

В.В. Войтенко, В.В. Конопельнюк, О.М. Савчук, Л.І. Остапченко

Механізми виникнення переддіабетичного стану за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації

Досліджували зміни головних показників вуглеводного та ліпідного обміну, що відповідають клінічній картині розвитку переддіабетичного стану на фоні хронічної алкогольної інтоксикації. Аналізували глікемічні криві, які отримували протягом інсуліноглюкозотолерантного тесту, встановлено зростання швидкості засвоєння глюкози периферичними тканинами на 1-шу добу (в 1,5 раза) та 3-тю добу (в 1,3 раза) введення спиртового розчину. В більш пізні терміни на 7-му та 11-ту добу введення етанолу швидкість засвоєння глюкози знижується у тварин з хронічною алкогольною інтоксикацією. Було також виявлено підвищення вмісту серотоніну в сироватці крові щурів протягом усього періоду розвитку хронічної алкогольної інтоксикації у порівнянні з контрольними значеннями і зниження – в мозку щурів в 1,2 раза.

Ключові слова: алкогольна інтоксикація, переддіабетичний стан, глюкоза, серотонін, інсулінорезистентність.

ВСТУП

Цукровий діабет 2-го типу – хронічне ендокринне захворювання, основними патогенетичними факторами якого є гіперглікемія, зниження чутливості тканин до інсуліну та порушення функціонування β -клітин підшлункової залози. Серед найголовніших причин виникнення інсуліннезалежного цукрового діабету насамперед виділяють: малорухливий спосіб життя, неправильне харчування – споживання висококалорійної їжі, куріння, зайве вживання жирів, а також психічні розлади, постійні стреси, емоційні перевантаження [1, 17]. Згідно з літературними даними ще однією причиною може бути алкогольна інтоксикація [20]. Проте незважаючи на численні дослідження механізмів виникнення цукрового діабету 2-го типу недостатньо досліджено.

Нині в літературі немає чітких пояснень щодо можливого взаємозв'язку алкогольної інтоксикації та розвитку цукрового діабету 2-го типу [8–10, 22–24]. Деякі дослідники вважають, що алкоголізм є фактором розвит-

ку цього захворювання, з втратою контролю глікемії [9, 13, 24], в той час як інші вказують про відсутність такого зв'язку [10, 12]. Більш того під час досліджень було показано, що легке та помірне вживання алкоголю може захистити від розвитку цукрового діабету 2-го типу [8, 18, 19, 23].

Метою нашої роботи була оцінка можливості виникнення переддіабетичного стану за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації.

МЕТОДИКА

Досліди проводили на 50 білих нелінійних щурах обох статей масою 160–200 г. Дослідження відповідали основним вимогам щодо утримання та роботи з лабораторними тваринами згідно з правилами (Страсбург, 1986 р.) та відповідно до етичних норм українського законодавства [5].

Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації у тварин дослідної групи відтворювали [7] за допомогою внутрішньошлункового введення 30%-го етилового спирту з

розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини протягом 11 діб. Контрольну групу склали щури, яким у тому самому віці внутрішньошлунково вводили воду, котру використовували для розведення етанолу.

Вміст серотоніну та триптофану визначали, використовуючи іонно-обмінну хроматографію Bio Rad, Biologic LP (США) та спектрофлуориметричні Shimadzu, RF-1501 (Японія) методи, які описані раніше [4, 11, 25]. Концентрацію глюкози встановлювали за допомогою приладу «ГЛЮКОФОТ-II» (Україна) згідно з інструкцією. Вміст глікозильованого гемоглобіну, холестерину та тригліцеридів вимірювали спектрофотометрично (Bio Rad, SmartSpec Plus) за допомогою наборів реактивів фірми «Lachema» (Росія). Вміст інсуліну визначали у сироватці крові дослідних тварин натщесерце за допомогою методу імуноферментного аналізу з використанням поліклональних антитіл проти інсуліну. Фракцію антиінсулінових антитіл отримували самостійно з сироватки крові імунізованого кроля, яку поступово очищали за допомогою афінної хроматографії на колонках з протеїн-А-сефарозою («Amersham», США) та інсулін-сефарозою, що готували за стандартною методикою іммобілізації лігандів на матриці за допомогою бромціану [6]. Всі процедури щодо отримання, очищення та перевірки специфічності антитіл були проведені згідно з рекомендаціями стандартних протоколів [2, 14]. Також у роботі були використані антикролячі антитіла кон'юговані з лужною фосфатазою («Bio-Rad», США) та субстрат – р-нітрофенолфосфат («Sigma», США). Оптичну густину проб вимірювали при довжині хвилі 405 нм (робоча хвиля) та 492 нм (похибка вимірювання). Вміст інсуліну в зразках сироватки крові розраховували як різницю екстинцій при довжині хвилі 405 та 492 нм і виражали в умовних одиницях у перерахунку на загальний вміст білка в крові (у міліграмах).

Для підтвердження розвитку стану інсулінорезистентності у дослідних тварин визна-

чали чутливість периферичних тканин до дії інсуліну за допомогою інсулінотолерантного тесту [16], проведеного з власними модифікаціями. Перед проведенням тесту натщесерце тварини були анестезовані за допомогою інтраперитонеальної ін'єкції тіопенталу натрію (40 мг/кг). Після встановлення концентрації глюкози у крові, щурам внутрішньочеревинно вводили розчин інсуліну («Монодар», Україна) з розрахунку 0,175 ум.од./кг. За допомогою внутрішньовенного катетера через 15, 30 та 60 хв від моменту введення інсуліну відбирали проби крові та визначали концентрацію глюкози. За результатами тесту будували глікемічні криві, які відображають наскільки швидко нормалізується вміст глюкози в крові у відповідь на екзогенний інсулін у групі контрольних і дослідних щурів з моделлю хронічної алкогольної інтоксикації.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми Excel. Підраховували показники середньої арифметичної (M), середньої квадратичної помилки середньої арифметичної (m). Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій t Стьюдента. Достовірними вважались різниці при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розвиток цукрового діабету 2-го типу супроводжується порушеннями вуглеводного, ліпідного та білкового обміну, що призводить до патологічних змін у функціонуванні різних органів і систем. На рис. 1 представлено результати взаємозв'язку терміну вживання алкоголю та концентрації основних показників розвитку цукрового діабету 2-го типу.

Одним з основних діагностичних критеріїв розвитку цукрового діабету 2-го типу є визначення рівня глікемії. У попередніх наших дослідженнях було показано, що концентрація глюкози в контрольній групі

тварин коливалася в межах 4,2–6,8 ммоль/л, а розвиток цукрового діабету 2-го типу супроводжувався підвищенням вмісту глюкози до 8–14 ммоль/л [1].

Слід відмітити, що при хронічній алкогольній інтоксикації підвищується концентрація глюкози. На 3-тю добу введення шурам 30%-го спиртового розчину цей показник підвищується в 1,6 раза порівняно зі значеннями контрольної групи (рис. 1,г). На 7-му та 11-ту добу розвитку хронічної алкогольної інтоксикації встановлено подальше зростання цього показника в 1,8 та 1,7 раза відповідно порівняно зі значеннями контрольної групи тварин.

Згідно з сучасними літературними даними важливим маркером розвитку цукрового діабету 2-го типу є концентрація глікозильованого гемоглобіну, що відображає вміст цукру в крові за тривалий час. Нами було встановлено його підвищення в 2,5, 2,1, 2,3 та 3,5 раза на 1, 3, 7 та 11-ту добу від початку введення етанолу у крові шурів протягом всього періоду розвитку хронічної алкогольної інтоксикації

порівняно з контролем (див. рис. 1,д). Такі зміни можуть бути показником довготривалої гіперглікемії та прогностичним маркером ускладнень, що супроводжують розвиток переддіабетичного стану зокрема та цукрового діабету в цілому.

При цукровому діабеті 2-го типу порушення вуглеводного метаболізму поєднуються з вираженими змінами ліпідного обміну. Відповідно до наших результатів, за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації підвищується концентрація тригліцеридів в 1,4 та 1,6 раза на 7-му та 11-ту добу відносно їх вмісту в крові контрольних шурів (див. рис. 1,в). Також зростав вміст холестерину в крові в 1,6, 1,9 та 2,2 раза на 3, 7 та 11-ту добу в дослідних тварин (див. рис. 1,б).

Слід відмітити, що порушення вуглеводного та ліпідного обміну супроводжувалися підвищенням вмісту інсуліну в дослідних шурів на 11-ту добу від початку введення спиртового розчину в 1,9 раза порівняно з контролем (див. рис. 1,а). Також знижувався вміст ліпопротеїну низької щільності на 1-шу

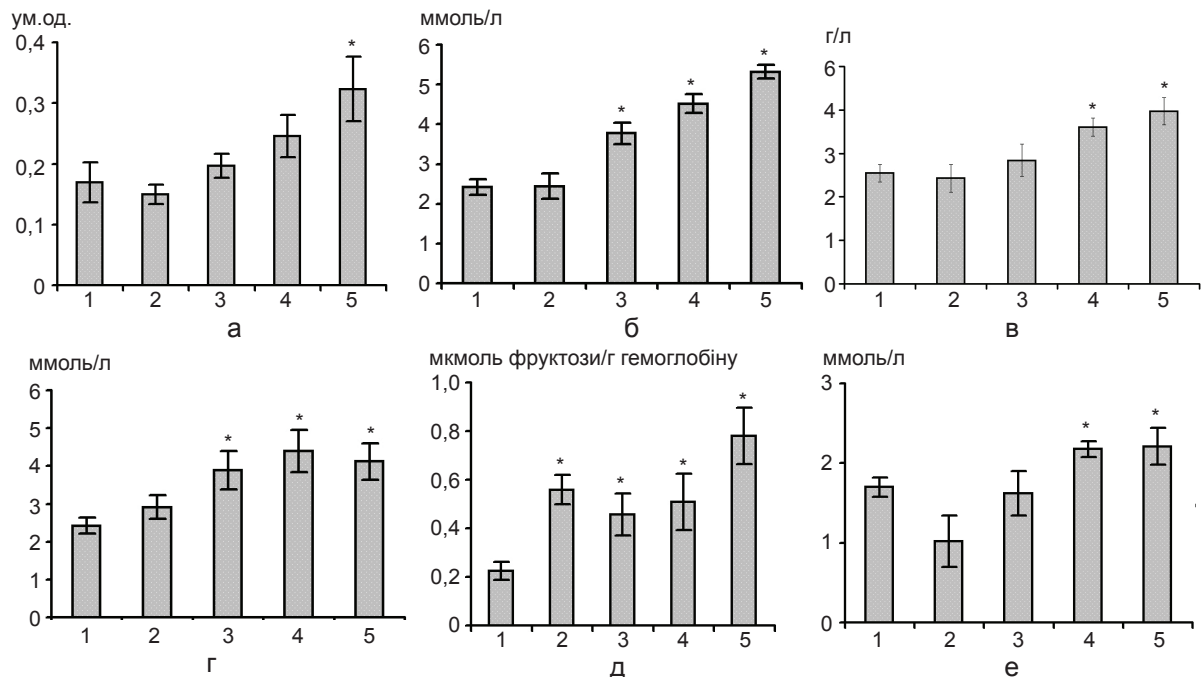


Рис. 1. Концентрація інсуліну (а), холестерину (б), тригліцеридів (в), глюкози (г), глікозильованого гемоглобіну (д) та ліпопротеїду низької щільності (е) у сироватці крові шурів: 1 – контроль, 2–5 – тварини з хронічною алкогольною інтоксикацією на 1, 3, 7 та 11-ту добу (n = 12). *P < 0,05 достовірність відносно контролю

добу від початку дослідження, який зростав в динаміці розвитку алкогольної інтоксикації в 1,3 раза (на 7-му та 11-ту добу; див. рис. 1,е).

Отже, встановлені зміни основних показників вуглеводного та ліпідного обмінів відповідають клінічній картині, що супроводжує розвиток цукрового діабету 2-го типу та переддіабетичного стану і узгоджується з метаболічними порушеннями у людей, хворих на інсулінонезалежний діабет. Отримані результати вказують, що з підвищенням терміну вживання алкоголю зростають основні показники розвитку цукрового діабету 2-го типу. Таким чином, регулярне вживання доз алкоголю, що мають суттєвий вплив на метаболізм, може призводити до розвитку переддіабетичного стану.

Сьогодні одним із основних патогенетичних факторів розвитку інсулінонезалежної форми діабету вважають інсулінорезистентність – недостатня відповідь клітин на дію інсуліну при його достатній кількості в крові. Цей стан зумовлений порушенням сприйнятливості до інсуліну та інсулінової секреції. Дослідження чутливості периферичних тканин до дії інсуліну є одним із основних діаг-

ностичних критеріїв підтвердження розвитку цукрового діабету 2-го типу.

На рис. 2 представлено криві, які відображають, наскільки швидко нормалізується вміст глюкози в крові тварин у відповідь на введення екзогенного інсуліну.

Для кількісного обрахунку результатів, отриманих під час інсулінотолерантного тесту за індекс чутливості периферичних тканин до інсуліну приймали швидкість зниження вмісту глюкози в крові після введення інсуліну, яку визначали за зміною концентрації глюкози на 15-й і 60-й хвилині від моменту отримання екзогенного інсуліну.

У попередніх дослідженнях нами було показано зниження в 1,3 раза швидкості засвоєння глюкози периферичними тканинами у щурів з цукровим діабетом 2-го типу порівняно зі зниженнями контрольної групи тварин, що узгоджується з літературними даними та відповідає загальній картині цього захворювання [1]. Для підтвердження або спростування виникнення переддіабетичного стану у щурів з алкогольною інтоксикацією слід було провести тест на визначення інсулінорезистентності. Потрібно зазначити, що

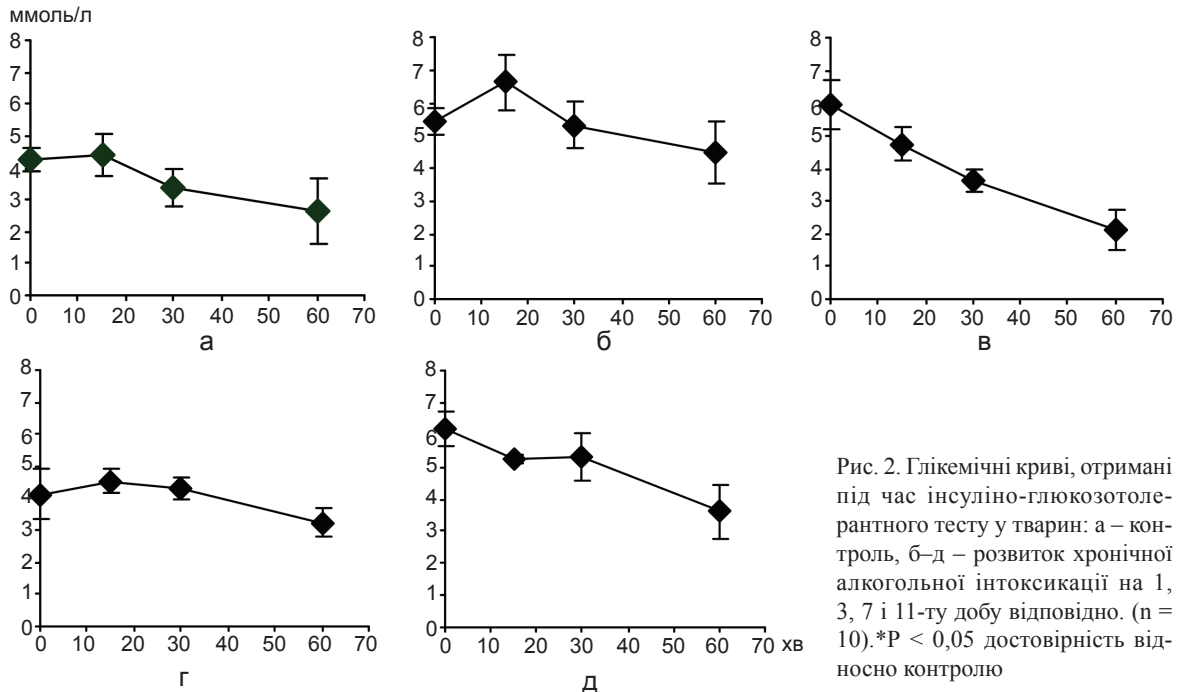


Рис. 2. Глікемічні криві, отримані під час інсуліно-глюкозотолерантного тесту у тварин: а – контроль, б–д – розвиток хронічної алкогольної інтоксикації на 1, 3, 7 і 11-ту добу відповідно. (n = 10). *P < 0,05 достовірність відносно контролю

під час дослідження встановлено зростання швидкості засвоєння глюкози периферичними тканинами на 1-шу добу (в 1,5 раза) та 3-тю добу (в 1,3 раза) введення спиртового розчину. В більш пізні терміни на 7-му та 11-ту добу швидкість засвоєння глюкози знижується, що може вказувати на розвиток стану інсулінорезистентності, який відіграє важливу роль у патогенезі цукрового діабету 2-го типу.

Згідно з даними літератури, втрата чутливості м'язової, жирової тканин та тканин печінки до інсуліну є причиною метаболічних порушень вуглеводного та ліпідного обміну за умов цукрового діабету 2-го типу та є одним з основних факторів розвитку та прогресування його ускладнень. Інсулінорезистентність тканин печінки характеризується зниженням синтезу глікогену і активацією процесів розщеплення його до глюкози, синтезу глюкози із амінокислот, лактату, пірувату, гліцерину, внаслідок чого збільшується надходження глюкози в кровообіг. Останнє є одним із ключових факторів розвитку цукрового діабету 2-го типу та прогресування його ускладнень [1, 21].

У попередній праці ми показали [3], що серотонінергічна система бере участь у розвитку та проходженні цукрового діабету 2-го типу. Встановлено, що однією з причин є зниження вмісту серотоніну в головному мозку та підвищення – в сироватці крові щурів. Наразі було досліджено вміст серотоніну та субстрату його біосинтезу – триптофану

в головному мозку та сироватці крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації. Тому наступним етапом нашого дослідження було вивчення вмісту серотоніну та триптофану протягом усього періоду розвитку алкогольної інтоксикації (на 1, 3, 7 та 11-ту добу від початку введення етанолу). Слід відмітити, що триптофан в мозку щурів підвищувався. Введення щурам 30%-го розчину етанолу призводило до зниження вмісту серотоніну в головному мозку дослідних тварин у 1,2 раза в усі досліджувані терміни.

За умов розвитку інтоксикації вміст триптофану у сироватці крові щурів на 1-шу добу знаходився у межах контрольних значень. Надалі введення етанолу дослідним тваринам на 3, 7 та 11-ту добу викликало поступове зростання вмісту цього показника в 1,3, 1,6 та 1,7 раза відповідно (див. таблицю). Вміст серотоніну в сироватці крові щурів під впливом етанолу підвищувався протягом всього періоду інтоксикації (див. таблицю). Таким чином, у результаті проведених досліджень спостерігається та сама тенденція зміни вмісту серотоніну та триптофану в головному мозку та сироватці крові щурів з алкогольною інтоксикацією, що і у тварин за умов розвитку цукрового діабету 2-го типу. Отримані результати вказують на залучення функціонування серотонінергічної системи в розвиток алкогольної інтоксикації. Останній супроводжується зростанням вмісту глюкози, розвитком інсулінорезистентності та зміною вмісту основних показників вуглеводного та

Вміст серотоніну та триптофану в головному мозку та сироватці крові щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації (M±m; n=10)

Показники	Контроль	1-ша доба	3-тя доба	7-ма доба	11-та доба
Серотонін					
у головному мозку, мкг/г тканини	2,13±0,09	2,09±0,15	1,95±0,27*	1,84±0,11*	1,85±0,05*
у сироватці крові, мкг/мл	3,36±0,74	6,44±1,74*	5,18±0,74*	5,10±0,46*	5,70±0,54*
Триптофан					
у головному мозку, мкг/г тканини	6,76±1,42	13,11±4,26	26,27±1,36*	25,96±1,74*	27,87±4,70*
у сироватці крові, нг/мл	35,37±4,46	40,85±5,02	45,07±3,67*	56,51±4,21*	61,32±6,11*

*P < 0,05 достовірність різниці відносно контролю.

ліпідного обміну. Зміна вмісту серотоніну в головному мозку та сироватці крові щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією може бути однією з причин порушення гомеостазу глюкози, виникнення резистентності до інсуліну – виникнення переддіабетичного стану. Отже, отримані результати вказують на розвиток переддіабетичного стану у щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією. Хронічне та надмірне вживання етанолу призводить до можливого розвитку цукрового діабету 2-го типу, що проявляється розвитком резистентності до інсуліну, порушенням гомеостазу глюкози, зміною основних показників вуглеводного та ліпідного обмінів.

В.В. Войтенко, В.В. Конопельнюк, А.Н. Савчук, Л.І. Остапченко

МЕХАНИЗМЫ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ПРЕДИАБЕТИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПРИ РАЗВИТИИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Исследовали изменения основных показателей углеводного и липидного обменов, которые соответствуют клинической картине, сопровождающей развитие переддиабетического состояния на фоне хронической алкогольной интоксикации. Из анализа гликемических кривых, полученных в ходе инсулино-глюкозотолерантного теста, установлено увеличение скорости усвоения глюкозы периферическими тканями на 1-е сутки (в 1,5 раза) и 3-и сутки (в 1,3 раза) введения спиртового раствора. На более поздних сроках на 7-е и 11-е сутки наблюдается снижение скорости усвоения глюкозы у животных с хронической интоксикацией алкоголем. Было также обнаружено повышение содержания серотонина в сыворотке крови крыс в течение всего периода развития хронической алкогольной интоксикации по сравнению с контрольными значениями и снижение – в мозгу крыс в 1,2 раза.

Ключевые слова: алкогольная интоксикация, переддиабетическое состояние, глюкоза, серотонин, инсулинорезистентность.

V.V. Voytenko, V.V. Konopelnyuk, O.M. Savchuk, L.I. Ostapchenko

APPEARANCE OF PREDIABETIC STATE UNDER CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

We investigated the changes in key parameters of carbohydrate and lipid metabolism, which correspond to the clinical picture that accompanies the development of prediabetic condition

on the background of chronic alcohol intoxication. From the analysis of glycemic curves obtained during the insulin-glucose test, a speed of glucose uptake by peripheral tissues increased at the 1st day (1.5 fold) and the third day (1.3 fold) of administration of alcohol solution. At the later periods, at 7 and 11 days of ethanol administration, a decreased rate of glucose uptake in animals with chronic alcohol intoxication was detected. We also detected an increased content of serotonin in the blood serum and a decreased (1.2 fold) serotonin content in rat brain during the whole period of development of chronic alcohol intoxication.

Key words: alcohol intoxication, prediabetic condition, glucose, serotonin, insulin resistance.

Taras Shevchenko National University, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Галенова Т.І., Конопельнюк В.В., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Відтворення експериментальної стрептозотоцин-індукованої моделі цукрового діабету 2-го типу у щурів // *Фізика живого*. – 2010. – №2. – С. 23–26.
2. Кетти Д. Антитела. Методы. Книга 1. – М.: Мир, 1991. – 288 с.
3. Конопельнюк В.В., Середницька К.Р., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Вплив m-хлорофенілпіперазину на вміст серотоніну у мозку та сироватці крові щурів за умов експериментального цукрового діабету 2 типу // *Мед. хімія*. – 2011. – **13**, №2. – С. 5–9.
4. Максименко Е.Г., Савченко В.Н. Уровень триптофана и серотонина в условиях судорожной активности головного мозга // *Вісник Харків. нац. ун-ту. ім. В.Н. Каразіна. Медицина*. – 2000. – **1**, № 494. – С. 40–43.
5. Мурзін О.Б. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей // *Посібник до практичних занять з фізіології людини*. – Дніпропетровськ: Вид. Дніпропетров. ун-ту, 2004. – С. 135–148.
6. Остерман Л.А. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. – М.: Наука, 1985. – 536 с.
7. Халилов М. Х., Закиходжаев Ш. Я. К характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации // *Вопросы клиники алкоголизма: Сб. науч. тр., Ташкент*. – 1983. – С. 38–41.
8. Ajani U.A., Hennekens C.H., Spelsberg A. Alcohol consumption and risk of Type 2 diabetes mellitus among US male physicians // *Arch. Int. Med.* – 2000. – **160**. – P. 1025–1030.
9. Balkau B., Randrianjohany A., Papoz L. A prospective study of alcohol use and non-insulin-dependent diabetes mellitus // *Amer. J. Epid.* – 1991. – **134**. – P. 1469–70.
10. Feskens E.J., Kromhout D.M. Cardiovascular risk factors and the 25-year incidence of diabetes mellitus in middle-aged men // *Ibid.* – 1989. – **130**. – P. 1101–1108.
11. Gaitonde M.K. A fluorimetric method for the determination of tryptophan in animal tissues // *Biochem. S.* – 1974. –

139. – P. 625-631.
12. Hodge A.M., Dowse G.K., Collins V.R. Abnormal glucose tolerance and alcohol consumption in three populations at high risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus // Amer. J. Epidemiol. – 1993. – **137**. – P. 178–89.
 13. Holbrook T.L., Barrett-Connor E., Wingard D.L. A prospective population-based study of alcohol and non-insulin-dependent diabetes mellitus // Ibid. – 1990. – **132**. – P. 902–909.
 14. Huse K., Böhme H.J., Scholz G.H. Purification of antibodies by affinity chromatography // J. Biochem. and Biophys. Meth. – 2002. – **51**, № 3. – P. 217-231.
 15. Imam K. Management and treatment of diabetes mellitus // Adv. in Exp. Med. in Biol. – 2012. – **771**. – P. 356–380.
 16. Islam M.A., Akhtar M.A., Khan M.R. Oral glucose tolerance test (OGTT) in normal control and glucose induced hyperglycemic rats with *Coccinia cordifolia* L. and *Catharanthus roseus* L. // Pakistan J. Pharm. Sci. – 2009. – **22**, №4. – P. 402-404.
 17. Major K., Saiah L., Rubli E., Rochat S., Monod S., Büla C. // Rev. Med. Suisse. – 2013. – **9**, №368. – P. 40-43.
 18. Perry I.J., Wannamethee S.G., Walker M.K. Prospective study of risk factors for development of non-insulin diabetes in middle-aged British men // BMJ. – 1995. – **310**. – P. 560–564.
 19. Rimm E.B., Chan J., Stampfer M.J. Prospective study of cigarette smoking, alcohol use, and the risk of diabetes in men // BMJ. – 1995. – **310**. – P. 555–559.
 20. Song S.H. Emerging type 2 diabetes in young adults // Adv. in Exp. Med. in Biol. – 2012. – **771**. – P. 51-61.
 21. Soumaya K. Molecular mechanisms of insulin resistance in diabetes // Ibid. – 2012. – №771. – P. 240–251.
 22. Stampfer M.J., Colditz G.A., Willett W.C. A prospective study of moderate alcohol drinking and risk of diabetes in women // Amer. J. Epidemiol. – 1988. – **128**. – P. 549–558.
 23. Tsumara K., Hayashi T., Suetmatsu C. Daily alcohol consumption and the risk of type 2 diabetes in Japanese men // Diabet. Care. – 1999. – **22**. – P. 1432-1437.
 24. Wei M., Gibbons L.W., Mitchell T.L. Alcohol intake and incidence of Type 2 diabetes in men // Ibid. – 2000. – **23**. – P. 18–22.
 25. Weissbach H., Philip Waalkes T., Udenfriend S., Weissbach H. A simplified method for measuring serotonin in tissue; simultaneous assay of both serotonin and histamine // J. Biol. Chem. – 1957. – **230**, № 2. – P. 865–871.

Київ. нац. ун-т ім. Тараса Шевченка
E-mail: vvvoitenko@yahoo.com

Матеріал надійшов
до редакції 18.03.2013