

УДК 615.212.7: 612.015.32: 612.74] – 092.9

ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ ГЛИКОЛИЗА В СКЕЛЕТНОЙ МУСКУЛАТУРЕ КРЫС ПРИ МОРФИНОВОМ АБСТИНЕНТНОМ СИНДРОМЕ

С.В. Лелевич, К.М.Н.

Кафедра анестезиологии и реаниматологии

с курсом клинической биохимии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

На фоне развития морфинового абстинентного синдрома в скелетной мускулатуре крыс отмечаются признаки ингибирования гликолиза. Наиболее выраженные изменения выявляются спустя одни сутки после отмены наркотика.

Ключевые слова: морфин, гексокиназа, пируваткиназа, глюкоза, пируват.

The signs of glycolysis inhibition have been noted in the rat muscle after morphine abstinence. The most significant changes have been revealed 1 day after morphine cessation.

Key words: morphine, hexokinase, pyruvatekinase, glucose, pyruvate.

Введение

Абстинентный синдром представляет собой состояние, возникающее не одномоментно, а формирующееся постепенно, на протяжении определенного срока наркомании. Он состоит из фаз, появляющихся последовательно и закономерно во времени. По прошествии острых признаков абстиненции, возникающее состояние не может квалифицироваться как ремиссия. Это период неустойчивого равновесия, когда любая нагрузка может вызвать возвращение абстинентных симптомов. Несмотря на многочисленные клинические и экспериментальные исследования в этой области, явно недостаточно данных о том, как связаны между собой конкретные поведенческие, соматические и биохимические нарушения. Для понимания механизмов развития этих сдвигов существенное значение имеет вопрос об органной дифференциации патохимических эффектов наркотических средств при продолжительном их использовании и тех нарушений, которые возникают вследствие прекращения их введения в организм. Появление признаков абстинентного синдрома свидетельствует о качественном изменении функций организма в целом и отдельных его систем в частности. Более или менее длительная по продолжительности систематическая наркотизация, вызывая в начале приспособительную компенсацию, впоследствии преодолев ее, приводит к качественному сдвигу гомеостаза. В экспериментальной практике для изучения опиатного абстинентного синдрома чаще используют крыс [2]. Опиаты, как правило, вводятся системно периодически или постоянно, даются животным с кормом, подводятся к определенным структурам ЦНС в форме микроинфузий. После прекращения поступления наркотика в организм развивается спонтанный, «естественный» абстинентный синдром, а при введении антагонистов - индуцированный синдром отмены. Для этой цели чаще используют налоксон или налтрексон [1]. Однако в последнем случае следует учитывать индивидуальные или модулированные эффекты

вводимого антагониста опиатных рецепторов. В этой связи нами был избран вариант «естественного» абстинентного синдрома, который моделируется различными исследователями в незначительных вариантах, касающихся доз и сроков вводимого наркотика [8, 9].

Абстинентный синдром при различных формах наркоманий имеет отдельные специфические клинические проявления. При опийной абстиненции – это боли в крупных мышцах ног, рук, спины, что определяет клиническую картину «наркотической ломки» [10]. Данный факт явился одним из оснований нашего интереса к изучению метаболизма глюкозы в мышечной ткани при морфиновом абстинентном синдроме (МАС).

Материалы и методы

МАС моделируется в разных вариантах [6, 9]. Нами был использован один из них, широко опубликованный в литературе [8]. В эксперименте по моделированию МАС было использовано 40 животных, которые были разделены на 5 равных групп. Абстинентный синдром моделировали путем внутрибрюшинного введения морфина гидрохлорида первые двое суток в дозе 10 мг/кг массы тела, 3-4 сутки – 20 мг/кг, 5-7 сутки – 40 мг/кг массы тела. Животных декапитировали через 1 час (2-ая группа), 1 сутки (3-я группа), 3 суток (4-ая группа) и 7 суток (5-ая группа) после последнего введения наркотика. Контрольные особи (1-ая группа) получали эквивалентные количества физиологического раствора хлорида натрия. Скорость ферментов определяли в надосадочной фракции печени (10000 g x 20 мин). Энзиматическими методами устанавливали активность гексокиназы (ГК; К.Ф. 2.7.1.1.) [12], фосфофруктокиназы (ФФК; К.Ф. 2.7.1.11.) [13] и пируваткиназы (ПК; К.Ф. 2.7.1.40.) [11]. Активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ; К.Ф. 1.1.1.27.) устанавливали по скорости окисления НАДН [6]. Белок определяли по Лоури. Содержание глюкозы [5] и пирувата [7] определяли в хлорных гомогенатах с использованием энзиматических методов.

Результаты и обсуждение

К концу периода форсированной наркотизации (2-ая группа) активность изучаемых ферментов гликолиза в мышечной ткани не изменяется по сравнению с контролем (табл. 1). В то же время содержание субстратов претерпевает определенные изменения. Концентрация глюкозы статистически значимо снижается на 20%, а концентрация пирувата не отличается от контроля.

Таблица 1. Активность ферментов гликолиза (нмоль/мг белка /мин) в скелетной мускулатуре крыс при морфиновом абстинентном синдроме

ФЕРМЕНТ	Экспериментальные группы				
	1-ая гр. контроль	2-ая гр. 1 час	3-я гр. 1 сутки	4-ая гр. 3 суток	5-ая гр. 7 суток
ГК	20,9±2,10	15,1±1,86	12,9±1,35*	11,9±1,24*	17,6±1,91
ФФК	77,4±7,25	97,2±9,40	55,9±5,88*	98,5±7,17	93,6±10,20
ПК	755,8±63,7	604,7±39,6	674,3±56,9	711,3±60,5	739,2±76,4
ЛДГ	379,1±28,3	412,6±44,1	338,5±24,7	312,1±10,3* ⁰	372,0±18,0

* - статистически значимые различия с 1-ой группой

⁰ - статистически значимые различия со 2-ой группой

На высоте поведенческих проявлений абстинентного синдрома (3-я группа) отмечается ингибирование ферментов начальных реакций гликолиза – ГК и ФФК, тогда как активность ПК и ЛДГ не отличается от контроля (табл. 1). Содержание глюкозы при этом ниже контрольного уровня на 20% ($P < 0,05$), а концентрация одного из субстратов конечных стадий гликолиза – пирувата – у животных 3-ей группы соответствует контрольным значениям. Полученные результаты можно расценивать как признаки угнетения начальных реакций гликолиза в скелетной мускулатуре через сутки после прекращения морфинизации.

Удлинение сроков абстиненции до 3-х суток не приводит к нормализации функционирования гликолиза в мышечной ткани. Активность ГК при этом снижается на 43% ($P < 0,01$), а ЛДГ на 18% ($P < 0,05$) по сравнению с контрольным уровнем. При этом активность ЛДГ ниже значений данных показателей у животных 2-ой группы. Скорость ПК и ФФК у животных 4-ой группы статистически значимо не изменяется (табл. 1). Концентрация глюкозы и пирувата не отличается от соответствующих значений у контрольных особей (табл. 2).

Таблица 2. Содержание субстратов углеводного обмена (мкмоль/г ткани) в скелетной мускулатуре крыс при морфиновом абстинентном синдроме

СУБСТРАТ	Экспериментальные группы				
	1-ая гр. контроль	2-ая гр. 1 час	3-я гр. 1 сутки	4-ая гр. 3 суток	5-ая гр. 7 суток
Глюкоза	3,01±0,19	2,40±0,21*	2,43±0,19*	2,66±0,23	2,52±0,18
Пируват	0,25±0,021	0,20±0,022	0,22±0,017	0,26±0,029	0,28±0,036

* - статистически значимые различия с 1-ой группой

Через 7 суток после прекращения введения морфина происходит нормализация активности всех изученных ферментов и содержания субстратов гликолиза.

Данные о функционировании гликолиза в мышечной ткани при морфиновой абстиненции отличаются от таковых в печени. Ранее нами было показано, что на фоне развития МАС в печени крыс отмечаются признаки ингибирования гликолиза через одни сутки с повторным их проявлением через семь суток после прекращения введения морфина [3]. То есть, через сутки после прекращения введения наркотика отмечается одностороннее ингибирование гликолиза в печени и скелетной мускулатуре, тогда как к концу недельного срока абстиненции данный эффект регистрируется только в

печени. Одной из причин таких тканевых различий могут быть противоположные изменения эндокринной активности поджелудочной и щитовидной желез в данных экспериментальных условиях и, как следствие этого, формирование дисгормонального состояния [4].

Таким образом, степень нарушений функционирования гликолиза в скелетной мускулатуре крыс при МАС прослеживает определенную временную динамику после прекращения введения наркотика. К концу первых суток абстиненции наблюдаются наиболее выраженные признаки ингибирования начальных реакций гликолиза, которые несколько нивелируются через трое суток. Спустя 7 дней после прекращения морфинизации функционирование гликолиза в скелетной мускулатуре нормализуется. Полученные данные об ингибировании гликолиза в печени и скелетной мышце на высоте МАС подчеркивают его важное значение в развитии этого состояния. В этом плане сведения о состоянии углеводно-энергетического обмена должны рассматриваться как элементы патогенетического подхода в решении проблемы профилактики и купирования МАС.

Выводы

1. Степень нарушения функционирования гликолиза в скелетной мускулатуре крыс при МАС прослеживает определенную временную динамику после прекращения введения наркотика.
2. Через одни сутки после прекращения назначения морфина происходит снижение активности ГК и ФФК, содержания глюкозы.
3. К концу недельного срока МАС отмечается нормализация функционирования гликолиза в скелетной мускулатуре.

Литература

1. Белозерцева И.В., Андреев Б.В. Влияние ГАМК-позитивных средств на формирование зависимости от морфина и проявления синдрома отмены // Эксперим. и клиническая фармакология. – 2000. – Т. 63, № 1. – С. 19-23.
2. Головки А.И., Леонтьева Л.В., Головки С.И. Нейрохимические основы ультрабыстрой опийной детоксикации // Вопросы мед. химии. – 2002. – Т. 48, № 2. – С. 154-173.
3. Лелевич С.В. Содержание субстратов гликолиза в печени крыс при морфиновом абстинентном синдроме // Научно-практич. конф., посвященная памяти проф. Габузова А.Н.: Тезисы докл. – Гродно, 2005. – С. 118-119.
4. Лелевич С.В., Киселевский Ю.В. Активность ферментов гликолиза в печени, состоянии эндокринной функции щитовидной и поджелудочной желез крыс при морфиновом абстинентном синдроме // Журнал ГГМУ. – 2005. – № 1. – С. 28-30.
5. 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.
6. Панченко А.Ф., Перегуд Д.И., Яковлев А.А. и др. Влияние синдрома отмены морфина на систему оксида азота в печени и тимусе крыс // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50, вып. 5. – С. 460-470.
7. Прохорова Ж.И. Методы биохимических исследований. – Л., 1982. – 272 с.
8. Селевич М.И., Лелевич В.В., Развадовский Ю.Е. О возможности коррекции аминокислотами нарушений фосфолипидного состава различных структур головного мозга крыс при морфиновом абстинентном синдроме // Нейрохимия. – 1999. – Т. 69, № 1. – С. 62-65.
9. Судаков С.К., Теребилина Н.И., Медведева О.Ф. Влияние апропина на содержание бета-эндорфина и субстанции Р в плазме крови у морфинзависимых крыс во время абстиненции // Нейрохимия. – 2000. – Т. 17, № 3. – С. 207-210.
10. Фридман Л., Флеминг Н., Робертс Д., Хайман С. Наркология. – М.: Бино, 1998. – 318 с.
11. Bergmayer H. Methoden der enzymochemie // W., 1962
12. Salas M., Vinueza E., Sols F. Insulin-dependent synthesis of liver glycokinase in the rat // J. Biol. Chem. 1963. № 11. P. 3535-3538
13. Underwood A., Newsholme E. Properties of phosphofructokinase from rat liver and their relation to the control of glycolysis and glycogenesis // Biochem. J. 1965. V. 95. P. 868-875

Поступила 26.01.06