



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

Автор: Яковлева София Игоревна, стоматологический факультет, 2 курс, 269 группа
МОЛОДЕЖНЫЙ НАУЧНЫЙ КРУЖОК КАФЕДРЫ БИОХИМИИ

Научный руководитель: Ефременко Евгений Сергеевич, к.м.н., доцент, заведующий кафедрой биохимии

ВВЕДЕНИЕ

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 путь, связанный с обеспечением клеток пентозами и НАДФН₂ (никотинамидадениндинуклеотидфосфат восстановленный).

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

- 1) Поступления глюкозы в организм с продуктами питания
- 2) Образования глюкозы из углеводного резерва - гликогена ткани печени и скелетных поперечно-полосатых миоцитов;
- 3) Биосинтеза из веществ неуглеводной природы (пирувата, гликогенных аминокислот, метаболитов цикла трикарбоновых кислот) в результате реакций глюконеогенеза изображен на [рис. 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 [рис. 4]. Восстановленная форма НАД ингибирует гликолиз.

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

В эксперименте использовали 39 белых беспородных крыс-самцов массой 220г, у которых вызвали реакцию отмены этанола. Для этого животным внутрижелудочно вводили 25% раствор этанола в дозе 8г/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-KAR" (n=10) - животные, которым интрагастрально вводили L-карнитин (препарат "L-KAR") в течение 4,5 суток в дозе 300мг/сут; группа "A+L-KAR" (n=10) - алкоголизованные крысы, которым при формировании реакции отмены этанола интрагастрально вводили L-карнитин [рис. 5] в дозе 300мг/сут (препарат "L-KAR"); 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. 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 ($p < 0,05$) изображен на [рис.3].



Рис. 1 Пути превращения глюкозо 6-фосфата

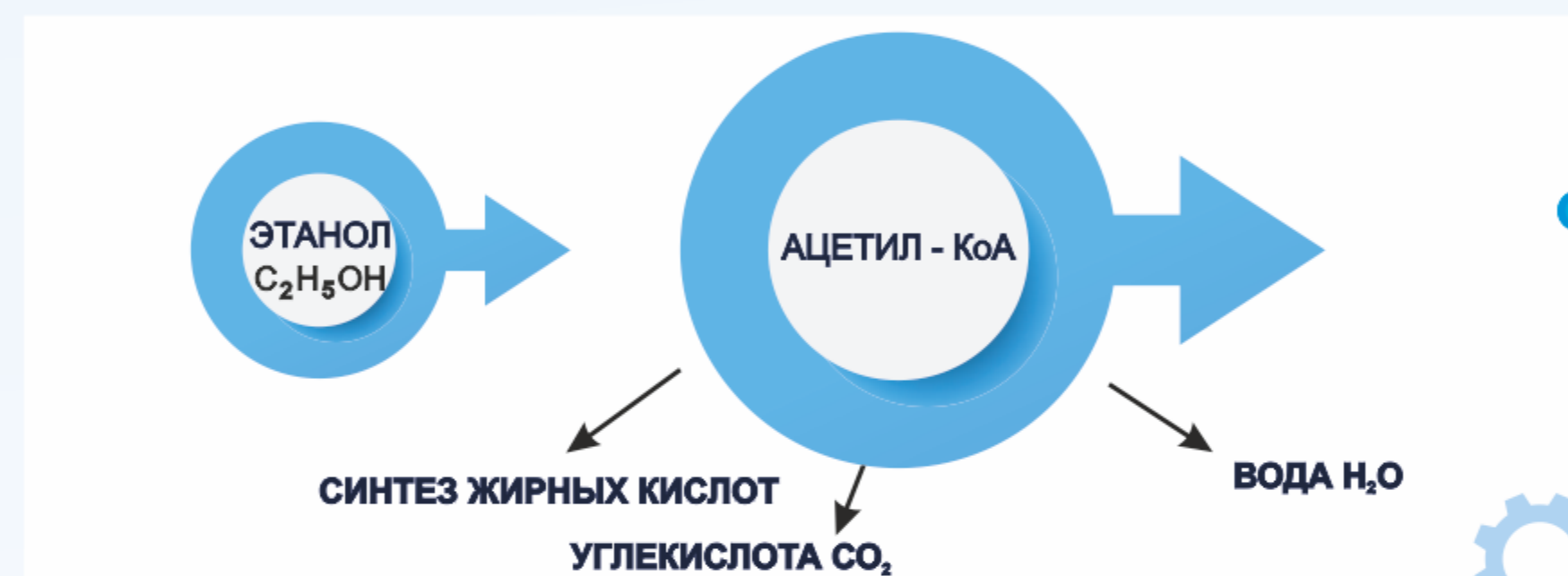


Рис. 2 Влияние алкоголя на обмен веществ

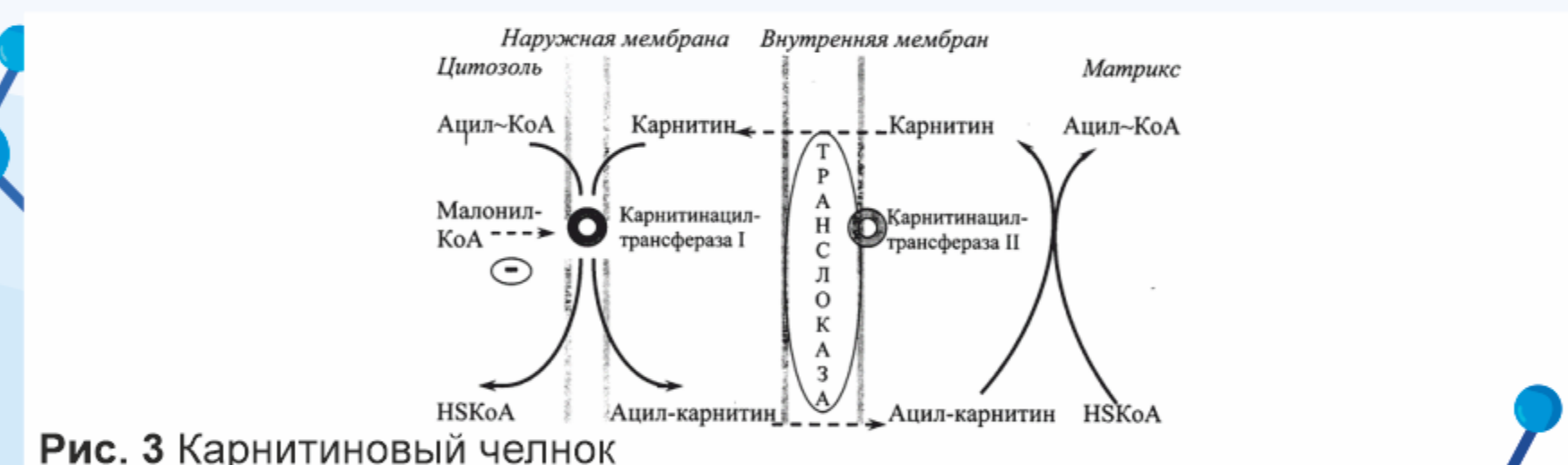


Рис. 3 Карнитиновый челнок



Рис. 4 Координированная регуляция синтеза и запада жирных кислот

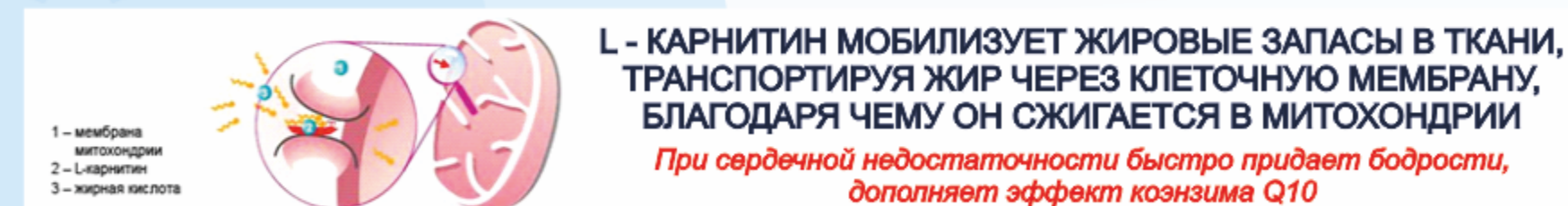


Рис. 5 Физиологическая функция карнитина

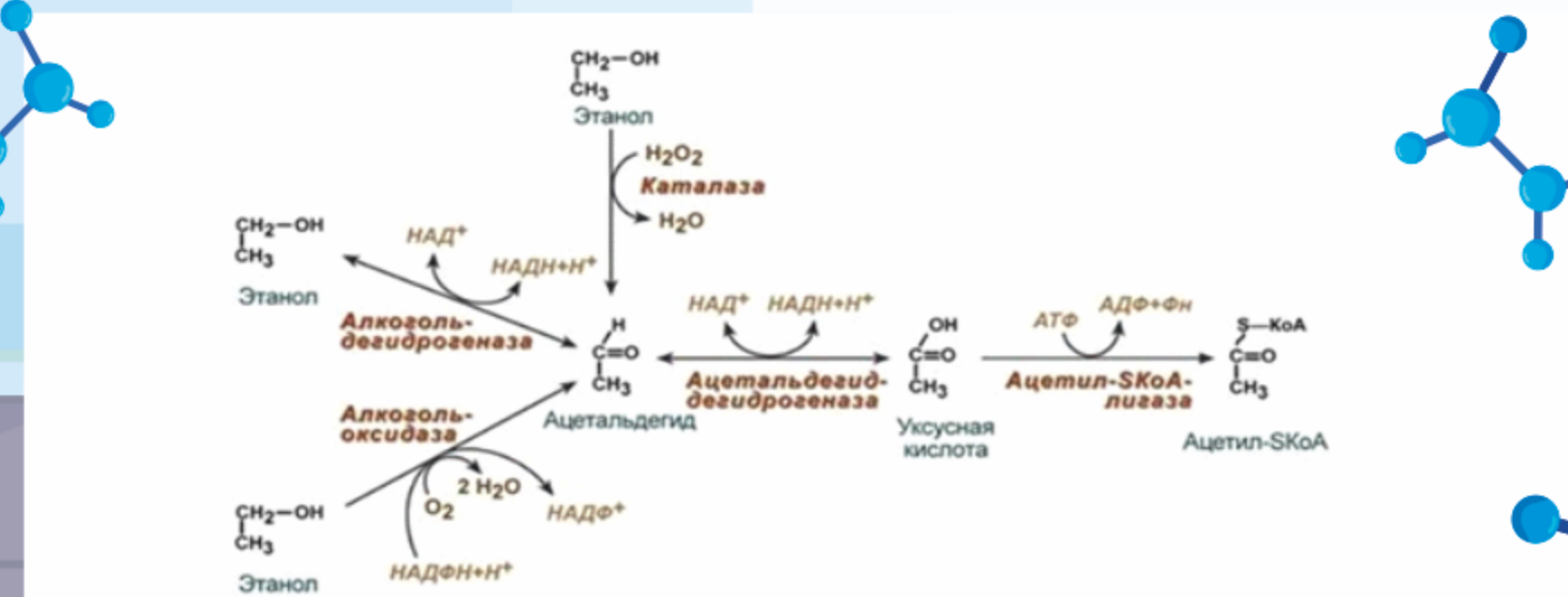


Рис. 6 Метаболизм алкоголя в организме

РЕЗУЛЬТАТ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ сыворотки крови животных, подвергнутых принудительной алкоголизации, свидетельствует о том, что в группе "L-KAR" уровень глюкозы снижен на 23.9% ($pU=0,002$) по сравнению с группой контроля. В группе "A+L-KAR" содержание глюкозы в сыворотке крови увеличено на 13,6% ($pW=0,017$) по отношению к группе "L-KAR".

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

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 глюконеогенеза - фосфоенолпируваткарбоксикиназы. 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.

В условиях отмены этанола [рис. 2], прекращения его действия, снижения ингибирующего влияния ацетальдегида на компоненты электрон-транспортной цепи митохондрий необходимость использования всех энергетических субстратов с максимальной эффективностью приобретает особую значимость.

При алкоголизме, в условиях гипознергетического состояния эффективность функционирования цикла Кребса снижается, что предполагает изменение направления использования [рис. 4] ацетил-КоА в сторону конденсации молекул между собой. В результате взаимодействия двух молекул [рис. 4] ацетил-КоА формируется ацетоацетил-КоА. Превращения с участием ацетил-КоА приводят к образованию малонил-КоА.

Биосинтез малонил-КоА [рис. 4] в матриксе подавляет активность карнитинпальмитоилтрансферазы, что уменьшает поступление активированных, неполярных форм жирных кислот - ацил-КоА [рис. 4] в митохондрии [рис. 5]. Соответственно, снижается интенсивность -окисления высших жирных кислот и усугубляется выраженность гипознергетического состояния клеток.

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.

Однако, при отмене этанола на первый план выходят регуляторные эффекты гормонов мозгового слоя надпочечников (группа катехоламинов: дофамин, норадреналин, адреналин).

Статистическая обработка результатов исследования не выявила значимых отличий уровня глюкозы в группе "A+L-KAR" по сравнению с данными группы "А" ($pW=0,678$). Данное обстоятельство указывает на отсутствие эффекта L-карнитина [рис. 5] в отношении содержания глюкозы в крови алкоголизованных крыс (группа "А"). В то же время, выявленное увеличение глюкозы в группе "A+L-KAR" по сравнению с группой "L-KAR" свидетельствует о влиянии этанола на обмен глюкозы.

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 [рис. 5] по сравнению с группой животных, которым вводился только L-карнитин [рис. 5].
- При сравнении с группой животных, получавших только алкоголь, и контрольной группой статистически значимых изменений не выявлено, это позволяет сделать предположение об отсутствии влияния L-карнитина [рис. 5] на основной показатель обмена углеводов - глюкозу - при экспериментальном моделировании физической зависимости от алкоголя.
- Материал подготовлен в рамках реализации проекта «Базовые школы РАН».