

УДК 547.455.623: 616.89- 008.441.13.- 092.9

ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ГЛИКОЛИЗ И ПЕНТО- ЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ КРЫС

С.В. Лелевич¹, к.м.н.; А.Н. Бородинский², к.б.н.¹ – УО «Гродненский государственный медицинский университет»² – Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси

Исследовано функциональное состояние гликолиза и пентозофосфатного пути в скелетной мускулатуре крыс при хронической алкогольной интоксикации. Этанол вводили внутривенно в течение 14-ти и 29-ти суток. Выявлено снижение активности ряда ферментов, а также содержания субстратов углеводного обмена, которое определялось длительностью алкогольной интоксикации. Выявленные нарушения создают предпосылки к разработке оптимальных схем метаболической коррекции хронической алкогольной интоксикации.

Ключевые слова: гликолиз, алкоголь, мышцы, глюкоза, пентозы.

The functional state of glycolysis and pentosophosphate pathway have been studied in rat muscle tissue under chronic alcohol intoxication. Ethanol was introduced i.g. within 14 and 29 days. The decrease in activity of some enzymes as well as the contents of substrates of the carbohydrate exchange which was determined by the duration of alcoholic intoxication has been revealed. The revealed disturbances contribute to the necessity of working out new optimal methods of metabolic correction of chronic alcohol intoxication.

Key words: glycolysis, alcohol, muscles, glucose, pentoses.

Введение

Злоупотребление алкоголем является одним из главных факторов, оказывающих влияние на развитие хронических заболеваний, а также выступает причиной ранней инвалидизации трудоспособного населения. В непосредственной зависимости от количества потребляемого алкоголя находится опасно высокий уровень распространенности алкогольной патологии внутренних органов [8].

В общеврачебной практике все чаще встречаются больные с заболеваниями внутренних органов, которые обусловлены влиянием длительного введения алкоголя в организм при отсутствии у них типичных признаков алкоголизма [5]. К системным эффектам хронической алкогольной интоксикации относятся атрофия скелетной мускулатуры (синдром «muscle wasting»). При этом может наблюдаться значительная потеря мышечной ткани, причиной которой является нарушение образования белков [16]. Одним из последствий злоупотребления алкоголем является хроническая миопатия, проявляющаяся мышечной атрофией и слабостью [11, 20]. Длительное употребление алкоголя меняет стабильность транскрипции м-РНК сократительных белков, вызывая развитие алкогольной скелетной миопатии [16]. Установлено, что потеря протеинов мышечной тканью обусловлена белковым недоеданием на фоне дефицита тиамин у большинства больных алкоголизмом [15].

Без сомнения, мышечная ткань отличается от других тканей организма сильно выраженной потребностью в мощном энергообеспечении, поэтому здесь существуют специфические механизмы контроля, играющие определяющую роль в регуляции утилизации таких субстратов как глюкоза и гликоген [6]. Выявлены нарушения углеводно-энергетического обмена в скелетной мускулатуре

крыс при хронической алкогольной интоксикации [13, 21].

Обнаруженные изменения функционального состояния основных путей метаболизма глюкозы в мышцах выявлены при длительных сроках алкоголизации (3-6 мес.). Однако практически отсутствуют данные о нарушениях энергетического обмена в мышечной ткани при менее продолжительном введении этанола. Исследование функционального состояния основных путей метаболизма глюкозы в мышцах при так называемых субхронических сроках (до 1 мес.) алкоголизации позволит приблизиться к пониманию процессов, происходящих при переходе острой алкогольной интоксикации в хроническую. Это даст возможность оптимизировать раннюю диагностику алкоголизма, что, в свою очередь, будет полезным в комплексном лечении и профилактике данной патологии.

Материалы и методы

В эксперименте было использовано 25 белых беспородных крыс самцов массой 180-220 г, находившихся на стандартном рационе вивария при свободном доступе к воде. Животные были разделены на 3 группы. Особям первой группы (контроль) внутривенно вводили 0,9 % раствор хлорида натрия 2 раза в сутки, вторая группа животных получала 25 % раствор этанола в течение 14 суток, а третья – в течение 29 суток. Декапитацию производили через 1 час после последней инъекции. В мышечной ткани определяли активность ферментов гликолиза – гексокиназы (ГК) [17], фосфофруктокиназы (ФФК) [19], пируваткиназы (ПК) [9] и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) [7], а также содержание основных субстратов углеводного обмена – глюкозы [4], глюкозо-6-фосфата (Г-6-Ф) [12], пирувата [7], лактата [1] и гликогена [4]. Также была изучена активность основных ферментов

пентозофосфатного пути (ПФП) в мышечной ткани – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГДГ) [14], транскетолазы (ТК) [10] и содержание пентоз [3]. Уровень гликемии определяли с использованием глюкозооксидазного метода стандартными наборами реактивов, а концентрацию инсулина в сыворотке, применяя радиоиммунологический анализ.

Статистическую обработку данных выполняли с применением методов непараметрической статистики, используя ранговый критерий Манна-Уитни. Полученные результаты выражали в виде Ме (медиана) и рассеяния (25 и 75 перцентилей). При этом использовался пакет статистических программ STATISTICA 7.0.

Целью данной работы явилось исследование функционального состояния гликолиза и ПФП в скелетной мускулатуре крыс при хронической алкогольной интоксикации.

Результаты и обсуждение

Введение алкоголя в течение 14-ти суток не оказывает существенного влияния на функциональное состояние гликолиза и ПФП в мышечной ткани крыс (табл. 1-3). Ниже значений контрольной группы регистрируется только активность ТК, что, вероятно, объясняется влиянием алкоголя на метаболизм тиамин при его длительном введении в организм [15, 18]. У животных 2-й экспериментальной группы выявлено увеличение концентрации глюкозы в сыворотке крови при стабильном уровне инсулина (табл. 1). Несмотря на гипергликемию, развивающуюся у крыс при 14-суточной алкогольной интоксикации, уровень глюкозы в мышечной ткани у них не отличается от контрольного (табл. 1). Это, вероятно, объясняется особенностями регуляции транспорта глюкозы в мышцах, которая чувствительна к действию факторов, отличных от концентрации внеклеточной глюкозы [6]. В других органах, в частности в печени, внутриклеточная концентрация субстрата близка к таковой в крови, вследствие высокой проницаемости мембран гепатоцитов для глюкозы. Ранее нами было выявлено увеличение уровня гликемии у крыс при хронической

Таблица 1 - Активность ферментов гликолиза в скелетной мускулатуре (нмоль/мг/мин), уровень гликемии и инсулина в крови крыс при хронической алкогольной интоксикации. Здесь и в табл. 2-3 данные выражены в виде Ме и рассеяния (25 и 75 %); * - статистически значимые различия с контролем ($p < 0,05$)

Параметр	Экспериментальные группы		
	1-я группа контроль	2-я группа 14 суток	3-я группа 29 суток
ГК	31,5 (26,5; 37,9)	29,2 (26,3; 35,4)	20,3 (18,4; 21,9)*
ФФК	80,2 (76,8; 84,6)	79,4 (72,5; 81,3)	88,4 (76,5; 91,7)
ПК	725,5 (702,8; 771,6)	698,4 (678,3; 714,6)	681,6 (658,6; 704,1)
ЛДГ	399,9 (384,1; 406,3)	398,2 (396,3; 404,6)	372,6 (348,7; 380,4)
Гликемия (ммоль/л)	4,48 (3,97; 5,02)	5,78 (5,27; 6,14)*	5,09 (4,87; 5,18)
Инсулин (пмоль/л)	81,9 (72,8; 92,4)	78,8 (71,6; 84,4)	69,3 (60,7; 78,6)*

Таблица 2 - Содержание субстратов углеводного обмена в скелетной мускулатуре крыс при хронической алкогольной интоксикации (мкмоль/г)

Субстрат	Экспериментальные группы		
	1-я группа контроль	2-я группа 14 суток	3-я группа 29 суток
Глюкоза	5,41 (5,19; 5,75)	5,17 (4,97; 5,48)	5,03 (4,97; 5,44)
Г-6-Ф	0,58 (0,46; 0,69)	0,57 (0,45; 0,63)	0,42 (0,25; 0,65)*
Пируват	0,19 (0,14; 0,24)	0,18 (0,12; 0,28)	0,19 (0,17; 0,31)
Лактат	5,98 (5,80; 6,14)	5,87 (5,61; 6,03)	6,14 (5,88; 6,44)
Гликоген	45,5 (38,4; 50,1)	40,7 (34,8; 43,8)	26,8 (24,1; 30,6)*

ческой алкогольной интоксикации и одновременное повышение содержания этого субстрата в ткани печени.

Увеличение сроков алкоголизации до 29-ти суток сопровождается более существенными сдвигами функционирования гликолиза и ПФП в мышечной ткани, чем при предыдущем сроке введения этанола. У животных 3-й экспериментальной группы отмечается снижение активности одного из лимитирующих ферментов гликолиза – ГК (на 36%). Оценивая данные изменения, необходимо учитывать важность регуляции инсулином метаболизма глюкозы в мышечной ткани. Для объяснения влияния данного гормона на метаболизм глюкозы в скелетной мускулатуре был выдвинут ряд теорий [6]. Согласно одной из них, действие инсулина обусловлено его влиянием на активность гексокиназы. Скорость данной реакции в мышечной ткани регулируется через способность гормона снижать ее торможение. Полученные нами данные об ингибировании активности ГК отчасти подтверждают правильность этой теории, т.к. уровень инсулина в сыворотке крыс при этом снижен (табл. 1). Согласно другой теории, действие гормона связано с его влиянием на транспорт глюкозы через клеточную мембрану. Однако уровень глюкозы в мышечной ткани животных 3-й группы не изменен, несмотря на выявленную нами на 14-е сутки введение алкоголя гипергликемию (табл. 1).

Со сниженной скоростью гексокиназной реакции сопоставимо падение уровня Г-6-Ф в скелетной мускулатуре животных 3-й экспериментальной группы (табл. 2). Одновременно с этим обнаруживается снижение концентрации гликогена, уровень

Таблица 3 - Активность ферментов ПФП (нмоль/мг/мин), содержание пентоз (мкмоль/г) в скелетной мускулатуре крыс при хронической алкогольной интоксикации

Параметр	Экспериментальные группы		
	1-я группа контроль	2-я группа 14 суток	3-я группа 29 суток
Г-6-ФДГ	2,65 (2,56; 2,90)	2,96 (2,88; 3,17)	2,77 (2,76; 3,06)
6-ФГДГ	1,34 (1,26; 1,48)	1,52 (1,48; 1,58)	1,66 (1,27; 1,73)
ТК	2,91 (2,81; 3,05)	2,06 (1,76; 2,24)*	1,96 (1,74; 2,22)*
Пентозы	0,31 (0,22; 0,48)	0,32 (0,22; 0,40)	0,17 (0,13; 0,36)*

которого составляет 59 % от контрольного (табл. 2). Нарушение обмена данного субстрата при длительном введении этанола связано, вероятно, с патологией печени, развивающейся при хронической алкогольной интоксикации. Это обусловлено угнетением обмена гликогена при введении этанола. Нами ранее были показаны нарушения метаболизма этого субстрата в печени при длительном введении алкоголя. Выявленные изменения обмена гликогена в мышечной ткани, вероятно, являются следствием вышеуказанных нарушений. Оценивая метаболизм гликогена в организме при введении алкоголя, также необходимо учитывать эндокринную компоненту регуляции данного процесса. Одной из вероятных причин снижения уровня этого субстрата у животных 3-й группы может являться гипoinsулинемия (табл. 1). Кроме этого, имеются данные об увеличении концентрации адреналина в крови экспериментальных особей при длительном введении этанола [2]. Снижение содержания гликогена в тканях животных при хронической алкогольной интоксикации связано, вероятно, с активацией фосфорилазы адреналином.

Введение этанола в течение 29 суток меняет функциональное состояние ПФП в мышечной ткани крыс (табл. 3). У особей 3-й экспериментальной группы отмечается ингибирование активности ТК и, как следствие этого, падение уровня пентоз. Активности дегидрогеназ ПФП при этом не отличаются от контрольного уровня, что соответствует имеющимся литературным данным [2]. Снижение скорости транскетолазной реакции регистрировалось уже при 14-суточной алкогольной интоксикации. Увеличение сроков введения этанола потенцирует данный ингибирующий эффект. Снижение активности ТК в скелетной мускулатуре животных 3-й группы отмечается на фоне выявленного нами ранее ингибирования данной реакции в ткани печени в аналогичных экспериментальных условиях. Это, вероятно, объясняется влиянием длительно вводимого алкоголя на тиаминовый гомеостаз в организме. Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается нарушениями витаминного обмена, в частности B_1 , что, вероятно, обусловлено снижением количества потребляемой пищи, с одной стороны, и функциональными изменениями деятельности органов ЖКТ, с другой.

Заключение

Таким образом, длительное введение алкоголя в организм сопровождается нарушениями функционирования основных путей метаболизма глюкозы в мышечной ткани крыс. Нарушения функционального состояния гликолиза и ПФП в скелетной мускулатуре крыс при хронической алкогольной интоксикации создают предпосылки к более детальному и обстоятельному изучению метаболизма глюкозы, а также ряда регуляторных параметров именно при непродолжительных (субхронических) сроках введения алкоголя. Это обусловлено, с одной стороны, многочисленностью и разносторонностью

метаболических эффектов этанола при его более длительном введении (3 – 6 мес.), с другой стороны – отсутствием данных о поступательном формировании этих нарушений на более коротких сроках алкоголизации. Кроме этого, выявление нарушений функционирования энергопроизводящих процессов в мышечной ткани при хронической алкогольной интоксикации создает предпосылки к оптимизации существующих методов ранней диагностики и коррекции метаболических нарушений при алкоголизме, а также конкретизирует сроки начала проведения лечебных мероприятий.

Литература

1. Колб В.Г., Камышников В.С. Справочник по клинической химии. Мн.: Беларусь, 1982.
2. Косенко Е.А., Каминский Ю.Г. Углеводный обмен, печень и алкоголь. Пушино, 1988.
3. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа, 1980.
4. Мильман Л.С., Юровицкий Ю.Г., Ермолаева Л.П. Определение содержания некоторых субстратов и промежуточных продуктов углеводного обмена в тканях // Методы биологии развития. М.: Наука, 1974. С. 415-433.
5. Моисеев В.С., Огурцов П.П., Троянова Т.Т. Алкоголь и здоровье населения России 1900-2000 гг. М.: Российская ассоциация общественного здоровья. 1998.
6. Ньюсхолм Э., Старт К. Регуляция метаболизма. М.: Мир, 1977.
7. Прохорова Ж.И. Методы биохимических исследований. Л., 1982.
8. Сидоров П.И., Ишеков Н.С., Соловьев А.Г. Соматогенез алкоголизма. М.: МЕД-пресс-информ, 2003.
9. Bergmayer H. Methoden der enzymatischen Analyse. Weinheim, 1962.
10. Bruns F., Dunwald H., Noltmann E. Uber den Stoffwechsel von Ribose-5- phosphat in Hamolysaten // Biochem. Ztscher. 1958. N 5. P. 497-508.
11. Durgyn C., Gonzalez- Reimers E., Lopez- Lirala A. et. al. Alcoholic myopathy: lack of effect of zinc supplementation // Food Chem. Toxicol. 2005. Vol. 43, N 9. P. 1333-1343.
12. Hohorst H., Krentz F., Bucher T. Uber Metabolitgehalte und Metabolitkonzentrationen in der Leber der Ratte // Biochem. Ztscherf. 1959. Bd. 332, N 1. P. 18-46.
13. Garriga J., Fernandez- Soby J., Adanero E. et. al. Metabolic effects on primary cell cultures of rat skeletal muscle // Alcohol. 2005. Vol. 35, N 1. P. 75-82.
14. Glock G., Mc Lean P. Further studies on the properties and assay of glucose- 6- phosphate dehydrogenase and 6- phosphogluconate dehydrogenase of rat liver // Biochem. J. 1953. Vol. 53, N 3. P. 400-401.
15. Mukherjee A., Svoronos S., Ghazanfani A. et. al. Transketolase abnormality in cultured fibroblasts from familial chronic alcoholic men and their male offspring // J. Clin. Invest. 1987. Vol. 79, N 4. P. 1039-1043.
16. Preedy V.R., Richardson P.J. Ethanol induced cardiovascular disease // British Med. Bull. 1994. N 50. P. 217-230.
17. Salas M., Vinuela E., Sols A. Insulin- dependent synthesis of liver glucokinase in the rats // J. Biol. Chem. 1963. Vol. 238, N 11. P. 3535-3538.
18. Shaw S., Gorkin B., Lieber C. Effects of chronic alcohol feeding on thiamin status: biochemical and neurological correlates // Am. J. Clin. Nutr. 1981. Vol. 34, N. 5. P. 856-860.
19. Undervud A., Newsholme E. Properties of phosphofruktokinase from rat liver and their relation to the control of glycolysis and gluconeogenesis // Biochem. J. 1965. Vol. 95, N 7. P. 868-875.
20. Vary T., Deiter G. Long- term alcohol administration inhibits synthesis of both myofibrillar and sarcoplasmic proteins in heart // Metabolism. 2005. Vol. 54, N 2. P. 212-219.
21. Xu D., Dillon A., Davey G. et. al. Alcohol and glucose metabolism in skeletal muscles in the rat // Addict.Biol. 1996. Vol. 1, N 1. P. 71-83.

Поступила 31.10.07