

УДК 577.124.8

УРОВЕНЬ ГЛЮКОЗЫ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МОДЕЛИРОВАНИИ ФИЗИЧЕСКОЙ ЗАВИСИМОСТИ ОТ АЛКОГОЛЯ НА ФОНЕ ПРИМЕНЕНИЯ L-КАРНИТИНА

¹Ефременко Е.С., ²Яковлева С.И.

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет»

Министерства здравоохранения Российской Федерации, Омск, e-mail: bx-osma@mail.ru;

²БОУ «Гимназия № 115», Омск

Большая значимость алкоголизма в медико-социальном аспекте служит важным пусковым фактором для оценки влияния различных лекарственных веществ на обменные процессы в организме при воздействии избыточного количества этилового алкоголя. Критическим моментом при алкогольной зависимости считается формирование алкогольного абстинентного синдрома. Совокупность изменений метаболизма определяет возникновение гипоэнергетического состояния клеток в данных условиях. Поэтому в аспекте корректирующих мероприятий по устранению нарушений метаболизма при алкогольной интоксикации и алкогольной зависимости важнейшее значение отводится восстановлению энергетического потенциала клеток, восстановлению уровня АТФ. В условиях отмены этанола, прекращения его действия, снижения ингибирующего влияния ацетальдегида на компоненты электрон-транспортной цепи митохондрий необходимость использования всех энергетических субстратов с максимальной эффективностью приобретает особую значимость. В связи с этим интерес представляет действие карнитина в качестве лекарственного вещества, являющегося искусственным аналогом естественного карнитина. В материале публикации представлена информация о содержании глюкозы в сыворотке крови при формировании реакции отмены этанола в условиях использования L-карнитина. Показано, что L-карнитин снижает уровень глюкозы в крови животных, получавших только карнитин, при сравнении с контрольной группой. Концентрация глюкозы в крови увеличивается при одновременном назначении этанола и L-карнитина в условиях сопоставления данных с животными, получавшими только L-карнитин. Указанные изменения могут быть связаны с нарушениями функционирования нейромедиаторных и гормональных систем организма животных в условиях тяжелой, принудительной алкоголизации.

Ключевые слова: алкоголь, алкоголизм, алкогольная интоксикация, глюкоза, углеводы, карнитин, жирные кислоты, метаболизм

BLOOD GLUCOSE LEVEL IN EXPERIMENTAL MODELING OF PHYSICAL DEPENDENCE ON ALCOHOL AGAINST THE BACKGROUND OF L-CARNITINE USE

¹Efremenko E.S., ²Yakovleva S.I.

¹Federal State Funded Educational Institution for Higher Education Omsk State Medical University

Ministry of Public Health, Russian Federation, Omsk, e-mail: bx-osma@mail.ru;

²Budget educational institution «Gymnasium № 115», Omsk

The great significance of alcoholism in the medical and social aspect serves as an important starting factor for evaluating the effect of various drugs on metabolic processes in the body when exposed to excessive amounts of ethyl alcohol. The critical moment in alcohol dependence is considered to be the formation of alcohol withdrawal syndrome. The set of changes in metabolism determines the occurrence of a hypoenergetic state of cells in these conditions. Therefore, in the aspect of corrective measures to eliminate metabolic disorders in alcohol intoxication and alcohol dependence, the most important importance is given to restoring the energy potential of cells, restoring the level of ATP. In the conditions of ethanol withdrawal, termination of its action, and reduction of the inhibitory effect of acetaldehyde on the components of the electron transport chain of mitochondria, the need to use all energy substrates with maximum efficiency becomes particularly important. In this regard, the action of carnitine is of interest. The publication provides information on the content of glucose in the blood serum during the formation of the ethanol withdrawal reaction under the conditions of L-carnitine use. L-carnitine has been shown to reduce blood glucose levels in animals treated with carnitine alone when compared with a control group. The concentration of glucose in the blood increases with the simultaneous administration of ethanol and L-carnitine in the conditions of comparison of data with animals that received only L-carnitine. These changes may be associated with impaired functioning of the neurotransmitter and hormonal systems of the animal body in conditions of severe, forced alcoholism.

Keywords: alcohol, alcoholism, alcohol intoxication, glucose, carbohydrates, carnitine, fatty acids, metabolism

Глюкоза является главным моносахаридом крови и тканей организма человека и животных. При её катаболизме в аэробных и анаэробных условиях происходит образование энергии в форме АТФ (аденозинтрифосфат), которая используется для

обеспечения функциональной активности клеток. Помимо гликолиза, ещё одним направлением распада глюкозы считается гексозомонофосфатный (пентозный, пентозофосфатный, апотомический) путь, связанный с обеспечением клеток пентозами

и НАДФН₂ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный) для анаболических целей.

Кроме интенсивности распада, уровень глюкозы в клетках и внеклеточной жидкости зависит от:

1) поступления глюкозы в организм с продуктами питания (в основном в виде гомополисахарида растительных тканей – крахмала и его аналога в клетках животных – гликогена);

2) образования глюкозы из углеводного резерва – гликогена ткани печени и скелетных поперечно-полосатых миоцитов;

3) биосинтеза из веществ неуглеводной природы (лактата, пирувата, гликогенных аминокислот, метаболитов цикла трикарбоновых кислот) в результате реакций глюконеогенеза [1].

Направление превращения глюкозы зависит от соотношения окисленной и восстановленной форм НАД (никотинамидадениндинуклеотид). Представляется, что окисленная форма НАД является аллостерическим активатором регуляторных, скорость-лимитирующих ферментов гликолиза (гексокиназы, фосфофруктокиназы, пируваткиназы). Восстановленная форма НАД, наоборот, ингибирует гликолиз.

При биотрансформации этилового спирта в результате функционирования фермента алкогольдегидрогеназы происходит избыточное накопление восстановленной формы НАД в клетках. Данный феномен носит название «протонная интоксикация», вследствие того что возникают многочисленные изменения метаболических процессов [2]. Данный момент также оказывает влияние на содержание глюкозы в клетках и тканях организма. В связи с этим актуальным видится вопрос о возможной коррекции изменений метаболизма глюкозы в условиях алкоголизации.

Цель исследования: выяснить влияние L-карнитина на гликемический статус крыс, подвергшихся принудительной алкоголизации.

Задачи исследования:

1) оценить уровень глюкозы в сыворотке крови алкоголизованных крыс;

2) определить сывороточную концентрацию глюкозы у крыс при реакции отмены этанола в условиях введения L-карнитина.

Материалы и методы исследования

В эксперименте использовали 39 белых беспородных крыс-самцов массой 220 г, у которых вызывали реакцию отмены этанола. Для этого животным внутривенно вводили 25% раствор этанола в дозе 8 г/кг массы тела, что соответствует половине

полулетальной дозы. Этанол вводили в течение 4,5 суток утром и вечером, интервал между введениями составлял 12 часов. После завершения алкоголизации животных выводили из эксперимента путём декапитации под эфирным наркозом. Животные были разделены на группы: группа «А» (n = 10) – животные, которым вводили этанол по схеме, указанной выше; группа «L-КАР» (n = 10) – животные, которым интрагастрально вводили L-карнитин (препарат «L-КАР») в течение 4,5 суток в дозе 300 мг/сут.; группа «А+L-КАР» (n = 10) – алкоголизованные крысы, которым при формировании реакции отмены этанола интрагастрально вводили L-карнитин в дозе 300 мг/сут. (препарат «L-КАР»); группу «К» (n = 9) составили животные, которым вводили физиологический раствор хлорида натрия в эквивалентном количестве.

Содержание глюкозы в крови определяли глюкозооксидазным методом с использованием набора реактивов компании «Вектор-Бест». Указанный метод определения концентрации глюкозы в сыворотке крови заключается в том, что глюкоза под влиянием фермента глюкозооксидазы подвергается окислению. В качестве продуктов реакции образуются глюконовая кислота и пероксид водорода. Последний подвергается разрушению при участии фермента пероксидазы, что сопряжено с конденсацией парааминоантипирин и фенола с формированием окрашенного соединения (иминофеназон). Интенсивность окраски реакционной смеси прямо пропорциональна концентрации глюкозы в исследуемой пробе.

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием компьютерных программ Microsoft Excel, Statistica 6.0. В качестве параметров описательной статистики использовали медиану, верхний и нижний квантили.

Для оценки статистической значимости различий применяли непараметрические критерии: Манна-Уитни (U) для независимых выборок и Вилкоксона (W) для связанных выборок. Уровень значимости был общепринятым для биологических исследований ($p < 0,05$) [3].

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ сыворотки крови животных, подвергнутых принудительной алкоголизации, свидетельствует о том, что в группе «L-КАР» уровень глюкозы снижен на 23,9% ($pU = 0,002$) по сравнению с группой контроля. В группе «А+L-КАР» содержание глюкозы в сыворотке крови увеличе-

но на 13,6% ($pW = 0,017$) по отношению к группе «L-КАР».

Регуляция уровня глюкозы в различных средах организма человека сопряжена с определенным значением соотношения АДФ/АТФ (аденозиндифосфат/аденозинтрифосфат). Накопление АДФ стимулирует распад глюкозы и отрицательно влияет на ее биосинтез. АТФ – аллостерический ингибитор гликолиза и активирует образование глюкозы.

Дополнительно к этому продукт алкогольдегидрогеназной реакции – ацетальдегид – блокирует действие компонентов митохондриальной дыхательной цепи, тем самым уменьшая образование АТФ.

Также хорошо известно, что при алкогольной интоксикации ингибируется действие регуляторного фермента глюкозо-6-фосфоэнолпируваткарбоксикиназы. Это является ключевым моментом в изменениях обмена глюкозы при воздействии этилового алкоголя в связи с тем, что накопление НАДН₂ и уменьшение уровня АТФ оказывают разнонаправленное влияние на распад и синтез глюкозы и, по-видимому, нивелируют эффекты друг друга.

Однако в целом совокупность указанных изменений метаболизма глюкозы определяет возникновение гипозенергетического состояния клеток. Поэтому в аспекте корригирующих мероприятий по устранению нарушений метаболизма при алкогольной интоксикации и алкогольной зависимости важнейшее значение приобретает восстановление энергетического потенциала клеток, восстановление уровня АТФ.

Современные представления о механизмах продукции АТФ за счёт различных метаболитов свидетельствуют о том, что последовательность использования клетками (митохондриями) субстратов для образования энергии определяется кинетическим параметром – скоростью реакции. Согласно данным профессора В.Н. Титова [4], очередность использования веществ в митохондриях для синтеза АТФ может быть следующей: а) производные наиболее короткой по числу атомов углерода жирной кислоты (масляной) – кетоновые тела: ацетон, ацетоуксусная кислота, бета-оксимасляная кислота; б) короткоцепочечные жирные кислоты с длиной углеводородной цепи от 6 до 10 атомов углерода; в) длинноцепочечные высшие жирные кислоты, в наибольшей степени пальмитиновая кислота, в связи с наличием только для неё специфического переносчика; г) глюкоза. Указанная информация предполагает, что глюкоза будет использована митохондриями клеток для окисления в последнюю очередь.

В условиях отмены этанола, прекращения его действия, снижения ингибирующего влияния ацетальдегида на компоненты электрон-транспортной цепи митохондрий необходимость использования всех энергетических субстратов с максимальной эффективностью приобретает особую значимость. В связи с этим интерес представляет действие L-карнитина (препарат L-КАР) в качестве лекарственного вещества, являющегося искусственным аналогом естественного карнитина.

С биохимической точки зрения карнитин представляет собой продукт превращения в клетках насыщенной (предельной) масляной кислоты, содержащей в своем составе четыре атома углерода. В структуре карнитина присутствуют также гидроксильная группа и метильные функциональные группировки (гидрокситриметиламиномасляная кислота).

В связи с выполняемой функцией интрацеллюлярная концентрация карнитина очень высока и превышает в пятьдесят раз концентрацию данного метаболита в плазме крови. Система активного транспорта обеспечивает содержание карнитина внутриклеточно. Установлены транспортеры с высокой специфичностью для разных типов клеток: кардиомиоцитов, поперечно-полосатых миоцитов, гепатоцитов.

Наличие эссенциальных (незаменимых) аминокислот считается обязательным условием для биосинтеза карнитина. Для обеспечения процесса требуются серосодержащая аминокислота – метионин и диаминомонокрбонная кислота – лизин.

В соответствии с указанными фактами поступление данных аминокислот с пищевыми продуктами и выполнение биологической реакции экзотрофии (внешнего питания) [5] во многом определяет скорость образования карнитина и эффективность реализации его функции.

Основной локализацией синтеза карнитина в организме являются скелетные, поперечно-полосатые миоциты. Считается, что в клетки иной локализации карнитин транспортируется из пула межклеточной жидкости.

Принято считать, что переход неэтерифицированных высших жирных кислот, а также их неполярной, активированной формы – ацил-КоА – через мембрану митохондрий без карнитина невозможно. Естественная, физиологическая функция карнитина связана с тем, что он обеспечивает транспорт насыщенной (предельной) пальмитиновой высшей жирной кислоты в пространство митохондриального матрикса. Каталитическая активность фермента –

карнитинпальмитоилацилтрансферазы – сопряжена с выполняемой функцией.

Процесс транспорта жирной кислоты внутрь митохондрий представляется следующим образом: а) во-первых, происходит процесс переэтерификации высшей жирной кислоты из связи с коферментом А в ее связь с карнитином; б) карнитин-ацилкарнитинтранслоказа осуществляет транспорт карнитиновых эфиров через внутреннюю мембрану митохондрий. Одновременно происходит удаление из матричного пространства митохондрий свободного карнитина; в) обратная переэтерификация жирной кислоты в эфир с коферментом А осуществляется после прохождения жирной кислотой внутренней мембраны и ее появления в матрике митохондрий. Это обеспечивается действием карнитинпальмитоилтрансферазы. Результатом всего процесса становится появление жирной кислоты в активированной, неполярной форме тиоэфира в матрике митохондрий.

Как видно из характеристики процесса, именно эта форма жирной кислоты необходима для начала транспорта жирных кислот из цитозоля в митохондрии; для дальнейшей транспортировки жирных кислот через внутреннюю мембрану митохондрий; для последующего окисления высших жирных кислот с образованием конечных продуктов обмена веществ и энергии в форме АТФ.

Жизнедеятельность клеток организма определяет необходимость формирования в митохондриях при β-окислении высших жирных кислот в аэробных условиях центрального метаболита обмена веществ – ацетил-КоА. Дальнейшие биохимические события, связанные с его превращением внутримитохондриально, представляются его распадом в цикле трикарбоновых кислот (Кребса) до двух молекул конечного продукта обмена веществ – углекислого газа. В ходе данного метаболического пути в результате четырех реакций, сопряженных с функционированием компонентов дыхательной цепи, происходит формирование молекул восстановленной формы коферментов НАД, ФАД (флавинадениндинуклеотид). Они обеспечивают инициацию работы дыхательной цепи митохондрий по образованию АТФ [4].

При алкоголизме, в условиях гипонергетического состояния эффективность функционирования цикла Кребса снижается, что предполагает изменение направления использования ацетил-КоА в сторону конденсации молекул между собой. В результате взаимодействия двух молекул ацетил-КоА формируется ацетоацетил-КоА. Превращения с участием ацетил-КоА приводят к образованию малонил-КоА.

Биосинтез малонил-КоА в матрике подавляет активность карнитинпальмитоилацилтрансферазы, что уменьшает поступление активированных, неполярных форм жирных кислот – ацил-КоА в митохондрии. Соответственно, снижается интенсивность β-окисления высших жирных кислот и еще больше усугубляется выраженность гипонергетического состояния клеток.

Снижение уровня глюкозы в группе «L-КАР» может быть обусловлено активацией окисления высших жирных кислот, что определяет, в соответствии с константой скорости реакции, усиление распада глюкозы внутриклеточно. Запуск действия осмотических законов предполагает переход глюкозы из крови в клетки и объясняет выявленные изменения её уровня. С другой стороны, возможное увеличение интенсивности окисления высших жирных кислот в митохондриях, обусловленное действием L-карнитина по транспорту пальмитата, предполагает к мнению об увеличении уровня АТФ в митохондриях, выходе из гипонергетического состояния и вследствие этого восстановления активности процесса глюконеогенеза.

Статистический анализ полученных данных говорит о том, что уровень глюкозы крови алкоголизованных животных не отличается от значений в группе интактных животных. Имеется лишь тенденция к снижению показателя. Литературные данные показывают, что при длительном хроническом воздействии алкоголя на клетки организма уровень глюкозы крови снижается, развивается состояние гипогликемии, обусловленное нарушением глюконеогенеза в печени.

Однако при отмене этанола на первый план выходят регуляторные эффекты гормонов мозгового слоя надпочечников (группа катехоламинов: дофамин, норадреналин, адреналин). Можно предположить, что отсутствие изменения содержания глюкозы в группе «А» связано с их влиянием на углеводный обмен.

Это обстоятельство связано с тем, что метаболическими эффектами катехоламинов в плане регуляции обмена углеводов являются:

а) стимуляция фосфоролитического пути распада резервного гомополисахарида организма животных – гликогена – в скелетных, поперечно-полосатых миоцитах и клетках печени. Гликогенолитическое действие катехоламинов реализуется через аденилатцикласный каскадный механизм активации фосфоорилазы гликогена;

б) активация процесса синтеза глюкозы из неуглеводных предшественников (глюконеогенеза) в гепатоцитах;

в) подавление активности фосфофруктокиназы и активация фруктозодифосфатазы, что способствует синтезу глюкозы из галактозы и фруктозы.

Статистическая обработка результатов исследования не выявила значимых отличий уровня глюкозы в группе «А+L-КАР» по сравнению с данными группы «А» ($pW = 0,678$). Данное обстоятельство указывает на отсутствие эффекта L-карнитина в отношении содержания глюкозы в крови алкоголизованных крыс (группа «А»). В то же время выявленное увеличение глюкозы в группе «А+L-КАР» по сравнению с группой «L-КАР» свидетельствует о влиянии этанола на обмен глюкозы. Указанные изменения, вероятно, могут быть объяснены нарушением функционирования дофаминэргической системы организма при алкоголизме.

Заключение

В соответствии с задачами исследования можно сделать заключение:

1) об отсутствии изменений уровня глюкозы в сыворотке крови алкоголизованных крыс в первые сутки развития реакции отмены этанола по сравнению с группой контрольных (интактных) животных;

2) об увеличении содержания глюкозы в сыворотке крови крыс при реакции отмены

этанола в условиях введения L-карнитина по сравнению с группой животных, которым вводился только L-карнитин. При сравнении с группой животных, получавших только алкоголь, и контрольной группой статистически значимых изменений не выявлено, что может позволить сделать предположение об отсутствии влияния L-карнитина на основной показатель обмена углеводов – глюкозу – при экспериментальном моделировании физической зависимости от алкоголя.

Материал подготовлен в рамках реализации проекта «Базовые школы РАН».

Список литературы

1. Adeva-Andany M., Perez-Felpete N., Fernandez-Fernandez C., Donapetry-Garcia C., Pazos-García C. Liver glucose metabolism in humans. *Biosci. Rep.* 2016. vol. 36. no. 6. P. e00416.
2. Cederbaum A. Alcohol metabolism. *Clin. Liver Dis.* 2012. vol. 16. no. 4. P. 667–685.
3. Платонов А.Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. М.: Издательство РАМН, 2001. 52 с.
4. Титов В.Н. Функция митохондрий, карнитин, коэнзим-А, жирные кислоты, глюкоза, цикл Рендла и инсулин (лекция) // Клиническая лабораторная диагностика. 2012. № 2. С. 32–42.
5. Титов В.Н. Филогенетическая теория общей патологии. Формирование семи биологических функций, семи специфических, этиологических факторов метаболических пандемий, единого за миллионы лет патогенеза и основ профилактики // Клиническая лабораторная диагностика. 2017. Т. 62. № 8. С. 452–462.