

ВПЛИВ АДРЕНАЛІНУ НА ДИНАМІКУ ПОКАЗНИКІВ ВУГЛЕВОДНОГО ОБМІНУ В ЩУРІВ

С. Шкурашівська^{1*}, Г. Ерстенюк²

¹Івано-Франківський коледж фізичного виховання
вул. гетьмана Мазепи, 142а, Івано-Франківськ 76026, Україна

²Івано-Франківський національний медичний університет
вул. Галицька, 2, Івано-Франківськ 76018, Україна
e-mail: shkurashivskasvitlana@gmail.com

Досліджено вплив одно- і дворазової ін'єкцій адреналіну на часові зміни концентрації глюкози, пірвіноградної та молочної кислот у плазмі крові, печінці та м'язах щурів. Експериментальним тваринам вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла одно- чи двократно з подальшим забором матеріалу через 30 хв або через 24 год. Тваринам контрольної групи вводили фізіологічний розчин. Очікувані ефекти адреналіну – гіперглікемія, вихід молочної кислоти (лактату) в кров і її надходження в печінку – спостерігалися через 30 хв після ін'єкції адреналіну. Через 24 год відмічено зміни протилежного характеру, а саме: зниження концентрації глюкози та пірвіноградної кислоти (пірвату) в усіх досліджуваних тканинах. Рівень лактату в тканинах щурів через 24 год після введення адреналіну залежав від кількості ін'єкцій. Зокрема, при одноразовому введенні адреналіну концентрація лактату знижувалась у крові та печінці, тоді як зростала у м'язах. Водночас при дворазовому введенні адреналіну концентрація лактату істотно зростала у всіх досліджуваних тканинах.

Ключові слова: адреналін, глюкоза, пірват, лактат, щурі

Адреналін є важливим регулятором метаболічних процесів у організмі людини і тварин. Викид адреналіну в кров відбувається при фізичних навантаженнях, психоемоційних стресах, травмах і шоківих станах [5, 12, 16]. Взаємодія адреналіну з рецепторами на поверхні клітин печінки зумовлює активацію відповідних протеїназ, що, у свою чергу, призводить до активації глікогенолізу. Гепатоцити починають виділяти глюкозу в кров через кілька секунд після адреналінового сигналу [4, 5, 7, 10, 12]. Глюкоза надалі надходить у клітини м'язів, де використовується для продукції аденозинтрифосфорної кислоти (АТФ) у гліколізі та циклі трикарбонних кислот [12, 15, 22]. При розщепленні АТФ вивільняється енергія, яка забезпечує перебіг багатьох процесів, необхідних для переживання шоківого стану і виведення організму з нього. Адреналін взаємодіє з рецепторами мембран м'язових клітин, унаслідок чого активуються аденілатциклазний та інозитолфосфатний каскадні механізми, що забезпечує включення у процес катаболізму великої кількості глюкози протягом короткого часу. Добре відомо, що адреналін збільшує частоту і силу серцевих скорочень, впливає на забезпечення тканин киснем, глюкозою та іншими метаболітами, які слугують джерелом енергії. Введення адреналіну часто застосовують для відновлення роботи серця у разі його тимчасової зупинки [8]. З іншого боку, деякими авторами [14, 19] висловлено припущення про те, що введення адреналіну може спричинити розвиток серцево-судинних захворювань. Недавні повідомлення [22] вказують на позитивну роль хронічного введення невеликих доз адреналіну стосовно гіпертензії, інсулінорезистентності й розвитку метаболічного синдрому. Важливим для розуміння метаболічних порушень, які виникають в організмі тварин і людини, на нашу думку, є вивчення рівня метаболітів як

кінцевих, так і проміжних не тільки у плазмі крові, але і в органах та тканинах. Такий підхід є актуальним, оскільки дає змогу отримати нові інформативні дані для розуміння перебудови метаболізму за умов впливу різних за частотою стресових ситуацій, а також оцінити віддалені наслідки такого впливу. З іншого боку, вивчення рівня глюкози, лактату й пірувату може сприяти підбору коригуючих чинників для таких стресових ситуацій, що має важливе значення для певної категорії професій, а також для клінічної практики. Виходячи з цього, метою даного дослідження було вивчити показники вуглеводного обміну в організмі експериментальних тварин за умов адреналінового стресу різної інтенсивності.

Матеріали та методи

В експерименті використано 40 білих щурів-самців і самок лінії Вістар масою 150–200 г. Тварин утримували на стандартному харчовому раціоні віварію [2]. Тварини контрольної та дослідних груп за 12 год до проведення експерименту були позбавлені харчування й отримували тільки питну воду. Для моделювання адреналінового стресу використовували одно- та дворазове введення 0,18 % розчину адреналіну гідрохлориду з розрахунку 0,05 мг/кг маси тіла [1]. Адреналін вводили внутрішньом'язово (задня нога, внутрішній бік). Дози адреналіну були вибрані згідно з даними літератури [1, 9]. Забір матеріалу (кров, печінку і м'язи) проводили після декапітації під тіопенталовим наркозом через 30 хв і 24 год після введення адреналіну. Декапітацію проводили згідно з положеннями директиви 2010/63/EU Європейського союзу про захист тварин, яких використовують для наукових цілей [11]. Експериментальні тварини були розподілені таким чином: I група – контрольні тварини, яким вводили фізіологічний розчин; II група – тварини, яким вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла з подальшим забором матеріалу через 30 хв; III група – тварини, яким вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла з подальшим забором матеріалу через 24 год; IV група – тварини, яким двічі вводили адреналін з інтервалом 1 год в дозі 0,05 мг/кг маси тіла з подальшим забором матеріалу через 30 хв; V група – тварини, яким двічі вводили адреналін у дозі 0,05 мг/кг маси тіла із забором матеріалу через 24 год.

Тканини гомогенізували у ступці за допомогою товчачика в 10 %-ній трихлороцтовій кислоті (ТХО) у співвідношенні 1:10 (маса/об'єм). Отриманий гомогенат центрифугували при 8 000 об/хв на центрифугі ОПН-8. Супернатант використовували для подальшого аналізу.

Вміст глюкози визначали глюкозооксидазним методом. За наявності глюкозооксидази (КФ 1.1.3.4) глюкоза окислюється киснем повітря до глюконової кислоти й перекису водню, який за наявності пероксидази реагує з фенолом і 4-амінофеназоном з утворенням хінонімінового похідного червоно-фіолетового забарвлення, інтенсивність якого визначали на фотоелектроколориметрі при довжині хвилі 540 нм. Піровиноградну кислоту (піруват) визначали колориметричним методом. Метод ґрунтується на реакції оксогрупи з 2,4-динітрофенілгідразином. У результаті цієї реакції утворюються динітрофенілгідразонові похідні, які поглинають світло з довжиною хвилі 465 нм. Визначення концентрації молочної кислоти (лактату) проводили ферментативним методом з подальшим колориметруванням. Метод ґрунтується на ензиматичному окисленні молочної кислоти до піровиноградної ферментом лактатдегідрогеназою (КФ 1.1.1.27) при одночасному відновленні окисленого нікотинамідаденіндинуклеотиду (НАД⁺) до НАДН. Кількість молочної кислоти розраховували за НАДН, який утворювався в результаті реакції, визначаючи зміну його оптичної густини при 340 нм.

Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за допомогою комп'ютерної програми «Statistica 7.0». Достовірність різниці між середніми оцінювали за непарним двобічним *t*-тестом Стьюдента. Вірогідними вважали відмінності за $p < 0,05$. Значення в таблиці та на рисунку представлені як середнє \pm стандартна похибка середнього.

Результати і їхнє обговорення

Проведені нами дослідження дали змогу встановити, що через 30 хв після одно- або дворазового введення адреналіну в експериментальних тварин наставала гіперглікемія – концентрація глюкози у крові була на 15–16 % вища (рис. 1, А), ніж у контрольних особин. Водночас слід відмітити зниження концентрації глюкози у гомогенаті печінки цих тварин на 10 % і гомогенаті м'язів – на 74 %. Відомо, що адреналін стимулює глікогеноліз у печінці та м'язах, процеси глюконеогенезу в печінці, а гліколізу – в м'язах [5, 12, 15]. Концентрація глюкози у клітинах печінки та м'язів за умов адреналінового стресу залежатиме від інтенсивності перебігу глікогенолізу, глюконеогенезу, гліколізу і вивільнення глюкози у кров. Можна припустити, що за такого впливу в м'язах більш активно відбуваються процеси гліколізу, ніж глікогенолізу. Це цілком ймовірно, оскільки відомо, що запаси глікогену в м'язах відносно малі порівняно з такими у печінці [13]. Можливо, саме тому через 30 хв після одноразового введення адреналіну концентрація глюкози в печінці не знижувалася так стрімко, як у м'язах.

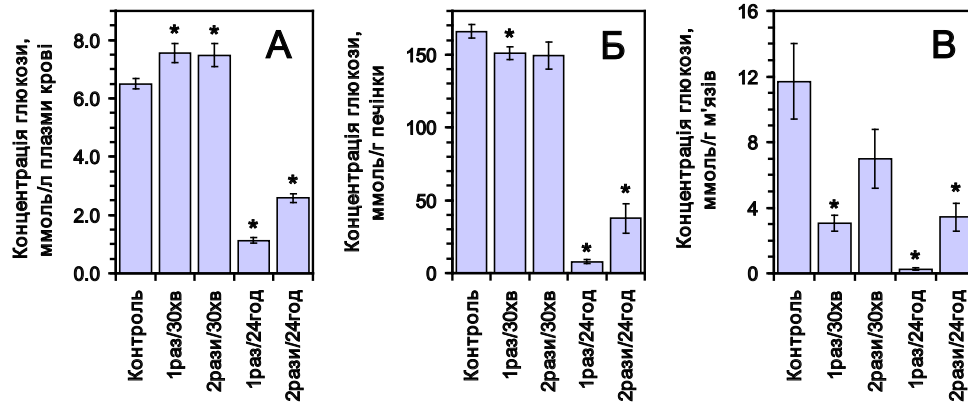


Рис. 1. Концентрація глюкози (ммоль/л або ммоль/г тканини) у плазмі крові (А), печінці (Б) та м'язах (В) шурів після одно- або дворазового введення адреналіну з подальшим забором проб через 30 хв і 24 год. Дані представлені як середнє \pm похибка середнього. *Показник достовірно ($p < 0,05$) відрізняється від значення в контролі. У всіх дослідах було використано 7–10 тварин

Викликають інтерес результати дослідження концентрації глюкози у тканинах через 24 год після одно- та дворазового введення адреналіну. Отримані дані вказують на розвиток гіпоглікемії за таких умов: рівень глюкози у плазмі крові знижувався в 5,8 і 2,5 рази після одно- або дворазового введення адреналіну відповідно, причому більш суттєві зміни спостерігали після одноразового введення. Подібну тенденцію спостерігали у тканинах печінки та м'язів: через 24 год після одно- і дворазового введення адреналіну концентрація глюкози у печінці знижувалась у 22 та 4,4 рази відповідно (рис. 1, Б), у м'язах - в 44 та 3,4 рази (рис. 1, В).

З наукової літератури [7, 12] відомо, що адреналін швидко видаляється з руслу крові після виділення наднирниками або введення ззовні. Віддалені ефекти введення адреналіну можуть бути пов'язані з індукцією вторинної гормональної відповіді [21, 22]. Можливе, зокрема, виділення інших гормонів, які активують катаболізм вуглеводів, що, у свою чергу, призводить до виснаження енергетичних запасів або до надходження глюкози до інших тканин, які ми не аналізували [10, 20].

Важливим показником для характеристики обміну вуглеводів є рівень пірувату як кінцевого метаболіту гліколізу. У багатьох тканинах піруват одразу після утворення в глі-

колізі може включатися в цикл лимонної кислоти, йдучи на синтез відновних еквівалентів і, надалі, на синтез АТФ [3, 6, 10]. У м'язах він відновлюється до лактату, після чого може перетворюватись на глюкозу вже в печінці. Піруват також може вступати в реакції переамінування з утворенням в-аланіну, тим самим використовуючись для утворення білків або, навпаки, включатись у глюкозо-аланіновий цикл і перетворюватись на глюкозу [18].

Проведені нами дослідження показали, що одноразове введення адреналіну не спричинило істотних змін концентрації пірувату в тканинах упродовж 30 хв (див. таблицю). Дворазове введення адреналіну призводило до зниження концентрації пірувату в плазмі крові на 23 %, а в печінці та м'язах – на 33 і 44 % порівняно з контрольною групою тварин. Така динаміка може свідчити на користь швидкого використання пірувату на енергетичні потреби, відновлення до молочної кислоти, можливе переамінування та включення в глюконеогенез. Через 24 год після одноразового введення адреналіну спостерігали зниження рівня пірувату в печінці на 7 % і м'язах – на 19 %, натомість у крові цей показник суттєво не змінювався. Дворазове введення адреналіну призвело до зниження концентрації пірувату на 17 % у плазмі крові та на 19 % у м'язах. У печінці цей показник перебував у межах контролю.

Концентрація пірувату (ммоль/л або ммоль/г тканини) у тканинах щурів після одно- або дворазового введення адреналіну з подальшим забором проб через 30 хв і 24 год

Тканини	Групи тварин				
	Контрольна (n=7)	Одноразове введення з забором матеріалу через 30 хв (n=7)	Дворазове введення з забором матеріалу через 30 хв (n=10)	Одноразове введення з забором матеріалу через 24 год (n=7)	Дворазове введення з забором матеріалу через 24 год (n=7)
Плазма крові	28,3±1,4	28,4±0,9	21,7±0,4*	31,4±0,6	23,4±0,9*
Печінка	206±3	200±3	139±1*	191±5*	204±6
М'язи	224±4	231±6	126±2*	181±7*	183±1*

Примітки: Дані представлені як середнє ± похибка середнього.

*Показник достовірно ($p < 0,05$) відрізняється від значення в контролі.

Для характеристики метаболізму вуглеводів використовують дослідження концентрації молочної кислоти, яка утворюється з пірувату в ході анаеробного окиснення. Отримані нами результати вказують на те, що через 30 хв після одноразового введення адреналіну рівень лактату в крові та печінці зростав у 1,8 та 1,2 разу, відповідно. Одночасно відмічено зниження концентрації лактату в м'язах у 2,8 разу (рис. 2). Такі дані можуть свідчити, що в цьому періоді адреналін сприяє активному виведенню лактату з клітин м'язів у кров і надходження його до печінки з включенням у цикл Корі. Втім, істотне зниження концентрації лактату в м'язах може свідчити також про зменшення його утворення й одночасне включення пірувату в цикл трикарбонних кислот для отримання енергії за рахунок окисного фосфорилування.

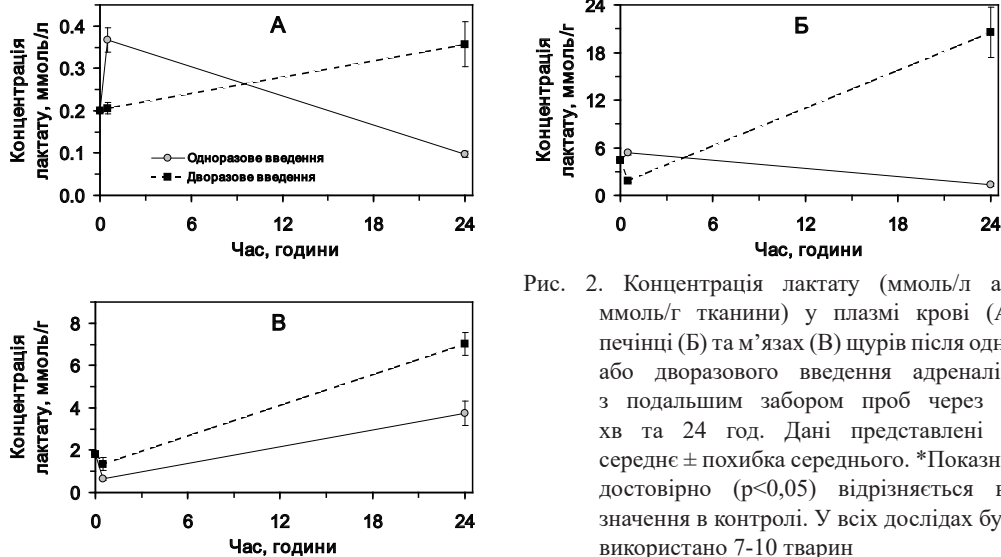


Рис. 2. Концентрація лактату (ммоль/л або ммоль/г тканини) у плазмі крові (А), печінці (Б) та м'язах (В) щурів після одно- або дворазового введення адреналіну з подальшим заборою проб через 30 хв та 24 год. Дані представлені як середнє \pm похибка середнього. *Показник достовірно ($p < 0,05$) відрізняється від значення в контролі. У всіх дослідах було використано 7-10 тварин

Через 30 хв після дворазового введення адреналіну концентрація лактату в плазмі крові та м'язах достовірно не відрізнялася від контролю, проте в печінці була в 2,4 разу нижчою (рис. 2, А і Б). Через 24 год після одноразового введення адреналіну спостерігалося зниження концентрації лактату в плазмі крові та печінці в 2,1 та 3,3 разу, відповідно. Водночас концентрація лактату в м'язах була в 2,1 разу вищою, ніж у контролі (рис. 2, В). Через 24 год після дворазового введення спостерігалося накопичення лактату в усіх досліджуваних тканинах, порівняно з контролем.

Таким чином, одержані нами дані вказують на те, що очікувані ефекти адреналіну – гіперглікемія, вихід лактату в кров і надходження в печінку – спостерігаються через 30 хв після введення адреналіну. Спостереження через 24 год дали змогу встановити істотні порушення вуглеводного обміну, що супроводжувалися розвитком гіпоглікемії, а також зниженням концентрації глюкози в печінці та м'язах з одночасним зниженням концентрації пірувату. Знижена концентрація глюкози у всіх тканинах у цей момент може свідчити про швидке використання глюкози в енергетичному обміні та сповільнення процесів глюконеогенезу. Такі віддалені ефекти дії адреналіну також підтверджують інші автори [3].

Концентрація лактату в тканинах щурів через 24 год після введення адреналіну залежить від кількості введень адреналіну. Найбільш суттєві зміни цього показника спостерігали при дворазовому введенні, вони супроводжувалися накопиченням лактату, що може призвести до розвитку лактоацидозу.

Отримані дані спонукають до подальших досліджень віддалених наслідків впливу адреналінового стресу на метаболічні процеси та пошуки способів корекції виявлених порушень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Берегова Т. В., Григорова Н. В., Щенко Ю. В. та ін. Зміни вмісту цинку в крові та клітинах різних органів при стресових впливах // Фізіолог. журнал. 2007. Т. 53. № 6. С. 29–33.

2. *Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А.* и др. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте [3-е изд., перераб. и доп.]. К.: Вища школа, 1983. 383 с.
3. *Кургалюк Н., Ткаченко Г.* Ефективність окисних процесів за впливу L-аргініну й адреналінової міокардіодистрофії у щурів із різною резистентністю до гіпоксії // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2004. Вип. 37. С. 198–204.
4. *Липунова Е. А., Сорокина М. Ю.* Физиология крови: моногр. исслед. Белгород: Изд-во БелГУ, 2007. 324 с.
5. *Парванян С. Г., Лебединский К. М., Курапеев И. С.* и др. Физиологические эффекты адреналина и применение эпинефрина в клинике // Анестезиология и реаниматология. 2008. № 4. С. 74–77.
6. *Сирота Т. В., Елисеєва О. П., Хундерякова Н. В.* и др. Действие масла из семян амаранта на энергетические функции митохондрий печени крыс в условиях введения адреналина // Укр. біохім. журнал. 2007. Т. 79. № 5. С. 196–203.
7. *Хухо Ф.* Нейрохимия: Основы и принципы / пер. с англ. М.: Мир, 1990. 384 с.
8. *Callaway C. W.* Epinephrine for cardiac arrest // *Curr. Opin. Cardiol.* 2013. Vol. 28. N 1. P. 36–42.
9. *Chen M. H., Lu J. Y., Xie L.* et al. What is the optimal dose of epinephrine during cardiopulmonary resuscitation in a rat model? // *Am. J. Emerg. Med.* 2010. 28. N 3. P. 284–290.
10. *Depre C., Vanoverschelde J. L., Taegtmeyer H.* Glucose for the heart // *Circulation.* 1999. Vol. 99. N 4. P. 578–588.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // *Official Journal of the European Union.* 2010. L273. P. 33–79.
12. *Functional metabolism: Regulation and adaptation.* Hoboken, New Jersey: Wiley-Liss, Inc., 2004. 594 p.
13. *Iwasaki H., Naka A., Iida K. T.* et al. TFE3 regulates muscle metabolic gene expression, increases glycogen stores, and enhances insulin sensitivity in mice // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2012. Vol. 302. N 7. P. E896–E902.
14. *Jang Y., Kim E.* Cardiovascular effect of epinephrine in endodontic microsurgery: a review // *Restor. Dent. Endod.* 2013. Vol. 38. N 4. P. 187–193.
15. *Kusaka M., Ui M.* Activation of the Cori cycle by epinephrine // *Am. J. Physiol.* 1977. Vol. 232. N 2. P. E145–E155.
16. *Luchette F. A., Jenkins W. A., Friend L. A.* et al. Hypoxia is not the sole cause of lactate production during shock // *J. Trauma.* 2002. Vol. 52. N 3. P. 415–419.
17. *Maheandiran M., Mylvaganam S., Wu C.* et al. Severe hypoglycemia in a juvenile diabetic rat model: presence and severity of seizures are associated with mortality // *PLoS One.* 2013. Vol. 8, N 12 (e83168). P. 1–13.
18. *Perriello G., Jorde R., Nurjhan N.* et al. Estimation of glucose-alanine-lactate-glutamine cycles in postabsorptive humans: role of skeletal muscle // *Am. J. Physiol.* 1995. Vol. 269. N 3. P. E443–E450.
19. *Rumantir M. S., Jennings G. L., Lambert G. W.* et al. The ‘adrenaline hypothesis’ of hypertension revisited: evidence for adrenaline release from the heart of patients with essential hypertension // *J. Hypertens.* 2000. Vol. 18. N 6. P. 717–723.
20. *Vaughan M.* Effect of hormones on glucose metabolism in adipose tissue // *J. Biol. Chem.* 1961. Vol. 236. P. 2196–2199.

21. Vicini P., Avogaro A., Spilker M. E. et al. Epinephrine effects on insulin-glucose dynamics: the labeled IVGTT two-compartment minimal model approach // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2002. Vol. 283. N 1. P. E78–E84.
22. Ziegler M. G., Elayan H., Milic M. et al. Epinephrine and the metabolic syndrome // *Curr. Hypertens. Rep.* 2012. Vol. 14. N 1. P. 1–7.

Стаття: надійшла до редакції 02.02.16

доопрацьована 30.09.16

прийнята до друку 01.12.16

THE EFFECT OF ADRENALINE ON DYNAMICS OF CARBOHYDRATE METABOLISM INDICES IN RATS

S. Shkurashivska¹, H. Ersteniuk²

¹ *Ivano-Frankivsk College of Physical Education
142a, Mazepa St., Ivan-Frankivsk 76026, Ukraine*

² *Ivano-Frankivsk National Medical University
2, Halytska St., Ivano-Frankivsk 76018, Ukraine
e-mail: shkurashivskasvitlana@gmail.com*

The influence of single or double adrenaline injection on time changes of glucose, pyruvic and lactic acid concentration in rat blood plasma, liver and muscles has been investigated. Experimental animals were injected once or twice by adrenalin 0.05 mg/kg at dose followed by samples collection after 30 minutes or 24 hours. Physiological solution was injected into animals of the control group. Expected effects of adrenaline, namely hyperglycemia, lactic acid (lactate) release into blood and its uptake by the liver, were observed 30 minutes after adrenaline injection. Twenty four hours after adrenaline injection, opposite kind of changes were indicated, particularly, decrease in glucose and pyruvic acid (pyruvate) concentration in all tissues investigated. Lactate level in rat tissues 24 hours after adrenaline injection depended on the number of injections. Namely, lactate concentration decreased in blood plasma and liver, while increased in muscles after single injection. At the same time, lactate concentration increased considerably in all tissues investigated after double adrenaline injection.

Keywords: adrenaline, glucose, pyruvate, lactate, rats