $p < 0,05$; $\chi^2_{2} = 26,77$, $p < 0,05$).

Изучение расположения реализаций экспериментальных групп для показателей гликолиза на плоскости двух главных компонент достаточно чётко выявляет дозозависимый эффект этанола на функциональную активность этого метаболического пути (рис. 1). Наибольший вклад в разделительную способность 1-й дискриминантной функции вносят переменные – глюкоза, ЛДГ и лактат. Этими показателями в 98% случаев объясняются различия между исследуемыми группами. В 82% разделительная способность 2-й дискриминантной функции обеспечивается за счёт показателей ФФК, ПК и Г-6-Ф.

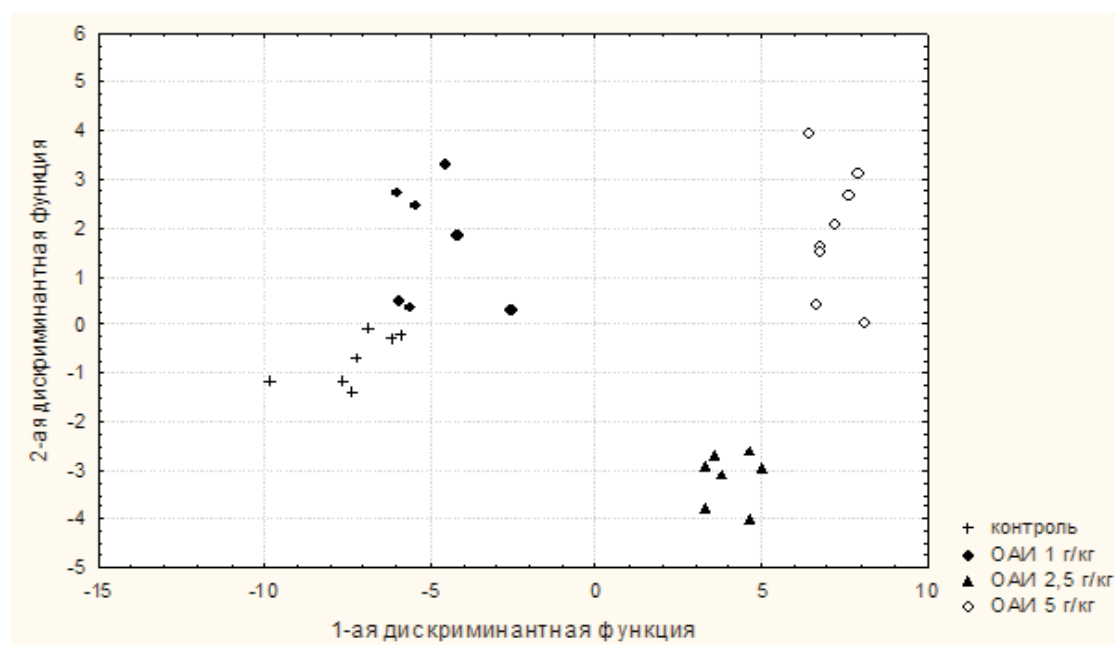


Рисунок 1.

Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей гликолиза в печени крыс на плоскости двух главных компонент при острой алкогольной интоксикации (ОАИ).

На рисунке 1 по первой дискриминантной функции 1-я (контроль) и 2-я группа (1 г/кг) занимают близкие положения, образуя первую пару реализаций. Позиции 3-й (2,5 г/кг) и 4-й групп (5 г/кг) различимы и перекрытий объектов при этом нет, наблюдения этих двух пар групп удалены друг от друга. Дискриминация при этом происходит за счет показателей – глюкоза, ЛДГ и лактат. Все четыре экспериментальные группы хорошо различимы по 2-й дискриминантной функции, определяемой наиболее информативными показателями – ФФК, ПК и Г-6-Ф. Вместе с тем наблюдается пересечение объектов 4-й и 2-й групп по 2-й дискриминантной функции.

Дозозависимый ингибирующий эффект острой алкогольной интоксикации выявлялся и в отношении ПФП (таблица). Этанол, вводимый в дозе 1 г/кг, приводил только к снижению активности ТК, а в дозе 2,5 г/кг – к ингибированию активности Г-6-ФДГ и понижению уровня пентоз. На фоне тяжелой алкогольной интоксикации (5 г/кг) отмечалось снижение активностей всех изученных ферментов ПФП, а также содержания пентоз.

Эти изменения выявлялись и при проведении пошагового дискриминантного анализа (рис. 2). При его выполнении были получены следующие наиболее информативные показатели ПФП: пентозы, 6-ФГДГ и ТК. Модель ($F = 12,58$; $p < 0,0001$) также как и дискриминантные функции статистически значима ($\chi^2_1 = 67,80$, $p < 0,0001$; $\chi^2_2 = 17,54$, $p < 0,007$). Наибольший вклад в разделительную способность 1-й дискриминантной функции вносит переменная пентозы. Этим показателем в 88% случаев объясняются различия между исследуемыми группами. В 40% разделительная способность 2-й дискриминантной функции обеспечивается показателем ТК. На рисунке 2 по первой дискриминантной функции, хорошо различимы 1-я (контроль) и 4-я (5 г/кг), 1-я и 3-я (2,5 г/кг), 2-я (1 г/кг) и 4-я, а также 2-я и 3-я группы. Наблюдается некоторое перекрытие объектов 1-й и 2-й, а также 3-й и 4-й экспериментальных групп, хотя центры (средние значения) этих групп различаются. По 2-й дискриминантной функции, наибольший вклад в которую вносит переменная ТК, различия групп небольшие.

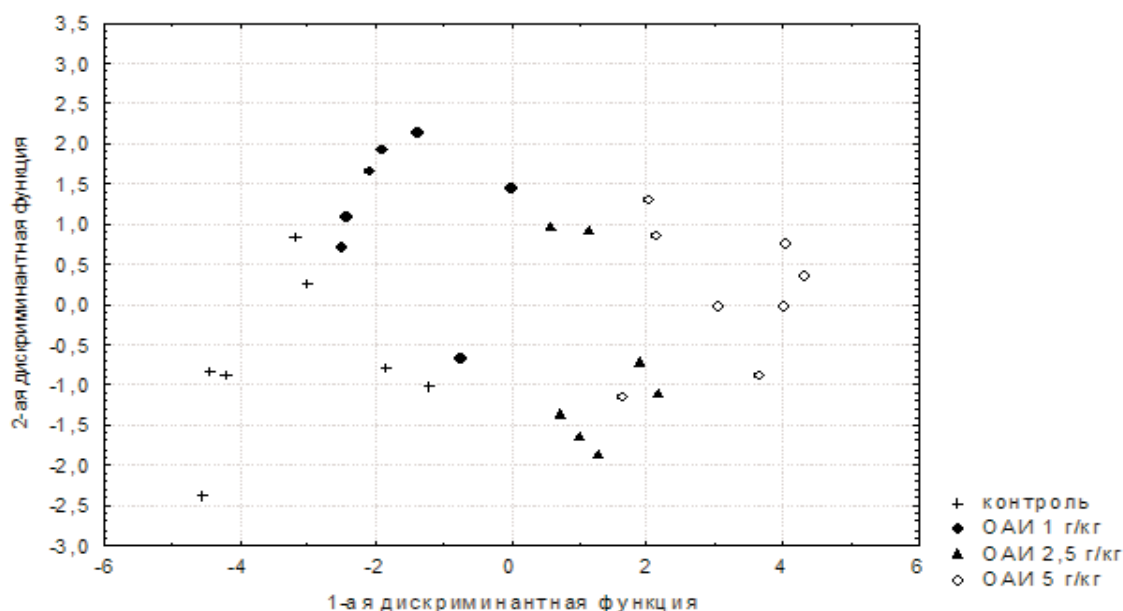


Рисунок 2.

Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей ПФП в печени крыс на плоскости двух главных компонент при острой алкогольной интоксикации (ОАИ).

Введение морфина гидрохлорида в дозе 10 мг/кг массы тела приводило к активации ключевых ферментов гликолиза в печени (таблица). Выявленные изменения, в определенной степени, согласуются с повышением содержания глюкозы в данных экспериментальных условиях. Этот эффект морфина может являться следствием либо активации распада гликогена в печени, либо повышением доставки в этот орган глюкозы по кровеносной системе. Последнее

МЕТАБОЛИЗМ ГЛЮКОЗЫ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ И МОРФИНОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

предположение подтверждается статистически значимым ростом гликемии на фоне введения наркотика в дозе 10 мг/кг [15]. Увеличение количества вводимого наркотика до 20 мг/кг не приводило к изменению активностей ферментов начальных реакций гликолиза – ГК, ГЛК и ФФК, повышая при этом активности ПК и ЛДГ (таблица). Это согласуется с повышением содержания пирувата в данных условиях. Введение морфина в дозе 40 мг/кг приводило только к повышению активности ЛДГ, что свидетельствует об интенсификации анаэробных процессов. Содержание глюкозы в печени на фоне введения большой дозы наркотика статистически значимо понижалось (таблица).

Результаты пошагового дискриминантного анализа показывают отсутствие дозозависимого эффекта однократно вводимого морфина на функционирование гликолиза в печени (рис. 3). В ходе его реализации были получены следующие наиболее информативные показатели: глюкоза, пируват, ГЛК, ЛДГ, ГК и Г-6-Ф. Модель является статистически значимой ($F = 10,62$; $p < 0,0001$), также как и дискриминантные функции ($\chi^2_1 = 100,41$, $p < 0,0001$; $\chi^2_2 = 36,00$, $p < 0,0001$). Коэффициент канонической корреляции ($R_1 = 0,96$) указывает на сильную взаимосвязь между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Наибольший вклад в разделительную способность этой функции вносят переменные глюкоза и Г-6-Ф. Коэффициент канонической корреляции ($R_2 = 0,80$) указывает на зависимость средней степени между группами 1-4 по 2-й дискриминантной функции. В 64% случаев разброс переменных при этом происходил за счет показателей пируват, ЛДГ и ГК. На рисунке 3 по 1-й дискриминантной функции все экспериментальные группы достаточно хорошо различимы за счёт переменных – глюкоза и Г-6-Ф, а по 2-й функции за счёт показателей – пируват, ЛДГ и ГК. При этом не наблюдается перекрытия значений 1-й (контроль) и 2-й (10 мг/кг), а также 1-й и 3-й (20 мг/кг) групп. Положения групп 2, 3 и 4 при этом очень близки.

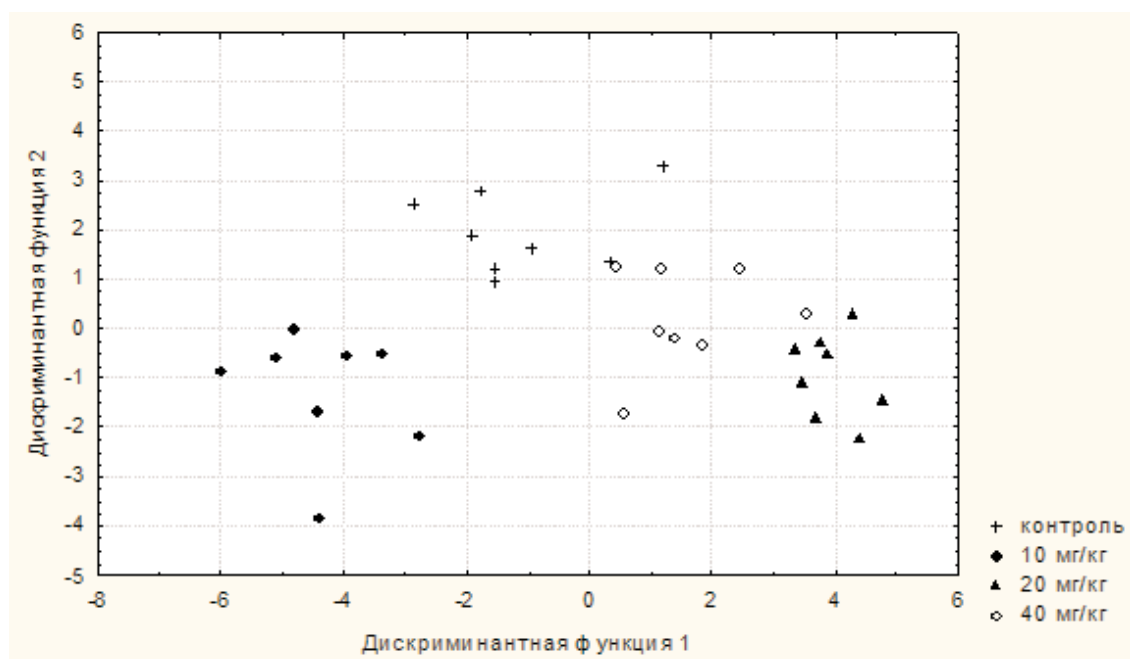


Рисунок 3.

Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей гликолиза в печени крыс на плоскости двух главных компонент при острой морфиновой интоксикации (ОМИ).

Морфин в дозе 10 мг/кг повышал активность Г-6-ФДГ и ТК, что согласовывалось с активацией ряда ферментов гликолиза в данных условиях (таблица). Увеличение активности ферментов ПФП отмечалось на фоне гипергликемии и стабильного уровня глюкозы и Г-6-Ф в печени. Схожая картина по изменению активности ферментов ПФП и гликолиза отмечалась при назначении морфина в дозе 20 мг/кг, когда они не отличались от контрольного уровня. На фоне введения большой дозы наркотика (40 мг/кг) происходило повышение активности Г-6-ФДГ.

Отсутствие однозначной направленности изменений показателей ПФП при введении морфина в различных дозах доказал и пошаговый дискриминантный анализ (рис. 4). При проведении данного метода получены наиболее информативные показатели – ТК и Г-6-ФДГ. Построенная модель ($F = 6,78$; $p < 0,0001$), также как способность двух дискриминантных функций различать классы, статистически значима ($\chi^2_1 = 31,43$; $p < 0,0001$; $\chi^2_2 = 9,79$; $p < 0,0001$). Коэффициент канонической корреляции $R_1 = 0,73$ указывает на сильную зависимость между исследуемыми группами и 1-й дискриминантной функцией. Наибольший вклад в разделительную способность данной функции вносит переменная ТК. Коэффициент канонической корреляции $R_2 = 0,54$ указывает на зависимость средней степени между исследуемыми группами и 2-й дискриминантной функцией. В 29% случаев разброс групп по данной функции объясняется изменчивостью показателя Г-6-ФДГ.

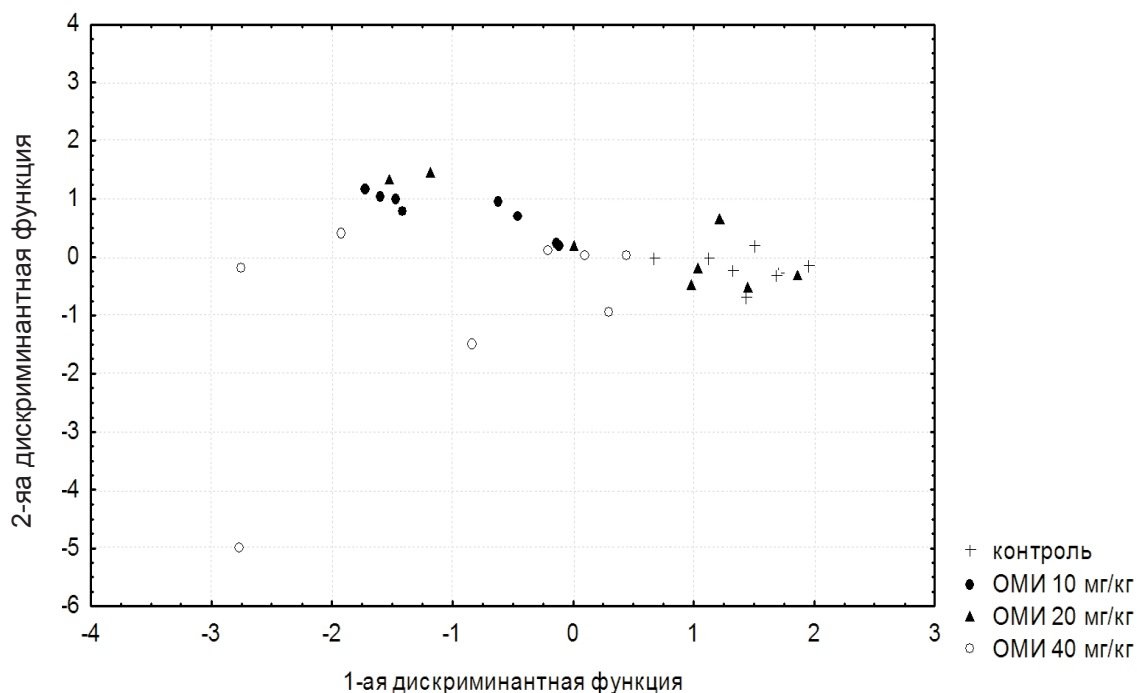


Рисунок 4.

Расположение реализаций экспериментальных групп для пула исследованных показателей ПФП в печени крыс на плоскости двух главных компонент при острой морфиновой интоксикации (ОМИ).

Таким образом, эффекты острой алкогольной интоксикации на метаболизм глюкозы в печени значительно отличаются от таковых при действии морфина. Установлен дозозависимый ингибирующий эффект этанола на активности лимитирующих ферментов гликолиза и ПФП. Причем, при увеличении его дозы происходит переориентация метаболизма глюкозы на анаэробный путь окисления. Морфин в небольшой дозе (10 мг/кг) активирует ферменты гликолиза и ПФП,

что противоположно действию малой дозы этанола. Увеличение степени тяжести морфиновой интоксикации (20 и 40 мг/кг) практически не изменяет активности ферментов гликолиза и ПФП, понижая содержание глюкозы в печени. Последний эффект может быть обусловлен быстропреходящей активизацией катаболизма глюкозы на ранних стадиях действия средних и больших доз морфина.

Различия в метаболических эффектах однократного введения алкоголя и морфина на обмен глюкозы в печени в принципе объяснимы. Эти вещества имеют индивидуальные пути биотрансформации в организме, что обуславливает их особенное воздействие на гормональный фон, гомеостаз других биологически активных соединений, прямые и опосредованные эффекты на ферменты метаболизма глюкозы [2, 15]. Выявленные особенности нарушений обмена глюкозы при острой алкогольной и морфиновой интоксикации расширяют представления о патохимических механизмах этих состояний. Полученные результаты следует учитывать при разработке дифференцированных схем метаболической коррекции острых отравлений алкоголем и морфином.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Иванов В.П.* (2009) Наркология, №4, 15-16.
2. *Востриков В.В., Павленко В.Л., Шабанов П.Д.* (2004) Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии, №3, 18-55.
3. *Никифоров И.А.* (2006) Профилактика заболеваний и укрепление здоровья, №2, 12-22.
4. *Анохина И.П., Иванец Н.Н., Шамякина И.Ю., Кибитов А.О.* (2004) Наркология, №6, 76-83.
5. *Nestler E.* (1992) J. Neurosci., **12**, 2439-2450.
6. *Noble E.* (1996) Addict Biol., **1**, 333-348.
7. *Анохина И.П., Веретинская А.Г., Васильева Г.Н., Овчинников И.В.* (2000) Физиология человека, **26**, 74-81.
8. *Лелевич С.В.* (2008) Экспер. клин. фармакол., **71**, 53-55.
9. *Лелевич С.В.* (2007) Весці НАН Беларусі. Серыя мед. навук, №3, 26-29.
10. *Лелевич С.В.* (2006) Вопросы наркологии, №6, 31-36.
11. *Лелевич С.В.* (2004) Биомед. химия, **50**, 273-276.
12. *Курбат М.Н., Лелевич В.В.* (2002) Экспер. клин. фармакол., **65**, 27-28.
13. *Devane C., Simpkins J., Boulton D.* (1999) J. Pharm. Pharmacol., **51**, 1283-1287.
14. *Михайлов В.И., Ревенко В.И., Ракицкий Г.Ф., Михайлова Н.В.* (2009) Вестник неврологии, психиатрии и нейрохирургии, №4, 61-64.
15. *Лелевич С.В.* (2007) Метаболические аспекты морфиновой наркомании, Гродно, ГрГМУ.

Поступила: 03. 05. 2010.

**COMPARATIVE FEATURE OF THE GLUCOSE METABOLISM IN LIVER OF THE RATS
UNDER ACUTE ALCOHOL AND MORPHINE INTOXICATION**

S.V. Lelevich

Grodno State Medical University, Belarus, ul. Gorkogo, 80, Grodno, 230009 Belarus;
tel.: (0152) 53-23-91; fax: (0152) 43-53-41; e-mail: slelevich@yandex.ru

The comparative analysis effect of acute alcohol and morphine intoxications on rats on hepatic glycolysis and pentose phosphate pathway was done. The dose-dependent inhibitory effect of ethanol on activity of limiting enzymes of these metabolic ways, as well as anaerobic reorientation of glucose metabolism was recognised with the increase of the dose of the intake alcohol. Morfine (10 mg/kg) activated enymes of glycolysis and pentose phosphate pathway, but in contrast to ethanol it did not influence these parameters at the dose 20 or 40 mg/kg.

Key words: alcohol, morphine, liver, glucose, transketolase.