

П. К. Телушкин, П. П. Потапов

ИНТЕНСИВНОСТЬ ГЛИКОЛИЗА И АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В МОЗГЕ КРЫС ПРИ МНОГОКРАТНОМ ВОЗДЕЙСТВИИ ГИПОГЛИКЕМИЧЕСКИХ ДОЗ ИНСУЛИНА

Кафедра биохимии (зав.—доц. Т. М. Лобова) Ярославского медицинского института

Возобновляющиеся состояния гипокликемии являются частым осложнением в терапии сахарного диабета, определяют клинику инсулиномами поджелудочной железы, наблюдаются при заболеваниях почек, печени, желудочно-кишечного тракта и алкоголизме, приводя к развитию пост-гипогликемической энцефалопатии [1, 3, 6, 7]. В то же время однократная, даже тяжелая, инсулиновая кома сопровождается обратимыми изменениями обмена в головном мозге [10, 12].

Поэтому патологические особенности метаболизма в нервной ткани, являющиеся результатом неоднократно перенесенной гипогликемии, в частности возможные нарушения энергетического обмена, требуют дальнейшего изучения.

В настоящей работе проведено исследование основных путей использования глюкозы — интенсивности гликолиза и гликогенолиза, активности дегидрогеназ цикла Кребса, аланин- и аспартатаминовотрансфераз (АЛТ и АСТ соответственно) в головном мозге крыс при многократной гипогликемии.

Материалы и методы

Опыты выполнены на белых беспородных крысах обоего пола массой 180—220 г. Все животные содержались на обычном рационе и перед опытом голодали в течение 18—24 ч. Воду получали без ограничения. Гипогликемическую кому (содержание глюкозы в крови менее 1 ммоль/л) вызывали внутримышечной инъекцией инсулина в дозе 40 ЕД на 1 кг массы, купирование проводили введением коматозным животным 3 мл 40% раствора глюкозы в желудок. Подопытные животные перенесли 5—7 гипогликемических ком с интервалом 2 дня. Исследовали ткани больших полушарий (БП) и ствола мозга (СТ) интактных животных (контроль) и крыс, декапитированных на 2-е сутки после 5—7-й гипогликемической комы. Интенсивность гликолиза и гликогенолиза определяли по скорости накопления лактата в инкубационной среде, используя в качестве субстратов глюкозу, глюкозо-6-фосфат и гликоген [5]. Суммарную фракцию митохондрий получали методом дифференциального центрифугирования [2]. Активность пируватдегидрогеназы (ПДГ; КФ 1.2.4.1), α -кетоглутаратдегидрогеназы (α -КГДГ; КФ 1.2.4.2), сукцинатдегидрогеназы (СДГ; КФ 1.3.99.1) определяли с дихлорфенолиндофенолом в присутствии феназинметасульфата [9]. Активность АСТ (КФ 2.6.1.1) и АЛТ (КФ 2.6.1.2) определяли колориметрически [4], используя в качестве источника ферментативного белка надосадок, полученный после центрифугирования 10% гомогената ткани мозга в 0,05 М трис-НСl, 0,154 М КСl, рН 7,4, при 20 000 г в течение 15 мин. Все процедуры, связанные с обработкой ткани и выделением митохондрий, производили при 0—4 °С. Содержание глюкозы в крови и гликогена в головном мозге исследовали колориметрически [4]. Белок определяли по Лоури. Результаты экспериментов обрабатывали статистически с применением *t*-критерия Стьюдента.

Результаты и их обсуждение

Содержание глюкозы в крови и уровень гликогена в отделах головного мозга крыс, перенесших 5—7 гипогликемических ком, не отличались от нормы (табл. 1). Глюкоза является главным энергетическим и пластическим субстратом в нервной

ткани. Основным путем утилизации глюкозы в мозге служит дихотомический распад [14]. Гликолитическая энергопродукция имеет важное значение в обеспечении специфических функций нейронов [13]. Скорость процессов гликолиза в изученных отделах мозга при использовании в качестве субстратов глюкозы и глюкозо-6-фосфата в восстановительном периоде после возобновляющейся гипогликемии не изменяется (см. табл. 1), обеспечение гликолиза исходным субстратом в данных экспериментальных условиях также оставалось стабильным. Вместе с тем обнаружено достоверное снижение (на 18%) интенсивности гликогенолиза в стволовых структурах мозга. Нарушение использования гликогена в нервной ткани является общим патохимическим проявлением многих состояний, сопровождающихся угнетением функций мозга [8]. При этом уменьшение интенсивности гликогенолиза может быть связано с увеличением окисления неуглеводных субстратов, в частности высших жирных кислот, количество которых в мозге значительно увеличивается при гипогликемии за счет распада структурных фосфолипидов клеток [14].

Нервная ткань отличается высоким содержанием и скоростью обмена глутаминовой и аспа-

Таблица 1

Содержание глюкозы в крови, гликогена в нервной ткани, интенсивность гликогенолиза и гликолиза в мозге крыс на 2-е сутки после купирования 5—7-й гипогликемической комы ($M \pm m$)

Показатель	Отдел мозга	Контроль	Опыт
Глюкоза крови, ммоль/л		$5,22 \pm 0,10$ <i>n</i> = 8	$5,39 \pm 0,14$ <i>n</i> = 7
Гликоген мозга, мг/г	БП	$1,32 \pm 0,08$ <i>n</i> = 5	$1,28 \pm 0,04$ <i>n</i> = 6
	СТ	$1,47 \pm 0,06$ <i>n</i> = 6	$1,56 \pm 0,05$ <i>n</i> = 6
Скорость образования лактата при использовании в качестве субстрата, ммоль лактата/мин на 1 мг белка: гликогена	БП	$17,5 \pm 1,0$ <i>n</i> = 13	$17,7 \pm 1,1$ <i>n</i> = 11
	СТ	$17,8 \pm 1,1$ <i>n</i> = 13	$14,6 \pm 0,9^*$ <i>n</i> = 10
глюкозы	БП	$45,4 \pm 1,3$ <i>n</i> = 7	$44,4 \pm 1,9$ <i>n</i> = 7
	СТ	$38,5 \pm 2,9$ <i>n</i> = 7	$39,6 \pm 2,4$ <i>n</i> = 7
глюкозо-6-фосфата	БП	$45,5 \pm 1,5$ <i>n</i> = 6	$48,1 \pm 2,9$ <i>n</i> = 4
	СТ	$59,9 \pm 2,1$ <i>n</i> = 6	$59,9 \pm 1,9$ <i>n</i> = 4

Примечание. Здесь и в табл. 2: *n* — число опытов в каждой серии; звездочкой обозначены статистически достоверные по сравнению с контролем изменения. *p* < 0,05.

Активность окислительных ферментов (в нмоль/мин на 1 мг белка) и аминотрансфераз (в нмоль/ч на 1 мг белка) в мозге крыс на 2-е сутки после купирования 5—7-й гипогликемической комы ($M \pm m$)

Показатель	Отдел мозга	Контроль	Опыт
ПДГ	БП	$7,4 \pm 1,1$ $n=5$	$8,4 \pm 0,7$ $n=5$
	СТ	$8,4 \pm 0,4$ $n=4$	$8,1 \pm 0,6$ $n=5$
α -КГДГ	БП	$53,9 \pm 2,4$ $n=5$	$51,9 \pm 2,4$ $n=5$
	СТ	$53,8 \pm 3,7$ $n=4$	$49,1 \pm 3,3$ $n=5$
СДГ	БП	$71,7 \pm 3,3$ $n=5$	$68,8 \pm 4,5$ $n=5$
	СТ	$73,3 \pm 4,9$ $n=4$	$69,4 \pm 4,2$ $n=5$
АЛТ	БП	$221,3 \pm 3,5$ $n=7$	$202,3 \pm 2,9^*$ $n=7$
	СТ	$156,3 \pm 5,1$ $n=7$	$138,3 \pm 7,1$ $n=7$
АСТ	БП	7490 ± 250 $n=13$	7160 ± 230 $n=10$
	СТ	9380 ± 220 $n=12$	$8350 \pm 290^*$ $n=11$

рагиновой кислот. Источником их углеродного скелета служит глюкоза [15]. Одним из основных этапов превращения этих аминокислот в мозге являются реакции трансаминирования. На 2-е сутки после 5—7-й гипогликемической комы выявлены статистически достоверное снижение (на 9%) уровня АЛТ в БП, тенденция к снижению активности АЛТ и уменьшение (на 11%) активности АСТ в СТ (табл. 2). В ранние сроки восстановительного периода после купирования единичной гипогликемической комы глюкозой также обнаружено снижение активности АЛТ и АСТ в нервной ткани [11]. Таким образом, многократное воздействие гипогликемии приводит к стабильному снижению активности аминотрансфераз в мозге. Активность ферментов цикла Кребса не изменялась в исследованных отделах мозга крыс, перенесших серию гипогликемических ком (см. табл. 2). В условиях систематически возникающего при гипогликемии дефицита основного субстрата энергообмена в нервной ткани — глюкозы — снижение активности аминотрансфераз может быть направлено на сохранение уровня интермедиатов цикла Кребса и привести к снижению использования α -кетоглутарата в синтезе глутамата и связанных с ним аминокислот. Нарушения в обмене глутаминовой и аспарагиновой кислот в свою очередь сопровождаются изменениями процессов передачи возбуждения в глутамат- и аспартатергических синапсах мозга [15].

Таким образом, многократная гипогликемия приводит к относительно стойкому снижению интенсивности гликогенолиза и активности трансаминаз в нервной ткани. Выявленные изменения сосредоточены в основном в СТ. Необходимо отметить, что расстройства функций стволовых структур вносят существенный вклад в симптоматику нейропатии, возникающей после гипогликемии [6]. Изменения обмена в нервной ткани, связанные с периодически возникающей гипогликемией и приводящие к уменьшению использования углеродного скелета глюкозы в синтезе нейромедиаторных аминокислот, могут явиться одной из причин развития нарушений функций мозга — постгипогликемической энцефалопатии.

Выводы

1. Процессы окисления глюкозы в БП мозга характеризуются высокой устойчивостью к многократной гипогликемией. Скорость гликолиза и активность окислительных ферментов цикла Кребса не изменяются после 5—7 гипогликемических ком.

2. Повторяющаяся тяжелая гипогликемия приводит к снижению гликогенолиза и активности АСТ в стволовых структурах мозга.

ЛИТЕРАТУРА

1. Генес С. Н. Гипогликемия. Гипогликемический симптомокомплекс. — М., 1970.
2. Глебов Р. Н., Дмитриева Н. М. // Биохимия. — 1975. — № 4. — С. 822—827.

3. Лукьянчиков В. С., Балаболкин М. И. Гипогликемический синдром: (Этиология, патогенез, диагностика, лечение). — М., 1987. — Вып. 1.
4. Методы биохимических исследований: Липидный и энергетический обмен / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л., 1982. — С. 246—250; С. 234—236; С. 238—240.
5. Панин Л. Е., Третьякова Т. А., Русских Г. С., Войцеховская Е. Э. // Вопр. мед. химии. — 1982. — № 2. — С. 26—30.
6. Плам Ф., Познер Дж. Б. Диагностика ступора и комы. — М., 1986. — С. 294—295.
7. Прихожан В. М. Поражения нервной системы при сахарном диабете. — М., 1981.
8. Промыслов М. Ш. Обмен веществ в мозге и его регуляция при черепно-мозговой травме. — М., 1984.
9. Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. — М., 1977. — С. 44—45.
10. Телушкин П. К., Филиппов С. П. // Вопр. мед. химии. — 1988. — № 3. — С. 94—96.
11. Филиппов С. П. // Там же. — 1980. — № 4. — С. 455—457.
12. Auer R. N. // Stroke. — 1986. — № 4. — P. 699—708.
13. Lipton P., Robaker K. // Fed. Proc. — 1983. — № 12. — P. 2875—2880.
14. Strosznajder J. // Neurochem. Res. — 1984. — № 4. — P. 465—476.
15. Tipton K. F., Clark J. B. // Biochem. Soc. Trans. — 1987. — № 2. — P. 205—308.

Поступила 13.01.94

P. K. Telushkin, P. P. Potapov. — GLYCOLYSIS INTENSITY AND ACTIVITIES OF ENERGY METABOLISM ENZYMES IN THE RAT BRAIN DURING REPEATED EXPOSURE TO HYPOGLYCEMIC DOSES OF INSULIN

Summary. Changes in the rates of glycolysis, glycogenolysis, activities of pyruvate dehydrogenase, α -ketoglutarate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, serum glutamic pyruvic and oxaloacetic transaminases in the brain hemispheres and stem of rats exposed to 5-7 hypoglycemic comas were studied. No noticeable changes were detected in glycolysis intensity or activities of Krebs' cycle enzymes in the large hemispheres. The intensity of glycogenolysis and activities of transaminases in the brain stem reduce on day 2 of repair period after the last hypoglycemic coma. The detected changes result from multiple exposures of the brain to hypoglycemia and may be important in the development of posthypoglycemic encephalopathy.