

А.К. Бортникова, Т.И. Панова

## ВЛИЯНИЕ КОРРЕКЦИИ ГЛИКЕМИИ НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ УТИЛИЗАЦИИ ГЛЮКОЗЫ ТКАНЯМИ МОЗГА У АЛКОГОЛЬЗАВИСИМЫХ КРЫС

Донецкий национальный медицинский университет им. М.Горького, Украина

**Реферат.** С целью выяснения способности тканей алкоголизованных крыс утилизировать глюкозу в условиях гликемии разной степени выраженности определяли артериовенозную разницу по глюкозе для мозга (*arteria carotis communis – confluens sinuum*) и для всего организма в целом (*arteria carotis communis – vena femoralis*) натощак и через 30 минут после глюкозной нагрузки (0,33 мл 20 % глюкозы, внутривенно) у 30 алкоголизованных и 20 контрольных крыс. С целью выяснения возможности обратимости нарушений углеводного метаболизма 10 алкоголизованных и 10 контрольных крыс получали принудительное усиленное углеводное питание (1 мл 40 % крахмального киселя, *per os*, 3 раза в день, 30 дней). Натощак у контрольных крыс ( $n = 10$ ) артериовенозная разница по глюкозе составила: для мозга –  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л, для всего организма –  $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л; а у алкоголизованных животных ( $n = 10$ ):  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л и  $0,4 \pm 0,1$  ммоль/л, соответственно. После глюкозной нагрузки артериовенозная разница была у контрольных крыс: для мозга –  $0,8 \pm 0,1$  ммоль/л, для всего организма –  $0,9 \pm 0,1$  ммоль/л; а у алкоголизованных животных:  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л и  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л, соответственно. Метаболическая коррекция уровня гликемии путём усиленного питания приводила к увеличению утилизации глюкозы не всегда. У здоровых крыс ( $n = 10$ ) повышалась артериовенозная разница только для всего организма ( $0,9 \pm 0,1$  ммоль/л), но не для мозга ( $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л), что свидетельствует о жёстком гомеостазе мозга. А у алкогользависимых животных ( $n = 10$ ) артериовенозная разница повышалась и для мозга ( $0,6 \pm 0,1$  ммоль/л), и для всего организма ( $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л). Делается вывод о снижении при алкоголизме способности тканей, особенно нервной, утилизировать глюкозу. Выдвигается предположение, что причина этого – в снижении активности ферментов гликолиза. Вероятно, «нарушения углеводного метаболизма при алкоголизме носят обратимый характер. Усиленная углеводная диета способствует восстановлению нормогликемии и усвоению глюкозы из крови».

**Ключевые слова:** артериовенозная разница по глюкозе для мозга и всего организма, метаболическая коррекция гликемии, алкогользависимые крысы

В серии экспериментов на алкогользависимых крысах мы накопили ряд сведений, уточняющих и дополняющих существующие представления о нарушениях углеводного метаболизма при алкоголизме. А именно: ткани, особенно нервная, снижают потребление глюкозы не только в условиях гипогликемии, но даже и в условиях искусственной краткосрочной гипергликемии (определено по уменьшению артериовенозной разницы по глюкозе) [3]; мозг начинает потреблять глюкозы даже меньше, чем другие ткани (определено по артериовенозной разнице по глюкозе) [3]; глюкоза теряет свои гедонические свойства (определено по отказу крыс от глюкозы в пище в условиях свободного выбора) [2]; потребление алкоголя обратно пропорционально потреблению глюкозы (определено по предпочтению разных видов питья в условиях

свободного выбора) [2]; степень выраженности кетоза прямо пропорциональна продолжительности алкоголизации [9]. Также мы в течение 30 дней корректировали уровень гликемии у алкогользависимых крыс путём ежедневного, трижды в сутки, принудительного перорального введения по 1 мл 40 % киселя из крахмала. Обнаружили, что это способствовало снижению кетонурии, снижению добровольного потребления раствора этанола и повышению потребления воды и раствора глюкозы в условиях свободного выбора, по сравнению с контрольными животными [9].

Эти наблюдения позволили нам сформулировать две рабочие гипотезы. Первая: в условиях длительной алкогольной гипогликемии мозг не просто переходит на питание кетоновыми телами, но он утрачивает способность утилизировать глюкозу. Более того, мозг становится зависим от кетоновых тел, поэтому фактически алкогольная зависимость, по своей сути – это метаболическая зависимость от кетоновых тел. Вторая гипотеза: наблюдаемые метаболические изменения при алкоголизме носят обратимый характер.

Цель работы: выяснить возможность восстановления нарушенной способности тканей алкогользависимого организма утилизировать глюкозу.

Для этого мы определяли артериовенозную разницу по глюкозе в условиях моделирования разных уровней гликемии длительно и кратковременно.

Поскольку изначально перестройка углеводного метаболизма в алкогользависимом организме провоцируется длительной гипогликемией [1], то дизайн нашего эксперимента базируется на идее от обратного: мы моделировали нормогликемию в течение продолжительного времени. Достигали этого с помощью усиленного принудительного питания крыс. Кратковременную гипергликемию моделировали с помощью внутривенного введения глюкозы.

### Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 50 самцах белых крыс массой 200 - 250 г в условиях вивария с принудительной вентиляцией и поддерживаемой температурой 17 - 22°C.

20 крыс составили контрольную группу и 30 – экспериментальную.

Животные экспериментальной группы предварительно в течение 16 недель подвергались принудительной алкоголизации 10 % этанолом.

Контрольные животные всё это время содержались на обычном питьевом и пищевом рационе

для грызунов при свободном доступе к кормушкам и поилкам.

После окончания принудительной 16-недельной алкоголизации все животные (и контрольные, и экспериментальные) находились в условиях свободного выбора пищи и питья. При этом обе группы были разделены на подгруппы, по 10 особей в каждой.

Животные первых подгрупп послужили контролем в своих группах. Их сразу вывели из эксперимента, предварительно исследовав кровь на содержание глюкозы.

Животным вторых подгрупп в течение 30 дней ежедневно три раза в день с интервалом 5 часов с помощью шприца без иглы вводили *per os* 1 мл заваренного киселя из 40 % крахмала (в пересчёте на глюкозу – это 2,0 г/кг веса животного). Выбор крахмала обусловлен тем, что этот сложный полисахарид с разветвлённой цепью в желудочно-кишечном тракте крысы расщепляется достаточно долго, образовавшаяся глюкоза всасывается постепенно, что обеспечивает поддержание стабильного уровня глюкозы в крови длительное время и не провоцирует перенапряжение инсулярного аппарата. Фактически пероральное введение густого киселя из крахмала можно приравнять к усиленному питанию углеводами (усиленной углеводной диете). Алкоголизированным животным третьей подгруппы в течение 30 дней после окончания принудительной алкоголизации гипогликемию не корректировали, они также служили контролем для второй подгруппы алкоголизированных животных.

Для выяснения степени утилизации глюкозы мозгом определяли концентрацию этой молекулы в артериальной крови, взятой из общей сонной артерии (*a. carotis communis*), и в венозной крови, взятой из слияния синусов мозга (*confluens sinuum*). Для оценки утилизации глюкозы организмом в целом выясняли артериовенозную разницу между артериальной кровью из *a. carotis communis* и венозной кровью из бедренной вены (*v. femoralis*). Пользовались анатомическим атласом крысы [8].

Из каждого сосуда взятие крови осуществляли дважды: утром натощак и через 30 минут после моделирования краткосрочной гипергликемии. Краткосрочную гипергликемию моделировали путём введения в *v. femoralis* 0,33 мл 20 % глюкозы (из расчёта 1,65 мл на 100 г веса животного) со скоростью 0,5 мл/мин. Такое количество глюкозы (0,33 г/кг) соответствует внутривенному тесту для определения толерантности организма к глюкозе.

Чтобы животные были в состоянии натощак, накануне вечером из клеток убирали кормушки.

Взятие крови осуществляли в остром эксперименте, под тиопенталовым наркозом, 90 мг/кг.

Были соблюдены требования Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в исследовательских и других научных целях, и постановления Первого национального конгресса по биоэтике [4].

Уровень глюкозы в цельной крови определяли с помощью глюкометра и тест-полосок

(Longevita, Великобритания). Чувствительность метода 0,1 ммоль/л. Предварительно провели калибровочное исследование, определяя уровень глюкозы в одних и тех же образцах крови ( $n = 20$ ) с помощью глюкометра и глюкозооксидантным методом с использованием стандартных наборов (Lachema) в биохимической лаборатории Университетской клиники ДонНМУ. Расхождений в результатах, с точностью до 0,1 ммоль/л, выявлено не было.

Авторы выражают благодарность проф., д.мед.н. Натрус Л.В. и коллективу биохимической лаборатории Университетской клиники ДонНМУ за оказанное содействие в проведении калибровочных экспериментов.

При обработке результатов использовали пакеты MedStat [6].

Так как распределение значений уровня глюкозы в крови не отличалось от нормального, то были применены параметрические методы статистического анализа. Для представления данных в работе приводится среднее значение уровня глюкозы в крови  $\bar{X}$  (ммоль/л) и стандартное отклонение  $s$ , с указанием доверительных интервалов (ДИ).

В ходе дисперсионного анализа были проведены парные сравнения средних в выборках, с использованием критерия Стьюдента, и сравнения с контрольной группой, с использованием критерия Даннета.

#### Результаты и обсуждения

Для удобства рассмотрим полученные результаты содержания глюкозы в крови: 1) отдельно в каждой подгруппе; 2) отдельно натощак и после внутривенной глюкозной нагрузки.

1 подгруппа контрольной группы здоровых крыс

У здоровых животных контрольной группы содержание глюкозы натощак в артериальной крови колебалось в пределах от 6,5 до 8,3 ммоль/л, составляя в среднем  $7,5 \pm 0,6$  ммоль/л. В венозной крови уровень глюкозы был ниже: в *confluens sinuum*  $6,8 \pm 0,6$  ммоль/л, а в *v. femoralis*  $7,0 \pm 0,6$  ммоль/л. Таким образом, артериовенозная разница по глюкозе для мозга лежала в пределах 0,5-0,8 ммоль/л, а для всего организма в целом – в пределах 0,3-0,6 ммоль/л (табл.1).

Для сравнения, другие исследователи получили следующие показатели потребления глюкозы мозгом: 4,5-5,3 мг/100 г ткани в минуту [5]; 9% (0,5 ммоль/л) [5]; 13,1 мг/100 мл крови [10]; 0,054 мг/1г мозга/мин [10]; 0,30 мкмоль/г/мин [10];  $0,508 \pm 0,063$  ммоль/г в минуту [13]; 0,8 ммоль/л [7]. Все эти величины выражены в разных единицах измерения, но если их пересчитать на ммоль/л, то они близки или совпадают с нашими данными.

При сравнении значений артериовенозной разницы по глюкозе для мозга и для всего организма были выявлены статистически значимые различия,  $p < 0,001$ . В нашем эксперименте для каждого отдельно взятого животного разница в утилизации глюкозы мозгом и организмом в целом составляла 0,1-0,3 ммоль/л. Из этого можно сделать вывод, что мозг потребляет глюкозу активнее, чем другие ткани.

**Таблица.** Влияние 30-дневного усиленного питания крахмалом на усвоение глюкозы мозгом и организмом в целом у интактных и алкогользависимых крыс.

| Группа                                      | Подгруппа   | Условия<br>взятия<br>крови | Концентрация глюкозы в крови<br>разных сосудов, ммоль/л |                        |                        | Артериовенозная<br>разница, ммоль/л |                       |
|---|---|----------------------------|---|------------------------|------------------------|-------------------------------------|-----------------------|
|   |   |                            | Arteria<br>carotis<br>communis                          | Confluens<br>sinuum    | Vena<br>femoralis      | Мозга                               | Общая                 |
| Интактные                                   | Изначально,<br>n = 10   | Натошак                    | 7,5±0,6   | 6,8±0,6                | 7,0±0,6                | 0,7±0,1                             | 0,5±0,1               |
|   |   | Глюкозная<br>нагрузка      | 9,1 ±0,8 <sup>#</sup>                                   | 8,3±0,8 <sup>#</sup>   | 8,2±1,4 <sup>#</sup>   | 0,8±0,1 <sup>#</sup>                | 0,9±0,1 <sup>#</sup>  |
|   | Через 30 дней<br>усиленного<br>питания<br>крахмалом,<br>n = 10                        | Натошак                    | 7,6±0,3   | 6,9±0,5                | 7,1±0,4                | 0,7±0,2                             | 0,7±0,3 <sup>*</sup>  |
|   |   | Глюкозная<br>нагрузка      | 9,8±0,4 <sup>#</sup>                                    | 9,0±0,6 <sup>#</sup>   | 8,9±0,3 <sup>#</sup>   | 0,8±0,1 <sup>#</sup>                | 0,9±0,3 <sup>#</sup>  |
| Через 16 недель<br>алкоголизации,<br>n = 10 | Натошак   | 3,4±0,3 <sup>*</sup>       | 3,2±0,3 <sup>*</sup>                                    | 3,0±0,4 <sup>*</sup>   | 0,2±0,1 <sup>*</sup>   | 0,4±0,1 <sup>*</sup>                |                       |
|   | Глюкозная<br>нагрузка   | 5,0±0,4 <sup>**</sup>      | 4,8±0,4 <sup>**</sup>                                   | 4,3±0,3 <sup>**</sup>  | 0,2±0,1 <sup>*</sup>   | 0,7±0,1 <sup>**</sup>               |                       |
| Алкоголи-<br>зированные                     | Через 30 дней<br>после отмены<br>алкоголя и<br>начала питания<br>крахмалом,<br>n = 10 | Натошак                    | 6,4±0,6 <sup>*!</sup>                                   | 5,8±0,6 <sup>*!</sup>  | 5,8±0,5 <sup>*!</sup>  | 0,6±0,2 <sup>*!</sup>               | 0,5±0,1 <sup>!</sup>  |
|   |   | Глюкозная<br>нагрузка      | 8,4±0,4 <sup>*!</sup>                                   | 7,7±0,5 <sup>*!</sup>  | 7,5±0,3 <sup>*!</sup>  | 0,7±0,3 <sup>*!</sup>               | 0,9±0,2 <sup>*!</sup> |
|   | Через 30 дней<br>после отмены<br>алкоголя, но<br>без питания<br>крахмалом,<br>n = 10  | Натошак                    | 4,8±0,5 <sup>*!</sup>                                   | 4,6±0,4 <sup>*!</sup>  | 4,4±0,4 <sup>*!</sup>  | 0,2±0,1 <sup>*</sup>                | 0,4±0,2 <sup>*</sup>  |
|   |   | Глюкозная<br>нагрузка      | 6,8±0,6 <sup>**!</sup>                                  | 6,6±0,3 <sup>**!</sup> | 6,1±0,5 <sup>**!</sup> | 0,2±0,2 <sup>*</sup>                | 0,7±0,1 <sup>**</sup> |

*Примечание:* \* – статистически значимые различия, по сравнению с аналогичными показателями контрольной группы (здоровых крыс); <sup>#</sup> – статистически значимые различия показателей до и после глюкозной нагрузки внутри одной группы; <sup>!</sup> – статистически значимые различия, по сравнению с аналогичными показателями крыс экспериментальной группы, 1 подгруппы (через 16 недель алкоголизации).

Введение глюкозы приводило к повышению концентрации глюкозы в артериальной крови до 9,1±0,8 ммоль/л. Соответственно, и в венозной крови также наблюдалось повышение: в *confluens sinuum* до 8,3±0,8 ммоль/л, а в *v. femoralis* до 8,2±0,8 ммоль/л. Таким образом, после глюкозной нагрузки у здоровых животных контрольной группы артериовенозная разница для мозга статистически значимо ( $p < 0,001$ ) возросла, в среднем на 0,1 ммоль/л, по сравнению с пробами натошак, и составила 0,8±0,1 ммоль/л. Увеличение артериовенозной разницы по глюкозе для мозга в условиях гипергликемии наблюдали и другие авторы [16].

Усвоение глюкозы организмом в целом в результате глюкозной нагрузки осуществилось в большей степени: артериовенозная разница возросла ( $p < 0,001$ ), по сравнению с пробами натошак, с 0,5±0,1 ммоль/л до 0,9±0,1 ммоль/л, т.е. в среднем показатели увеличились на 0,4 ммоль/л и

находились в пределах 0,8-1,0 ммоль/л. Иными словами, теперь мозг потреблял глюкозу даже в меньшей мере, чем организм в целом, что является парадоксальным.

Моделирование кратковременной гипергликемии дало нам возможность оценить способность мозга и других тканей утилизировать избыток энергетического субстрата – глюкозы и переходить на иной, более высокий, уровень функционирования.

Очевидно, что более полная утилизация глюкозы организмом в целом происходила под действием выброса инсулина, спровоцированного глюкозной нагрузкой. Известно, что инсулин в 20 раз повышает транспорт молекулы глюкозы через мембрану внутрь клеток благодаря активации переносчиков для глюкозы – глюкокиназы и гексокиназы [1]. Но инсулин оказывает своё действие только на клетки, на мембранах которых есть инсулиновые рецепторы: это мышцы,

печень и жировая ткань (в этих тканях глюкоза либо депонируется в виде гликогена, либо трансформируется в жирные кислоты); и совершенно не влияет на клетки мозга, поскольку у них нет рецепторов к инсулину. Вероятно, поэтому артериовенозная разница для мозга увеличилась в меньшей степени: всего на  $0,1$  ммоль/л; а причина этого увеличения – простое увеличение градиента концентрации глюкозы между кровью и мозгом.

2 подгруппа контрольной группы интактных крыс – после 30-дневного введения крахмала

Длительное, на протяжении 30 дней, усиленное питание густым киселем из крахмала у здоровых крыс не привело к статистически значимому изменению гликемии натощак: в *a. carotis communis* она оставалась на уровне  $7,6 \pm 0,3$  ммоль/л,  $p=0,126$ ; в *confluens sinuum*  $6,9 \pm 0,5$  ммоль/л,  $p=0,454$ , а в *v. femoralis*  $7,1 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p=0,233$ . Артериовенозная разница по глюкозе для мозга тоже не изменилась, сохраняя значения  $0,7 \pm 0,2$  ммоль/л,  $p=0,766$ . Но артериовенозная разница для целого организма выросла в среднем на  $0,2$  ммоль/л ( $p<0,001$ ) и достигла такого же значения, как аналогичный показатель для мозга:  $0,7 \pm 0,3$  ммоль/л. Характер таких изменений указывает на напряжение инсулярного аппарата и усиленную секрецию инсулина, что обеспечивает, во-первых, увеличение поглощения глюкозы мышцами и печенью, но не мозгом, и, во-вторых, сохранение нормогликемии, несмотря на углеводную нагрузку. Сохранение артериовенозной разницы для мозга на прежнем уровне, характерном для обычного режима питания, лишний раз свидетельствует о жёстком гомеостазе этого органа и о мощных регуляторных механизмах, обеспечивающих этот гомеостаз. Причём эти механизмы не контролируются инсулином.

Внутривенная глюкозная нагрузка у этих животных, как и следовало ожидать, провоцировала гипергликемию: в *a. carotis communis* – до  $9,8 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p<0,001$ ; в *confluens sinuum* – до  $9,0 \pm 0,6$  ммоль/л,  $p<0,001$ , а в *v. femoralis*  $8,9 \pm 0,3$  ммоль/л,  $p<0,001$ . Любопытно, что степень утилизации глюкозы тканями, хотя и повысилась по сравнению с показателями натощак, но не превысила аналогичные показатели при глюкозной нагрузке у обычных здоровых животных, не подвергавшихся дополнительному усиленному питанию. А именно: по сравнению с показателями натощак, артериовенозная разница для мозга повысилась в среднем на  $0,1$  ммоль/л ( $p<0,001$ ) и составляла  $0,8 \pm 0,1$  ммоль/л, а для целого организма – на  $0,2$  ммоль/л ( $p<0,001$ ) и составляла  $0,9 \pm 0,3$  ммоль/л.

Видимо, для мозга величину глюкозы  $0,8 \pm 0,1$  ммоль/л следует считать той максимальной, которую мозг способен усвоить (даже в экстремальных ситуациях). Аналогично, для всех остальных тканей величину  $0,9 \pm 0,2$  ммоль/л следует считать той предельной, усвоение которой может обеспечить максимально функционирующий инсулярный аппарат. Под экстремальной ситуацией мы понимаем глюкозную нагрузку на фоне принудительной гиперфагии.

Переходя к обсуждению результатов в экспериментальной группе, заметим, что факт наличия сформированной алкогольной зависимости у крыс устанавливали по предпочтению раствора этанола в условиях свободного выбора между чистой питьевой водой, 10 % этанолом [2, 9].

1 подгруппа алкоголизованных крыс – через 16 недель принудительной алкоголизации

У предварительно алкоголизованных животных экспериментальной группы натощак наблюдалась стабильная гипогликемия: в *a. carotis communis* –  $3,4 \pm 0,3$  ммоль/л; в *confluens sinuum* –  $3,2 \pm 0,3$  ммоль/л; в *v. femoralis* –  $3,0 \pm 0,4$  ммоль/л. (Степень гипогликемии до определённых пределов была пропорциональна длительности алкоголизации и степени алкогольной зависимости [2, 9]). Также зафиксировано снижение артериовенозной разницы по глюкозе, по сравнению со значениями у крыс контрольной группы: для мозга – до  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л ( $p<0,001$ ), и для всего организма в целом – до  $0,4 \pm 0,1$  ммоль/л ( $p<0,001$ ). Отсюда видно, что алкоголизованный мозг потребляет глюкозы не просто меньше, чем здоровый мозг, но даже меньше, чем другие ткани. Это указывает, что в мозге под влиянием алкогольной гипогликемии происходят глубокие кардинальные перестройки метаболизма.

Введение глюкозы в *v. femoralis*, как и следовало ожидать, привело к повышению уровня гликемии, по сравнению с пробами натощак: в *a. carotis communis* – до  $5,0 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p<0,001$ ; в *confluens sinuum* – до  $4,8 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p<0,001$ ; в *v. femoralis* – до  $4,3 \pm 0,3$  ммоль/л,  $p<0,001$ ; к повышению артериовенозной разницы для всего организма в целом до  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p<0,001$ . Но оказалось, что это не приводило к повышению артериовенозной разницы для мозга: она оставалась на уровне  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p=0,643$  (табл.1). Поскольку кратковременное восстановление нормогликемии не привело к нормализации усвоения глюкозы мозгом, это позволяет думать, что при алкоголизме причина снижения утилизации глюкозы мозгом – не гипогликемия, а неспособность самого мозга усваивать этот субстрат. Наиболее вероятная причина, которую можно предположить, – это снижение ферментативной активности гликолиза.

2 подгруппа алкоголизованных крыс – через 30 дней после окончания принудительной алкоголизации и ежедневного введения крахмала

30-дневная интенсивная коррекция углеводного метаболизма у алкогользависимых животных путём употребления больших количеств крахмала привела к двукратному повышению уровня гликемии, т.е. была тенденция к восстановлению нормогликемии. Натощак в *a. carotis communis* глюкозы было  $6,4 \pm 0,6$  ммоль/л,  $p<0,001$ ; в *confluens sinuum*  $5,8 \pm 0,6$  ммоль/л,  $p<0,001$ , и в *v. femoralis* тоже  $5,8 \pm 0,5$  ммоль/л,  $p<0,001$ . На фоне нормализации гликемии увеличилась и артериовенозная разница для мозга на  $0,4$  ммоль/л ( $p<0,001$ ), достигнув  $0,6 \pm 0,2$  ммоль/л. И хотя эта величина меньше, чем у здоровых крыс ( $0,7 \pm 0,1$ ),  $p<0,001$ , но всё-таки больше, чем у алкоголизованных ( $0,2 \pm 0,1$ ),  $p<0,001$ . Артери-

овенозная разница для целого организма выросла, по сравнению с алкоголизированными животными, на  $0,1$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ) и даже достигла своего нормального значения —  $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л — такого же, как и у здоровых крыс,  $p = 0,323$  (табл. 1). Несмотря на то, что артериовенозная разница для мозга ещё не достигла своих нормальных значений, а артериовенозная разница для всего организма — уже достигнута, можно думать, что в ходе метаболической углеводной коррекции более быстрыми темпами восстанавливается углеводный обмен мозга, чем других тканей организма. Если учесть, что изначально нарушения метаболизма в мозге были более глубокими и выраженными. Это говорит о высокой пластичности и мощных регуляторных механизмах гомеостаза в мозге.

Внутривенная глюкозная нагрузка, безусловно, привела к повышению гликемии у этих животных по сравнению с пробами натошак: в *a. carotis communis* уровень глюкозы повысился до  $8,4 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ; в *confluens sinuum*  $7,7 \pm 0,5$  ммоль/л,  $p < 0,001$ , в *v. femoralis*  $7,5 \pm 0,3$  ммоль/л,  $p < 0,001$ . Но примечательно, что в этих условиях артериовенозная разница для мозга не достигла своей максимально возможной величины (показателей здоровых крыс в условиях глюкозной нагрузки —  $0,8 \pm 0,1$ ),  $p < 0,001$ , а поднялась лишь до нормальных значений натошак  $0,7 \pm 0,3$  ммоль/л,  $p = 0,122$ . И напротив, артериовенозная разница для всего организма достигла своего максимально возможного значения (показателей здоровых крыс в условиях глюкозной нагрузки) —  $0,9 \pm 0,2$  ммоль/л,  $p = 0,084$ . Такая динамика подтвердила наше наблюдение о большей лабильности мышечной и других тканей организма, по сравнению с нервной, в отношении возможностей углеводного обмена. Константы мозга, напротив, минимально меняются в физиологических условиях. Кроме того, эти результаты несут ещё и дополнительную информацию: косвенно они свидетельствуют о том, что использованная нами принудительная углеводная диета не превысила возможности инсулярного аппарата.

3 подгруппа алкоголизированных крыс — через 30 дней после окончания принудительной алкоголизации, но без введения крахмала

Эти животные служили контролем. После окончания принудительной алкоголизации они содержались в стандартных условиях со свободным доступом к пище и питью. Поилки с этанолом были изъяты из клеток. У животных этой группы отмечалась выраженная гипогликемия, повышенное потребление воды, но сниженное потребление пищи; об этом мы сообщали ранее [2, 9]. Тем не менее, за 30 дней, прошедших после отмены алкоголя, уровень гликемии у этих животных повысился, хотя и в меньшей мере, чем у животных, находившихся на принудительном интенсивном углеводном вскармливании. А именно: в *a. carotis communis* уровень глюкозы повысился до  $4,8 \pm 0,5$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ; в *confluens sinuum* — до  $4,6 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p < 0,001$ , в *v. femoralis* — до  $4,4 \pm 0,4$  ммоль/л,  $p < 0,001$ . Но артериовенозная разница оставалась такой же

низкой, как и сразу после окончания принудительной алкоголизации, для мозга — на уровне  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л,  $p = 0,235$ , и для всего организма — на уровне  $0,4 \pm 0,2$  ммоль/л,  $p = 0,098$ . Мы затрудняемся трактовать результаты в этой подгруппе однозначно. С одной стороны, увеличение гликемии может говорить о восстановительных процессах, но протекающих с меньшей скоростью и/или в меньшей мере, чем в подгруппе животных, получавших метаболическую коррекцию. А с другой стороны, сохранение артериовенозной разницы на низком уровне может свидетельствовать о стабилизации метаболических нарушений, произошедших ранее, в процессе принудительной алкоголизации.

Кратковременная глюкозная нагрузка у животных третьей подгруппы приводила к повышению концентрации глюкозы в крови: в *a. carotis communis*  $6,8 \pm 0,6$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ; в *confluens sinuum*  $6,6 \pm 0,3$  ммоль/л,  $p < 0,001$ ; в *v. femoralis*  $6,1 \pm 0,5$  ммоль/л,  $p < 0,001$ . Но артериовенозная разница увеличивалась только для всего организма — до  $0,7 \pm 0,3$  ммоль/л,  $p < 0,001$ . А для мозга артериовенозная разница осталась на прежнем, низком, уровне —  $0,2 \pm 0,2$  ммоль/л. Как следует из вышеизложенного, точно такая же динамика была характерна для алкоголизированных животных первой подгруппы, исследованных сразу после окончания 16 недель принудительной алкоголизации, т.е. на пике алкогольной зависимости. Иными словами, несмотря на то, что в течение 30 дней у крыс в рационе не было этанола — как известно, мощного стимулятора кетоза [1] — мозг не перестроился с утилизации кетоновых тел обратно на утилизацию глюкозы. Это сопоставимо с результатами, полученными нами ранее: кетоз у таких животных сохраняется ещё длительное время после отмены алкоголя [9]. Мы трактуем эти результаты как низкую способность мозга быстро переключаться с одного типа питания на другой. В целом, это говорит о жёстком гомеостазе мозга.

Согласно нашим результатам, у мозга более выраженная реакция на гипогликемию, чем на гипергликемию. Из состояния нормы ( $0,7$  ммоль/л) артериовенозная разница в ответ на гипогликемию уменьшается на  $0,5$  ммоль/л, а в ответ на гипергликемию — повышается всего только на  $0,1$  ммоль/л (это максимальные отклонения). Это свидетельствует о жёстком гомеостазе нервной ткани. Избыток субстрата при гипергликемии для мозга не имеет регулирующего значения и не способен «заставить» мозг утилизировать глюкозы больше, чем ему необходимо в данный момент. Но недостаток энергетического субстрата при гипогликемии сразу приводит к глобальной перестройке на питание другими топливными молекулами — кетоновыми телами. Причём происходит это максимально быстро и выражено, что подчёркивает отсутствие резервных возможностей у мозга сохранять гомеостаз прежними механизмами (за счет гликолиза).

Новизна этой работы в том, что она показала, что мозг не просто перестраивается на утилизацию других топливных молекул (это хорошо

известно), но практически полностью отказывается от утилизации глюкозы. Мы полагаем, что причина — в снижении количества и/или активности ферментов гликолиза («за ненадобностью»). Глобальность перестроек настолько велика, что если на фоне стабильной гипогликемии мы моделировали кратковременную гипер- или нормогликемию, способность мозга утилизировать глюкозу всё равно не возобновлялась (артериовенозная разница сохранялась на прежнем низком уровне).

Общезиологическая трактовка этого явления, вероятно, следующая: глобальные перестройки метаболизма мозга при гипогликемии — это вынужденная мера, необходимая для выживания. А отсутствие выраженных реакций мозга на кратковременную гипергликемию подчёркивает, что такая степень гипергликемии — это относительно физиологическая ситуация, реализующаяся каждый раз после, например, приёма пищи или стрессовой ситуации.

В отличие от мозга, мышечная и другие ткани организма, наоборот, более активно реагируют на гипергликемию (кратковременную и длительную) и менее активно — на гипогликемию. В условиях гипергликемии для них значительно растёт артериовенозная разница по глюкозе (на 0,4 ммоль/л — при кратковременной и на 0,2 ммоль/л — при длительной) — очевидно, что происходит превращение глюкозы в гликоген и/или в жирные кислоты. И, напротив, при длительной гипогликемии артериовенозная разница хотя и уменьшается, но незначительно — всего на 0,1 ммоль/л. Вероятно, несмотря на включение альтернативных путей получения энергии, в этих тканях продолжает активно функционировать и гликолиз.

Вернёмся к обсуждению диапазона изменений артериовенозной разницы в условиях нормо- и гипергликемии. Для мозга этот диапазон чрезвычайно узок: в среднем, от 0,7 ммоль/л до 0,8 ммоль/л. В то время как для других тканей организма размах гораздо больше: в среднем, от 0,5 ммоль/л до 0,9 ммоль/л. Это говорит о том, что мозг даже в состоянии относительного покоя работает практически в максимально интенсивном режиме. Поэтому гипогликемия вызывает резкое снижение активности нервной ткани. Например, хорошо известно о снижении мнестических функций, о когнитивном дефиците у алкоголиков [12]. Это же показано и на животных с алкогольной гипогликемией [15, 17].

О максимально интенсивном режиме работы мозга даже в условиях покоя, и о невозможности повышать свою активность при гипергликемии свидетельствует и тот факт, что в условиях кратковременной гипергликемии мозг поглощает глюкозы даже меньше, чем другие ткани. Хотя при нормогликемии, наоборот, артериовенозная разница по глюкозе для мозга больше, чем для других тканей.

Кроме того, наши исследования показали, что артериовенозная разница по глюкозе, как показатель, в ряде случаев оказался более информативным, чем уровень гликемии, поскольку более

точно отражает состояние метаболического статуса алкогользависимого мозга. Используя биохимический способ определения, эти сведения можно использовать в эксперименте на алкоголизованных животных. А более современные неинвазивные визуализирующие методы, например, позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), позволяют это сделать и на человеке [14, 18]. Идея диагностировать алкоголизм и оценивать его стадию по метаболическим характеристикам — не новая. Например, с помощью ПЭТ по гиперосмолярности плазмы можно установить диагноз алкоголизма [11].

Таким образом, мы установили, что метаболические нарушения при алкоголизме в принципе носят обратимый характер. Дополнительная коррекция углеводного обмена путём принудительного обеспечения организма субстратом для этого обмена — глюкозой — значительно ускоряет восстановление. Хотелось бы сделать особый акцент на методической простоте и экономической доступности использованного нами подхода. Дополнительно отметим, что у этих животных уже через 2-3 недели принудительного поддержания нормогликемии наблюдалось уменьшение потребления алкоголя в условиях свободного выбора; об этом мы сообщали ранее [9].

Таким образом, при алкоголизме уменьшается способность тканей, особенно нервной, утилизировать глюкозу. Нарушения углеводного метаболизма при алкоголизме носят обратимый характер. Длительное усиленное питание углеводами ускоряет и облегчает восстановление нормальной способности поглощать глюкозу из крови.

A.K. Bortnikova, T.I. Panova

### **Influence of glycemia correction on restoration of glucose utilization by tissues in alcohol-dependent rats**

In order to determine the ability to utilize glucose by tissues in various degrees of glucose measured arteriovenous difference in glucose for the brain (arteria carotis communis — confluens sinuum) and for the whole body (arteria carotis communis — vena femoralis) fasting and 30 minutes after glucose loading (0,33 ml of 20% glucose, i. v.) at 30 alcoholized and 20 control rats. In order to determine the reversibility of carbohydrate metabolism 10 alcoholized and 10 control rats received forced enhanced carbohydrate food (2 ml of 40% starch jelly, per os, 3 times a day, 30 days). Fasting in control rats (n = 10) arteriovenous difference glucose were: for the brain —  $0,7 \pm 0,1$  mmol/l, for the entire body —  $0,5 \pm 0,1$  mmol/l, while the alcoholized animals (n = 10):  $0,2 \pm 0,1$  mmol/l and  $0,4 \pm 0,1$  mmol/l, respectively. After the glucose load was arteriovenous difference in control rats, for the brain —  $0,8 \pm 0,1$  mmol/l, for the entire organism —  $0,9 \pm 0,1$  mmol/l, while the alcoholized animals:  $0,2 \pm 0,1$  mmol/l and  $0,7 \pm 0,1$  mmol/l, respectively. Metabolic correction of glycemia by increased supply led to an increase in glucose utilization is not always the case. In healthy rats (n = 10) increased arteriovenous differences for the whole organism ( $0,9 \pm 0,1$  mmol/l), but not for the brain ( $0,7 \pm 0,1$  mmol/l), indicating that the hard homeostasis brain. And the alcohol-dependent animals (n = 10) and arteriovenous difference increased to the brain ( $0,6 \pm 0,1$  mmol/l), and for the whole organism ( $0,5 \pm 0,1$  mmol/l). It is concluded that reducing the

ability of the tissues, especially nervous, to utilize glucose as a result of alcoholism. Conjectured that the reason for this – to reduce the activity of enzymes of glycolysis. It is concluded that the disorders of carbohydrate metabolism in alcoholism are reversible. Enhanced carbohydrate diet helps to restore normoglycemia and absorption of glucose from the blood (University clinic. – 2014. – Vol.10, №1. – P. 9-15).

**Keywords:** arteriovenous difference in glucose for the brain and body, the metabolic correction of glycemia, alcohol-dependent rats.

Г.К. Бортнікова, Т.І. Панова

### **Вплив корекції глікемії на відновлення утилізації глюкози тканинами мозку у алкогользалежних шурів**

З метою з'ясування здатності тканинами утилізувати глюкозу в умовах глікемії різного ступеня вираженості визначали артеріовенозну різницю по глюкозі для мозку (*arteria carotis communis* – *confluens sinuum*) і для всього організму в цілому (*arteria carotis communis* – *vena femoralis*) натщесерце і через 30 хвилин після глюкозного навантаження (0,33 мл 20% глюкози, внутрішньовенно) у 30 алкогользованих і 20 контрольних шурів. З метою з'ясування можливості зворотності порушень вуглеводного метаболізму 10 алкогользованих і 10 контрольних шурів отримували примусове посилене вуглеводне харчування (2 мл 40 % крохмального киселю, *per os*, 3 рази на день, 30 днів). Натщесерце у контрольних шурів ( $n = 10$ ) артеріовенозна різниця по глюкозі складала: для мозку –  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л, для всього організму –  $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л; а у алкогользованих тварин ( $n = 10$ ):  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л та  $0,4 \pm 0,1$  ммоль/л, відповідно. Після глюкозного навантаження артеріовенозна різниця була у контрольних шурів: для мозку –  $0,8 \pm 0,1$  ммоль/л, для всього організму –  $0,9 \pm 0,1$  ммоль/л; а у алкогользованих тварин:  $0,2 \pm 0,1$  ммоль/л та  $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л, відповідно. Метаболічна корекція глікемії шляхом посиленого харчування приводила до збільшення утилізації глюкози не завжди. У здорових шурів ( $n = 10$ ) підвищувалася артеріовенозна різниця тільки для всього організму ( $0,9 \pm 0,1$  ммоль/л), але не для мозку ( $0,7 \pm 0,1$  ммоль/л), що свідчить про жорсткий гомеостаз мозку. А у алкогользалежних тварин ( $n = 10$ ) артеріовенозна різниця підвищувалася і для мозку ( $0,6 \pm 0,1$  ммоль/л), і для всього організму ( $0,5 \pm 0,1$  ммоль/л). Робиться висновок про зниження при алкоголізмі здатності тканин, особливо нервової, утилізувати глюкозу. Висувається припущення, що причина цього – в зниженні активності ферментів гліколізу. Верогідно, порушення вуглеводного метаболізму при алкоголізмі носять зворотний характер. Посилена вуглеводна дієта сприяє відновленню нормоглікемії та засвоєнню глюкози з крові (Університетська клініка. – 2014. – Т.10, №1. – С. ).

**Ключові слова:** артеріовенозна різниця по глюкозі для мозку і всього організму, метаболічна корекція глікемії, алкогользалежні шури

### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Биохимия. Учебник для вузов / Под ред. Е.С. Северина // М.: ГЭОТАР Медиа, 2003. – 779 с.
2. Бортникова А.К. Влияние уровня гликемии на потребление этанола и глюкозы алкогользависимыми крысами / А.К. Бортникова, Т.И. Панова, В.Н. Казаков // Университетская клиника. – 2013. – Т. 9, № 2. – С. 169-173.
3. Бортникова А.К. Снижение способности мозга алкогользированных крыс утилизировать глюкозу / А.К. Бортникова, В.Н. Казаков, Т.И. Панова // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2013. – Т. 22, № 1. – С. 161-164.
4. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей / Страсбург, 18 березня 1986 року: Збірка договорів Ради Європи: Українська версія // Є.М. Вишневський (пер. та ред.). – К.: Парламентське видавництво, 2000. – 654 с.
5. Клиническая нейрореаниматология. Клинико-физиологические показатели, необходимые для учета в нейрореаниматологии. <http://neuroreanimatologia.ru/3/>
6. Лях Ю.Е. Основы компьютерной биостатистики: анализ информации в биологии, медицине и фармации статистическим пакетом MedStat / Ю.Е. Лях, В.Г. Гурьянов, В.Н. Хоменко, О.А. Панченко // Донецк: Издатель Папакица Е.К., 2006. – 211 с.
7. Макарова Л.М. Нейропротекторное действие препарата «Мексидол» при тотальной ишемии мозга (к вопросу о целесообразности применения данного препарата при гравитационных перегрузках) / Л.М. Макарова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – Т. 131. Приложение 1. – С. 48-54.
8. Ноздрачев А.Д. Анатомия крысы / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков // С.-Пб.: Лань, 2001. – 464 с.
9. Панова Т.И. Алкогольный кетоз как причина зависимости. Экспериментальное исследование / Т.И. Панова // Архив клинической и экспериментальной медицины. – 2013. – Т. 22, № 2. – С. 155-160.
10. Прохорова М.И. Нейрохимия / М.И. Прохорова // Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1979. – 271 с.
11. Ide A. Acute alcoholism and clinical examination / A. Ide, Y. Kamijo // Rinsho Byori. – 2008. – Suppl. 141. – P. 35-39.
12. Kopera M. Cognitive functions in abstinent alcohol-dependent patients / M. Kopera, M. Wojnar, K. Brower, et al. // Alcohol. – 2012. – Vol. 46, No. 7. – P. 665-671.
13. Lindsay D.B. The oxidation of glucose, ketone bodies and acetate by the brain of normal and ketonaemic sheep / D.B. Lindsay, B.P. Setchell // J Physiol. – 1976. – Vol. 259, No. 3. – P. 801-823.
14. Moreno-Lopez L. Neural correlates of the severity of cocaine, heroin, alcohol, MDMA and cannabis use in polysubstance abusers: a resting-PET brain metabolism study / L. Moreno-Lopez, E.A. Stamatakis, M.J. Fernandez-Serrano, et al. // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, No. 6. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0039830>
15. Ohta K.I. Prenatal ethanol exposure impairs passive avoidance acquisition and enhances unconditioned freezing in rat offspring / K.I. Ohta, H. Sakata-Haga, Y. Fukui // Behav. Brain Res. – 2012. – Vol. 234, No. 2. – P. 255-258.
16. Tejada-Chavez H.R. Concomitant effects of nitric oxide and carotid chemoreceptor stimulation on brain glucose in normoglycemic and hyperglycemic rats / H.R. Tejada-Chavez, S.A. Montero, M. Lemus, et al. // Arch Med Res. 2010. – Vol. 41, No. 7. – P. 487-496.
17. Tiwari V. Attenuation of oxidative stress, neuroinflammation, and apoptosis by curcumin prevents cognitive deficits in rats postnatally exposed to ethanol / V. Tiwari, K. Chopra // Psychopharmacology (Berl). – 2012. – Vol. 224, No. 4. – P. 519-535.
18. Volkow N.D. Association between dopamine D4 receptor polymorphism and age related changes in brain glucose metabolism / N.D. Volkow, D. Tomasi, G.J. Wang, et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, No. 5. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0063492>