

УДК 612.015.32 [(616.89. – 008.441): 612.27]

ЭФФЕКТЫ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ В ПЕЧЕНИ И МИОКАРДЕ

В. В. Климович, к.м.н., доцент

Кафедра биохимии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

В статье анализируются изменения активности регуляторных ферментов пентозофосфатного пути (ПФП): глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и транскетолазы в печени и миокарде у крыс в условиях экспериментальной прерывистой алкоголизации. Обнаруженные изменения в активности ферментов свидетельствуют об угнетении функционирования ПФП и зависят от продолжительности прерывистой алкоголизации, сопровождающейся декомпенсацией антиоксидантных процессов и развитием тиаминового гиповитаминоза.

Ключевые слова: этанол, печень, миокард, пентозофосфатный путь, ключевые ферменты.

The article presents the activity alterations of the pentosephosphate pathway (PPhP) regulative enzymes: glucose-6-phosphate dehydrogenase and transketolase in liver and heart of rats under experimental intermittent alcoholization. It was discovered that changes in the activity of enzymes reflect depressed function of PPhP and depend on duration of intermittent alcoholization accompanied by decompensation of antioxidative processes and development of thiamine hypovitaminosis.

Key words: ethanol, liver, heart, pentosephosphate pathway, key enzymes.

Механизмы действия алкоголя на организм человека широко обсуждаются в литературе [4, 5, 7]. Известно, что этанол метаболизируется под действием алкогольдегидрогеназы, частично окисляется в микросомах и с использованием каталазы. При уровне алкоголя выше 1,5 г/л продуцируемый ацетальдегид не успевает метаболизироваться до ацетата. Известно, что токсичность ацетальдегида в 20-30 раз выше, чем этанола, и, благодаря своей высокой реакционной способности, он повреждает мембраны и ферментные системы клеток [7]. Ацетальдегид, стимулируя высвобождение биогенных аминов и взаимодействуя с дофамином и норадреналином, принимает участие в формировании постинтоксикационного синдрома – состояние похмелья – и алкогольного абстинентного синдрома [2]. Нарушается метаболизм глюкозы, угнетается энергетический обмен и белок-синтетические процессы в органах и тканях: печени, почках, мозге, миокарде [6]. Этанол и продукты его обмена индуцируют образование активных форм кислорода: супероксидного аниона, пероксида водорода, – которые активируют перекисное окисление липидов и разрушение мембран клеток. Таким образом, биологическое действие этанола многогранно и включает физико-химические, мембранотропные, метаболические, геномодифицирующие (тератогенные), наркотические и токсические эффекты.

Организм человека обладает эндогенными и экзогенными системами антиоксидантной защиты. Первую систему обеспечивают такие ферменты, как каталаза, пероксидаза, супероксиддисмутаза и глутатион. Вторую – антиоксидантные витамины: аскорбат, токоферол, ретинол и микронутриенты (селен, цинк) [11]. При активации окислительных процессов, вызванных разными причинами, наступает истощение концентрации внутриклеточных антиоксидантов, в том числе восстановленного глутатиона. Показано, что введение глутатиона ускоряет выведение из состояния алкогольной интоксикации [12]. Глутатионредуктаза, восстанавливающая окисленный глутатион, является селен- и НАДФН₂-зависимым ферментом. Обнаружено снижение содержания селена в печени, сердечной мышце и других тканях при отравлении этанолом [1]. Более 50 % образующегося в организме НАДФН₂ для регенерации окисленного глутатиона и восстановительных биосинтезов (холестерола, жирных кислот) обеспечивает пентозофосфатный путь (ПФП) метаболизма глюкозы. Этот же процесс продуцирует пентозофосфаты для биосинтеза нуклеотидов.

Во многих работах обсуждается действие алкоголя при острой или хронической алкогольной интоксикации. Однако в настоящее время часто стали встречаться ситуации, когда периоды интен-

сивного потребления алкоголя чередуются с периодами абстиненции и состоянием похмелья, то есть прерывистой алкоголизации. Однако из крови и мочи этиловый спирт исчезает полностью через 72 часа [7], поэтому в эти временные промежутки между запоем и абстиненцией этанол и его метаболиты продолжают оказывать своё негативное действие.

Представляет интерес изучить активность ключевого фермента окислительной части ПФП – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г6ФДГ; КФ 1.1.1.49), отражающего процессы наработки восстановленного НАДФ. Функционирование фермента неокислительной части ПФП-транскетотазы (ТК; КФ 2.2.2.1) отражает обеспеченность тканей витамином В₁, который участвует в энергетическом и углеводном обменах (тяжесть интоксикации этанолом во многом зависит от алиментарных нарушений: дефицита витаминов, белков, микроэлементов).

Материалы и методы. Исследования проводили на крысах-самцах линии Wistar, которые находились на обычном пищевом рационе вивария. 12 часов до декапитации животные голодали. Опытным крысам интрагастрально вводили 25% раствор этанола дважды в сутки в наркотической дозе 3,5 г/кг массы тела. Для исследований были сформированы 6 групп по 9 животных в каждой. Первая опытная группа крыс получала алкоголь в течение четырёх суток с декапитацией через сутки после отмены этанола. Вторая опытная группа находилась в тех же условиях эксперимента, однако декапитация проводилась через трое суток после отмены алкоголя. В третьей опытной группе двукрат-

но повторяли периоды: четверо суток алкоголизации, трое суток отмены. Декапитация осуществлялась на 14 сутки от начала эксперимента. В четвёртой и пятой опытных группах прерывистый цикл «алкоголизация – отмена» был воспроизведён четырежды с декапитацией через одни сутки в четвёртой группе и через трое суток после последнего приёма этанола в пятой. Животные контрольной группы вместо этанола получали соответствующее количество воды. В центрифугатах гомогенатов ткани печени и миокарда определяли активность Г6ФДГ [9] и ТК [8]. Активность ферментов рассчитывали на белок, определённый по Лоури [10]. Полученные результаты обработаны методом вариационной статистики.

Результаты и обсуждение

В ткани печени активность Г6ФДГ и ТК в группе опытных животных, получавших этанол в течение одного 4-суточного цикла через одни сутки отмены не отличалась от контрольных значений (таблица). В то же время установлено, что в миокарде активность Г6ФДГ значительно возрастала по сравнению с контрольными цифрами. Вероятно, в эти сроки гепатоциты ещё компенсируют воздействие окислительных процессов, а миокардиоциты увеличивают наработку восстановленных эквивалентов в ответ на алкогольную интоксикацию.

Во второй опытной группе к третьим суткам после последнего приёма этанола активность Г6ФДГ в печени остаётся неизменной, в миокарде восстанавливается до контрольных значений. Однако следует обратить внимание, что возникают метаболические признаки развивающегося тиамино-

Таблица. Активность Г6ФДГ (нмоль НАДФН₂ · мг белка⁻¹ · мин⁻¹), ТК (нмоль С-7-Ф · мг белка⁻¹ · мин⁻¹) в печени и миокарде при прерывистой алкоголизации, 25 % р-р этанола внутривенно, 3,5 г/кг 2 раза в сутки

Ткань	Показатель	Группы животных					
		Контроль	Опыт ₁	Опыт ₂	Опыт ₃	Опыт ₄	Опыт ₅
		1	2	3	4	5	6
Печень	n	9	10	10	10	9	10
	Г6ФДГ (M±m)	5,56 ± 0,21	5,71 ± 0,23	5,38 ± 0,09	9,01 ± 0,57	3,82 ± 0,15	3,67 ± 0,26
	P		1-2 > 0,5	1-3 > 0,5	1-4 < 0,001	1-4 < 0,001	1-5 < 0,001
	ТК (M±m)	45,2 ± 1,90	41,7 ± 2,07	39,3 ± 1,66	41,5 ± 2,09	28,7 ± 1,57	26,4 ± 0,96
	P		1-2 > 0,3	1-3 < 0,05	1-4 > 0,2	1-5 < 0,001	1-6 < 0,001
Миокард	n	10	10	10	10	10	10
	Г6ФДГ (M±m)	5,30 ± 0,23	8,99 ± 0,26	5,90 ± 0,21	8,96 ± 0,47	2,96 ± 0,33	2,19 ± 0,09
	P		1-2 < 0,001	1-3 > 0,1	1-4 < 0,001	1-5 < 0,001	1-6 < 0,001
	ТК (M±m)	1,36 ± 0,09	1,25 ± 0,06	1,33 ± 0,07	0,84 ± 0,05	0,84 ± 0,04	0,86 ± 0,05
	P		1-2 > 0,3	1-3 > 0,5	1-4 < 0,001	1-5 < 0,001	1-6 < 0,001

Примечание. n – количество животных в группах; P – различия в сравниваемых группах.

вого гиповитаминоза, о чём свидетельствует угнетение ТК печени.

При анализе двукратного периода «алкоголизация-отмена» нами установлено, что в печени полученные результаты соответствуют данным, как и при однократном цикле. В миокарде в отношении активности изучаемых ферментов отмечено угнетение ключевых ферментов как окислительной, так и неокислительной ветвей ПФП, что может говорить о декомпенсирующем повреждающем воздействии этанола и продуктов его метаболизма на сердечную мышцу. Воспроизведенный цикл четырежды через одни сутки отмены этанола (опыт₄) приводит к истощению ферментной активности изученных энзимов как в печени, так и в миокарде. В аналогичной ситуации эксперимента через трое суток после последнего поступления этанола в организм (опыт₃) активность ферментов по-прежнему остаётся достоверно низкой по сравнению с контрольными значениями.

Таким образом, запойное прерывистое пьянство приводит к существенным изменениям в функционировании ключевых ферментов ПФП в организме. Наблюдаемые изменения активности Г6ФДГ и ТК могут быть обусловлены декомпенсацией функционирования антиоксидантных систем в печени и миокарде, а так же развитием тиаминового гиповитаминоза. Ранее нами было показано, что в случае хронической интоксикации в течение пяти суток непрерывно через 1, 3 и 7 суток после прекращения поступления этанола в организм активность изученных ферментов в достаточной мере компенсирована [3]. По-видимому, многократно повторяющиеся периоды «алкоголизация-отмена» приводят к более выраженному и глубокому повреждению этанолом и продуктами его метаболизма клеток печени и миокарда, что может вызвать нарушение функционирования этих органов.

Литература

1. Авходиев Г. Н., Кузьмина О. З. Содержание селена в некоторых органах и тканях при алкогольной интоксикации // Пробл. эксперименты в мед. – 2002. – № 3. – Т. 2. – С. 18-20.
2. Езриелев Г. И. Ацетальдегид и алкоголизм. Фармакогенез тетурам-алкогольной реакции и управление ею путём связывания ацетальдегида метабисульфитом натрия // Журн. Невропат. и психиатр. – 1973. – Т. 73. – № 2. – С. 238-243.
3. Климович В. В., Масловская А. А., Лелевич В. В. Показатели метаболизма углеводов в печени крыс при алкогольном абстинентном синдроме и введении смеси аминокислот // Биохимические аспекты жизнедеятельности биологических систем: Сб. научн. трудов / Под общ. ред. Л. И. Нефедова. – Гродно, ГрГУ, 2000. – С. 126-128.
4. Мискевич Д. А., Петушок Н. Э., Лелевич В. В. и др. Свободнорадикальные процессы в печени крыс при прерывистой алкогольной интоксикации // Современные аспекты изучения алкогольной и наркотической зависимости / Сборник научных статей. – Гродно, 2004. – С. 108-112.
5. Островский Ю. М. Метаболическая концепция генеза алкоголизма // Биохимия алкоголизма / Под ред. Ю. М. Островского. – Минск: Наука и техника, 1982. – 320 с.
6. Пауков В. С., Бсляева Н. Ю., Воронина Т. М. Алкоголизм и алкогольная болезнь // Тер. Арх. – 2001. – Т. 3. – № 2. – С. 65-67.
7. Первова Ю. В. О механизмах действия алкоголя на организм человека // Вопросы питания. – 2004. – № 3. – Т. 73. – С. 43-47.
8. Bruns F. N., Dunwald H., Holtman E. Uber den stoffwechsel von Ribose-5-Phosphat in Hamolysaten // Biochem. Ztschr. – 1958. – Bd. 330. – № 5. – S. 497-508.
9. Kornberg A., Horecher B. L. Glucose-6-phosphate dehydrogenase // Methods in Enzymology. – 1955. – Vol. 1. – P. 323-327.
10. Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951 – Vol. 193. – № 1. – P. 265-275.
11. Neve Jean. Modulation de L'apport alimentaire en anti-oxydants // Nutr. Clin. et metab. – 2002. – V. 16. – № 4. – P. 292-300.
12. Uu Feng, Li Hong. Zhongguo xinyao yu Linchuang zazhi // Clin. J. New Drugs and Qin. Rem. – 2003. – № 4. – Vol. 22. – P. 231-233.

Resume

EFFECTS OF INTERMITTENT ALCOHOLIZATION ON THE ACTIVITY OF THE ENZYMES OF THE PENTOSEPHOSPHATE PATHWAY IN THE LIVER AND HEART

Klimovich V. V.

Grodno State Medical University

The activity of key enzymes of PPhP (glucose-6-phosphate dehydrogenase and transketolase) increases in liver and heart with intermittent alcoholization. It may cause impaired functioning of these organs.