

Уровень гликемии у крыс через час после введения биорегуляторов и ксенобиотиков

А.А. Чиркин, С.С. Стугарева

Учреждение образования «Витебский государственный университет имени П.М. Машерова»

Изучено влияние биорегуляторов и некоторых ксенобиотиков через час после внутрибрюшинного введения крысам на содержание в крови глюкозы, кортикостерона, гистамина и серотонина. На основании этих исследований можно сделать следующие заключения: гипогликемия в сочетании с повышением содержания кортикостерона была зарегистрирована после введения свиного инсулина, человеческого инсулина, кортикотропина, соматотропина, серотонина и смеси гистамин+серотонин (в малых дозах), димедрола и никотиотида; гипергликемия в сочетании с повышенным содержанием кортикотропина была выявлена после введения катехоламинов и моноаминов (в высоких дозах); достоверное повышение уровня гистамина в крови крыс наблюдалось после введения кортикостерона, кортикотропина и преднизолона, а также после введения моноаминов в высоких дозах.

Полученные данные могут оказаться полезными при моделировании метаболического синдрома как этапа доклинического испытания субстанций для профилактики развития инсулинорезистентности и атеросклеротического поражения сосудов.

Ключевые слова: биорегуляторы, ксенобиотики, глюкоза, кортикостерон, гистамин, серотонин, крыса.

The Level of Glycemia in Rats One Hour after Administration of Bioregulators and Xenobiotics

A.A. Chirkin, S.S. Stugareva

Educational establishment «Vitebsk State University named after P.M. Masharov»

The influence of bioregulators and some xenobiotics an hour after intraperitoneal administration in rats on blood levels of glucose, corticosterone, histamine and serotonin is studied. On the basis of these studies, the following conclusions can be made:

1. Hypoglycemia in conjunction with increased levels of corticosterone was registered after administration of porcine insulin, human insulin, corticotropin, somatotropin, serotonin and histamine+serotonin mixture (in small doses), diphenhydramine, and nicotinamide.

2. Hyperglycemia in combination with high content of corticotropin was detected after administration of catecholamines and monoamines (in high doses).

3. A reliable increase in rat blood histamine levels was observed after administration of corticosterone, corticotropin and prednisolone as well as monoamines after administration in high doses.

The data obtained may be useful in modeling the metabolic syndrome as a stage of preclinical testing of substances to prevent the development of insulin resistance and atherosclerosis.

Key words: bioregulators, xenobiotics, glucose, corticosterone, histamine, serotonin, rat.

Гипергликемия является наиболее важным критерием метаболического синдрома, в патогенезе которого ведущую роль играет развитие инсулинорезистентности. Это состояние часто предшествует и почти всегда сопровождает инициацию и перманентное нарастание симптомов атеросклероза [1–2]. Недостаточно изучена степень участия эндогенных и экзогенных веществ в механизмах синергичного действия биологически активных субстанций и ксе-

нобиотиков в рамках последовательности событий: инсулинорезистентность – гипергликемия – дислипидемия – воспалительные процессы в стенке артерий – атероматоз [1–3]. Поэтому целью работы явилось изучение влияния биорегуляторов и некоторых ксенобиотиков на сочетанные изменения уровней глюкозы, кортикостерона, гистамина и серотонина в крови крыс. Для этого был применен эксперимент *in vivo*, когда оцениваются взаимозависимые изменения

параметров крови через фиксированный период времени (1 час) после введения тестируемых растворов веществ внутрибрюшинно.

Материал и методы. Опыты поставлены на 220 беспородных крысах-самцах средней массой 170 ± 10 г, разделенных на 22 группы, по 10 животных в каждой. Перед экспериментом крысы не получали корм на протяжении 12 часов; вода была доступна. Первая группа включала интактных крыс. Крысам второй группы (контроль) внутрибрюшинно вводили по 1 мл 0,9% раствора хлорида натрия (физиологический раствор), животным же остальных групп – различные биологически активные вещества и ксенобиотики в дозах, указанных в табл. Через 1 час после введения препаратов животных декапитировали и исследованию подвергали кровь, стабилизированную гепарином.

В крови определяли содержание глюкозы глюкозооксидазным методом и выражали в мг/дл; уровни гистамина и серотонина оценивали спектрофлуориметрическим методом в соответствии с рекомендациями Т.И. Лукичевой [4] и С. Юденфренда [5]. В предварительных исследованиях подбирали условия для наиболее полной экстракции и выделения моноаминов (оптимум pH, время и количество встряхиваний при экстракции и расслоении фаз и пр.), позволяющие получить идентичные спектры возбуждения и выделения при сравнении со стандартными растворами. Содержание гистамина и серотонина выражали в мкг/мл крови. В сыворотке крови определяли содержание 11-оксикортикостероидов спектрофлуориметрическим методом в прописи И.Я. Усватовой и Ю.А. Панкова [6]. Измерения проводили при длинах волн 470 нм (возбуждение) и 520 нм (выделение). Содержание 11-оксикортикостероидов выражали в мкг/дл крови.

После анализа на правильность распределения полученный цифровой материал подвергался статистической обработке с использованием критерия t Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Полученные результаты представлены в табл.

Установлено, что через час после введения исследуемых веществ обнаружены два эффекта: 1) достоверное снижение уровня глюкозы (инсулин, кортикостерон, кортикотропин, соматотропин, низкие дозы серотонина, смеси гистамин+серотонин, дибазол, димедрол, никотинамид); 2) достоверное повышение уровня глюкозы (тироксин, адреналин, норадреналин, высокие дозы гистамина, серотонина и их смеси).

Преднизолон и селенит натрия не оказали влияния на уровень гликемии.

Инсулин связывается с рецептором на поверхности инсулинчувствительных клеток и вызывает 3 эффекта: усиление переноса глюкозы через плазматическую мембрану клетки в цитозоль, включение глюкозы в состав гликогена и активацию ферментов аэробного превращения глюкозы. Затем инсулин интернализуется и оказывает долгосрочные эффекты, связанные с экспрессией генов и делением клеток. Свиной инсулин в высокой дозе (500 мкед) вызывает наиболее выраженную гипогликемию, сопряженную с трехкратным повышением содержания кортикостерона и аналогичным по выраженности снижением концентрации гистамина в крови. Уровень серотонина незначительно повышен. Эти данные укладываются в классические представления о действии инсулина, а именно: выраженная гипогликемия активирует гипоталамо-гипофизарно-адреналовую ось, что сопровождается выбросом кортикостерона, метаболические эффекты которого направлены на ликвидацию гипогликемического состояния во времени за счет глюконеогенеза. В это время соотношение серотонин/гистамин резко увеличено с 4,5 в контроле до 17,0. Подобные изменения, вероятно, являются следствием того, что после дегрануляции тучных клеток сразу после введения инсулина происходило обратное поглощение моноаминов этими клетками. Но гистамин поглощался энергичнее, чем серотонин. В результате в крови резко возрастает величина соотношения серотонин/гистамин. Такое состояние характерно для этапа реабилитации заболеваний воспалительной природы. При уменьшении дозы инсулина в 10 раз сохраняются гипогликемический эффект и снижение уровня гистамина в крови, но в меньшей степени; уровни кортикостерона и серотонина сопоставимы с контрольными значениями этих показателей. Введение препарата человеческого инсулина в дозе 50 мкед обеспечило такое же снижение уровня глюкозы, как и препарат свиного инсулина, но было повышено содержание кортикостерона и снижено содержание серотонина. Следовательно, минимальные отличия по аминокислотному составу препаратов свиного и человеческого инсулинов, наряду с одинаковым гипогликемическим действием, вызывают отличающиеся изменения в эндокринной регуляции гомеостаза глюкозы и дегрануляционной активности тучных клеток.

Влияние биологически активных веществ на содержание глюкозы, кортикостерона, гистамина и серотонина в крови белых крыс

Препарат	Доза, на 100 г массы	Глюкоза, мг/дл	Кортикостерон, мкг/дл	Гистамин, мкг/мл	Серотонин, мкг/мл
Интактные крысы	–	61,0±4,63	9,8±1,40	0,161±0,005	0,632±0,028
NaCl, 0,9%	1 мл	57,0±3,43	10,5±1,41	0,153±0,007	0,684±0,044
Инсулин-1	500 мкед	23,1±1,86 ¹	30,2±4,09 ¹	0,051±0,021 ¹	0,865±0,073 ¹
Инсулин-1	50 мкед	36,1±2,38 ¹	11,8±2,13	0,122±0,010 ¹	0,567±0,060
Инсулин-2	50 мкед	36,1±2,06 ¹	27,3±1,86 ¹	0,175±0,015	0,368±0,054 ¹
Кортикостерон	50 мкг	40,3±2,43 ¹	6,7±0,38 ¹	0,194±0,016 ¹	0,945±0,070 ¹
Преднизолон	500 мкг	51,2±2,75	8,9±1,90	0,207±0,012 ¹	0,506±0,058 ¹
Кортикотропин	0,5 ед	41,1±3,38 ¹	23,0±1,02 ¹	0,192±0,012 ¹	0,955±0,063 ¹
Соматотропин	5 мг	45,9±1,42 ¹	18,2±2,28 ¹	0,170±0,024	0,615±0,185
Тироксин	100 мкг	92,1±2,68 ¹	14,0±2,60	0,161±0,013	0,651±0,094
Адреналин	100 мкг	158±10,6 ¹	23,6±2,88 ¹	0,150±0,011	0,639±0,086
Норадреналин	100 мкг	92,3±5,20 ¹	24,5±2,35 ¹	0,158±0,007	0,484±0,025 ¹
Гистамин	5 мкг	51,0±2,03	12,1±1,86	0,096±0,006 ¹	0,710±0,107
Серотонин	25 мкг	44,0±3,66 ¹	15,3±1,10 ¹	0,160±0,018	0,778±0,062
Гистамин + Серотонин	5 мкг 25 мкг	44,8±2,43 ¹	14,5±1,05 ¹	0,141±0,015	0,808±0,108
Гистамин	500 мкг	72,8±5,59 ¹	21,3±2,08 ¹	0,364±0,039 ¹	1,115±0,170 ¹
Серотонин	1,25 мг	114±12,2 ¹	28,3±1,80 ¹	0,209±0,029 ¹	2,776±0,721 ¹
Гистамин + Серотонин	500 мкг 1,25 мг	104±5,41 ¹	23,6±1,17 ¹	0,976±0,122 ¹	3,960±0,561 ¹
Дибазол	100 мкг	43,1±2,06 ¹	12,2±2,90	0,156±0,014	0,579±0,101
Димедрол	100 мкг	46,1±3,43 ¹	16,7±1,64 ¹	0,156±0,020	0,528±0,083
Никотинамид	500 мкг	46,0±2,32 ¹	27,4±1,88 ¹	0,174±0,015	0,565±0,150
Селенит натрия	2,5 мкг	60,3±5,38	23,6±4,05 ¹	0,104±0,020 ¹	0,541±0,080

Примечание: ¹ – P<0,05. Инсулин-1 – фармакопейный свиной инъекционный препарат, инсулин-2 – лиофилизированный очищенный инсулин из крови человека.

Принято, что к веществам, угнетающим дегрануляцию тучных клеток, относятся кортикостероиды (у крыс), цАМФ, ЭДТА, колхицин; α-адреностимуляторы и цГМФ, напротив, усиливают дегрануляцию. Судя по данным табл., через час после введения препаратов получены противоположные результаты: инсулин, снижающий внутриклеточную концентрацию цАМФ, дозозависимо уменьшал содержание гистамина в крови, а гормон крыс – кортикостерон, стимулятор синтеза и выброса кортикостерона – кортикотропин и синтетический кортикостероид – преднизолон достоверно увеличивали содержание гистамина в крови. Рассматривая это противоречие, следует обратить внимание на содержание кортикостерона в крови подопытных крыс. После введения экзогенного кортикостерона через час в крови было достоверно снижено содержание этого гормона по сравнению с контролем. Однако после введения кортикотропина через час обнаружено вполне ожидаемое повышение кортикостерона в крови крыс. После введения преднизолона

содержание кортикостерона оказалось на контрольном уровне. Но во всех трех вариантах эксперимента содержание гистамина в крови было одинаково повышенным. Содержание серотонина также было в одинаковой степени повышено в крови крыс, которым вводили кортикостерон и кортикотропин, а после введения преднизолона уровень серотонина в крови был достоверно ниже контрольных значений. В целом действие человеческого инсулина на характер изменений содержания гистамина и серотонина совпадало с аналогичными изменениями после введения преднизолона. Из анализа этих результатов можно сделать следующие предположения: 1) в экспериментах, привязанных к одному сроку наблюдения, могут не подтверждаться казалось бы общепринятые представления; 2) экзогенные препараты, используемые в экспериментах на крысах, могут вести себя не как аналогичные эндогенные биорегуляторы, а как ксенобиотики (человеческий инсулин, преднизолон).

Воспроизведение высокой гипергликемии

введением тироксина, адреналина и норадреналина не сопровождалось изменением содержания гистамина в крови крыс. При этом катехоламины достоверно повышали содержание кортикостерона в крови.

Как и в эксперименте с введением кортикостерона, после введения малой дозы гистамина через час в крови оказалось достоверно сниженным содержание этого моноамина. Введение малых доз серотонина и смеси гистамин+серотонин привело через час к гипогликемии на фоне повышенного содержания кортикостерона. Высокие дозы моноаминов и их смеси обеспечили гипергликемию, гиперкортикостеронемию, гипергистаминемию и гиперсеротонинемию.

Ксенобиотики – лекарственные препараты дибазол, димедрол и никотинамид оказали в одинаковой степени гипогликемическое действие через час после введения, причем у двух последних препаратов этот эффект сопровождался повышением содержания кортикостерона в крови крыс. Содержание гистамина и серотонина в крови крыс через час после введения этих препаратов соответствовало контрольному уровню. Селенит натрия не повлиял на содержание глюкозы, повысил концентрацию кортикостерона и снизил содержание гистамина. Такие же изменения в содержании кортикостерона и гистамина вызывал свиной инсулин в дозе 500 мкЕд.

Заключение. В результате проведенных исследований по изучению влияния биорегуляторов и некоторых ксенобиотиков через час после внутрибрюшинного введения крысам на содержание в крови глюкозы, кортикостерона, гистамина и серотонина можно сделать следующие заключения:

- гипогликемия в сочетании с повышением содержания кортикостерона была зарегист-

рирована после введения свиного инсулина, человеческого инсулина, кортикотропина, соматотропина, серотонина и смеси гистамин+серотонин (в малых дозах), димедрола и никотинамида;

- гипергликемия в сочетании с повышенным содержанием кортикотропина была выявлена после введения катехоламинов и моноаминов (в высоких дозах);
- достоверное повышение уровня гистамина в крови крыс наблюдалось после введения кортикостерона, кортикотропина и преднизолона, а также после введения моноаминов в высоких дозах.

Полученные данные могут оказаться полезными при моделировании метаболического синдрома как этапа доклинического испытания субстанций для профилактики развития инсулинорезистентности и атеросклеротического поражения сосудов [7].

ЛИТЕРАТУРА

1. Чиркин, А.А. Пути оптимизации выявления и наблюдения больных с признаками метаболического синдрома / А.А. Чиркин, С.А. Голубев // Медицинские новости. – 2002. – № 10. – С. 23–29.
2. Чиркин, А.А. Метаболический синдром и биохимия стресса / А.А. Чиркин, Н.А. Степанова, Е.О. Данченко // Экологическая антропология. – Минск: Изд-во «Белорусский комитет «Дзеці Чарнобыля», 2007. – С. 104–108.
3. Чиркин, А.А. Диагностические коэффициенты для выявления нарушений обмена липидов при инсулинорезистентности / А.А. Чиркин [и др.] // Медицина. – 2010. – № 1(68). – С. 55–58.
4. Лукичева, Т.И. Гистамин в крови / Т.И. Лукичева // Унифицированные методы клинических лабораторных исследований. – М., 1972. – Вып. 4. – С. 58–86.
5. Юденфренд, С. Флюоресцентный анализ в биологии и медицине. – М.: Мир, 1965. – С. 163–167.
6. Усватова, И.Я. Флюорометрические методы определения кортикостероидов в плазме крови / И.Я. Усватова, Ю.А. Панков // Современные методы определения стероидных гормонов в биологических жидкостях. – М.: Медицина, 1968. – С. 38–48.
7. Chirkin, A.A. Biological effects of C200 Oak Silkworm Pupae's hydrophilic components / A.A. Chirkin [et al.] // Homoeopathic lincs. internat. jour. Classical Homoeopathy. – 2011. – Vol. 24, № 3/11. – P. 195–197.

Поступила в редакцию 03.05.2013. Принята в печать 17.06.2013
Адрес для корреспонденции: e-mail: chir@tut.by – Чиркин А.А.