

Б. А. КАЗАРЯН

НЕКОТОРЫЕ СТОРОНЫ ДЕЙСТВИЯ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ НА УГЛЕВОДНЫЙ ОБМЕН

Многочисленные литературные данные относительно роли гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) свидетельствуют о разностороннем ее участии в обменных процессах организма, в частности центральной нервной системы. Впервые Робертс и сотр. [16, 17], Авапара и сотр. [3] показали наличие большого количества ГАМК в мозгу млекопитающих. Впоследствии исследования Юденфриенда [24] подтвердили этот факт.

По данным разных авторов [17, 3, 9, 2, 10, 4] содержание ГАМК в целом мозгу млекопитающих колеблется в пределах 17,6—65%. Особенно большого внимания заслужила ГАМК после ее выявления в составе так называемого фактора I [10, 4, 12], обнаруженного в мозгу и обладающего ингибирующим действием на нервную активность.

Доказано, что в центральной нервной системе ГАМК образуется в результате декарбоксилирования глутаминовой кислоты под действием соответствующего фермента-декарбоксилазы глутаминовой кислоты, наличие которой характерно только для центральной нервной системы. В других органах активность этого фермента незначительна [18, 19]. Бессман [6] и Робертс [20] в свежих гомогенатах мозга и печени млекопитающих обнаружили фермент, который обеспечивает процесс трансаминирования ГАМК с α -кетоглутаровой кислотой с образованием глутаминовой кислоты и семиальдегида янтарной кислоты. Последняя под действием соответствующей дегидрогеназы окисляется в янтарную кислоту [1], которая включается в цикл трикарбоновых кислот. Кофактором как декарбоксилазы глутаминовой, так и трансаминазы гамма-аминомасляной кислот является пиридоксал фосфат [21].

ГАМК в небольших количествах обнаружена и в других тканях организма. Так, например, по данным Таллана и сотр. [22] экстракт печени кошки содержит 1,0 мг%, ГАМК, экстракт икроножной мышцы 0,1 мг%, плазма крови 0,02—0,04 мг% и т. д.

Однократное введение больших доз ГАМК внутривенно или перорально почти не влияет на уровень ее содержания в периферических органах, тогда как при интраперитонеальном введении больших доз ГАМК крысам она обнаруживается в крови, почках, печени и мышцах. Максимальная концентрация ГАМК в этих органах и в крови обнаруживается на 20-й минуте. Активность фактора I и содержание ГАМК в мозгу при этом не испытывают заметных колебаний. Объясняется это тем, что ГАМК не проникает через гематоэнцефалический барьер [23]. Этими же авторами установлено, что при интраперитонеальном введении ГАМК

анестезированным животным высокий уровень ее держится значительно дольше, чем у неанестезированных.

Учитывая значение ГАМК в осуществлении тормозного процесса и ее гиперполяризующее действие на мембранные структуры нейронов и синапсов [13], Г. Х. Бунятян и сотр. проводят многосторонние исследования по изучению влияния ГАМК и родственных ей соединений на проницаемость различных тканей в отношении глюкозы и активность отдельных ферментативных систем [7, 8, 14]. В частности ими было обнаружено, что ГАМК в незначительных количествах ($1 \cdot 10^{-2}$ — $1 \cdot 10^{-1}$ мкмоль/мл) значительно ускоряет поглощение глюкозы различными тканями.

Нашей же целью было — изучить влияние ГАМК на уровень глюкозы в крови и выяснить некоторые стороны ее действия на углеводный обмен у интактных животных.

Результаты исследований

Опыты были поставлены на крысах-самцах весом в 200—220 г. Кровь для исследований бралась из наружной яремной вены. Содержание глюкозы в крови определялось по методу Хагедорна-Иенсена [5].

ГАМК вводился в количестве 0,0125—1 мг интраперитонеально и внутривенно с целью выяснения наиболее эффективного результата действия ГАМК в зависимости от пути ее введения в организм животного. В контрольных опытах взамен раствора ГАМК использовался физиологический раствор. Пробы крови брались в следующей последовательности; до введения ГАМК и после через 5, 10 и 20 мин. после ее введения. Животных кормили за 10—12 ч. до начала опытов.

Опыты показали, что ГАМК у этих животных взамен ожидаемой гипогликемии вызывает четко выраженную гипергликемию. На основании полученных данных можно судить, что эффект действия ГАМК на сдвиги уровня глюкозы в крови зависит не только от путей введения ГАМК в организм, но и от ее примененной дозы. Так, например, как видно из данных табл. 1, 0,5 мг ГАМК, введенных интраперитонеально, вызывают гипергликемию, которая особенно четко проявляется на 10 и 20 мин.

Внутривенное введение тех же доз ГАМК не приводит к заметным изменениям уровня глюкозы в крови (табл. 2). Такое расхождение в эффекте действия одинакового количества ГАМК (0,5 мг), введенного интраперитонеально и внутривенно, по всей вероятности, можно объяснить тем, что ГАМК при внутривенном введении быстро распределяется по тканям, где она подвергается процессу трансаминирования с последующим распадом по циклу трикарбоновых кислот, кроме того она быстро выделяется с мочой.

На основании предварительных исследований Г. Х. Бунятяна [7, 8] можно предположить, что гипергликемический эффект ГАМК возникает вследствие ее стимулирующего действия на процессы гликогенолиза в печени.

Таблица 1

Уровень глюкозы в крови в мг % после интраперитонеального введения ГАМК крысам

Показатели	До инъекции	После инъекции ГАМК		
		5 мин.	10 мин.	20 мин.
Контроль	$112 \pm 13,78$ (12)*	$114 \pm 14,9$	$117 \pm 17,2$	$114 \pm 18,7$
ГАМК 1,0 г	$111 \pm 1,7$ (13)	105 ± 0 $P=0,3$	$121 \pm 1,6$ $P < 0,01$	$121 \pm 13,23$ $P < 0,05$
ГАМК 0,5 мг	$105 \pm 13,9$ (19)	$122 \pm 11,43$ $P < 0,01$	$137 \pm 33,55$ $P < 0,01$	$139 \pm 19,32$ $P < 0,01$
„ 0,2 мг	$104 \pm 10,77$ (13)	$112 \pm 12,83$ $P=0,1$	$115 \pm 25,67$ $P > 0,1$ $< 0,2$	119 ± 34 $P > 0,1$ $< 0,2$
„ 0,1 мг	91 ± 12 (11)	$93 \pm 19,4$ $P < 0,5$	88 ± 17 $P < 0,6$	$83 \pm 13,5$ $P < 0,6$
„ 0,05 мг	$105 \pm 14,43$ (9)	$115 \pm 21,57$ $P > 0,02$ $< 0,05$	$118 \pm 1,7$ $P < 0,01$	$123 \pm 3,4$ $P < 0,01$
„ 0,025 мг	$105 \pm 12,86$ (22)	$112 \pm 20,1$ $P < 0,01$	$120 \pm 24,7$ $P < 0,01$	123 ± 0 $P < 0,01$
„ 0,0125 мг	$93 \pm 12,8$ (10)	$102 \pm 16,9$ $P=0,02$	$109 \pm 35,2$ $P > 0,01$ $< 0,02$	$113 \pm 30,9$ $P < 0,01$

* В скобках количество проведенных опытов.

Учитывая, что наиболее четко выраженный гипергликемический эффект проявляется под действием 0,5 мг ГАМК и только при ее интраперитонеальном введении, в последующем мы придерживались указанной дозы ГАМК и пути ее введения. Для выяснения причин гипергликемического эффекта в следующей серии наших исследований были использованы животные, голодавшие в течение 24 ч. У этих животных в результате голодания содержание гликогена в печени резко снижалось. Учитывая, что наибольшее повышение уровня глюкозы в крови наблюдалось через 20 мин. после введения ГАМК, последующие пробы крови брались только на 20 мин.

Как видно из приведенных данных (табл. 3), уровень глюкозы в крови под действием ГАМК не изменяется. Полученные данные говорят о том, что гипергликемия под действием ГАМК обуславливается усиленным распадом гликогена в печени. В связи с этим представляло интерес одновременное изучение количественного содержания гликогена в печени и поперечнополосатых мышц, в частности четырехглавой мышцы бедра. С этой целью крысы декапитировались через 20 мин. после введения ГАМК, гликоген печени и мышц определялся по методу Морриса [23].

Таблица 2

Уровень глюкозы в крови в мг % после внутривенного введения ГАМК крысам

Показатели	До инъекции	После инъекции ГАМК		
		5 мин.	10 мин.	20 мин.
ГАМК 0,5 мг	$109 \pm 14,56$ (12)	$121 \pm 26,7$ $P > 0,5$ $< 0,6$	$115 \pm 31,6$ $P = 0,2$	$131 \pm 39,3$ $P < 0,01$
• 0,2	$98 \pm 12,49$ (11)	$101 \pm 13,6$ $P > 0,1$ $< 0,2$	$100 \pm 20,07$ $P > 0,7$ $< 0,8$	$98 \pm 17,44$ $P < 0,9$
• 0,1 мг	$99 \pm 9,4$ (10)	$98 \pm 10,7$ $P = 0,8$	$96 \pm 17,38$ $P > 0,05$ $< 0,1$	$98 \pm 18,6$ $P = 0,7$
• 0,05 мг	$107 \pm 12,92$ (13)	$118 \pm 19,0$ $P > 0,2$ $< 0,3$	$125 \pm 31,94$ $P > 0,05$ $< 0,1$	$129 \pm 48,3$ $P > 0,1$ $< 0,2$
• 0,025 мг	$109 \pm 10,3$ (9)	$115 \pm 20,7$ $P > 0,3$ $< 0,4$	$121 \pm 19,84$ $P < 0,1$ $> 0,2$	$120 \pm 19,24$ $P = 0,01$
• 0,0125	$97 \pm 10,91$ (10)	$107 \pm 16,16$ $P > 0,2$ $< 0,3$	$107 \pm 27,67$ $P < 0,3$ $> 0,4$	$105 \pm 34,35$ $P > 0,5$ $< 0,6$

Таблица 3

Уровень глюкозы в крови в мг %
под действием интраперитонеального
введения ГАМК крысам после их
24 часового голодания

Показатели	До инъекции	20 мин.
• Контроль	$72 \pm 9,0$ (10)	$70 \pm 10,5$
ГАМК 0,5 мг	$86 \pm 20,1$ (10)	$89 \pm 14,3$

Приведенные данные показывают, что ГАМК вызывает почти полное опустошение гликогена в печени животных после 10—12 часового голодания. Содержание гликогена понижается примерно в 26 раз и в среднем доходит до 70 мг %, за счет чего и у этих животных резко повышается уровень глюкозы в крови: у животных же после 24 часового голодания, вследствие еще большего истощения запасов гликогена в печени (табл. 5), введение ГАМК не сопровождается гипергликемией, несмотря на то, что под действием ГАМК у них также отмечается некоторое понижение количества гликогена от исходного уровня в печени. Как видно из табл. 4 и 5, некоторое уменьшение количества гликогена наблюдается и в мышцах, что, на наш взгляд, можно объяснить действием ГАМК на внутриклеточную трофику мышечных клеток.

Т а б л и ц а 4
Содержание гликогена в мг % под действием интроперитонеального введения ГАМК у крыс после 10—12 часов голодания

Показатели	Печень	Мышца
Контроль	2000 ± 90,0 (10)	250 ± 25,0
ГАМК 0,5 мг	70 ± 30,0 P < 0,01	147 ± 44,5 P < 0,01

Т а б л и ц а 5
Содержание гликогена в мг % под действием интраперитонеального введения ГАМК у крыс после 24 часов голодания

Показатели	Печень	Мышца
Контроль	68 ± 18,5 (16)	220 ± 50,0
ГАМК 0,5 мг	35 ± 10,81 P < 0,01	80 ± 20,0 P < 0,01

В последующей серии опытов мы стремились выяснить роль центральной нервной системы в механизме гипергликемического действия ГАМК. Одной группе (контрольные животные) интраперитонеально вводился нембутал из расчета 3 мг/100 г. живого веса. У животных определялся уровень глюкозы в крови до наркоза, сразу же после наступления наркотического сна и через 5, 10 и 20 мин. после засыпания. Вторая группа животных исследовалась на фоне нембуталового наркоза вслед за взятием пробы крови; с наступлением глубокого сна, животным вводился интраперитонеально 0,5 мг ГАМК, после чего кровь бралась в той же последовательности.

Т а б л и ц а 6
Уровень глюкозы в крови в мг % у анестезированных крыс

До наркоза	Н а р к о з			
	0 мин.	5 мин.	10 мин.	20 мин.
95 ± 10,7 (10)	96 ± 6,2	97 ± 5,0 P > 0,5 P < 0,6	84 ± 10,2 P > 0,01 P < 0,02	87 ± 8,6 P = 0,02
92 ± 11,0	84 ± 8,1	83 ± 6,8 P > 0,6 P < 0,7	79 ± 5,0 P = 0,02	86 ± 9,2 P > 0,5 P < 0,6

Результаты проведенных исследований показали, что у животных, находящихся под нембуталовым наркозом, ГАМК не вызывает гипергликемии (табл. 6). Следовательно, можно заключить, что центральная нервная система играет важную роль в реализации периферического действия ГАМК. При блокировании ее активности затормаживаются те механизмы, через которые осуществляется действие ГАМК на углеводный обмен. Можно предположить, что нейрогуморальная система в этих процессах играет первостепенную роль.

Дальнейшие исследования показали, что у этих животных гликоген печени, а также мышц не подвергается заметным изменениям (табл. 7).

Параллельно с изучением количественных изменений гликогена в наших исследованиях определялась также фосфоролитическая актив-

ность в печени и мышцах. Результаты этих опытов показали полное совпадение изменения фосфоролитической активности с количественными колебаниями гликогена в печени и мышцах белых крыс под действием ГАМК.

Т а б л и ц а 7
Содержание гликогена в мг % под
действием интроперитонеального вве-
дения ГАМК у анестезированных
крыс

Показатели	Печень	Мышца
Контроль	1870 ± 82 (14)	$210 \pm 10,0$
ГАМК 0,5 мл	1700 ± 80 $P=0,6$ (14)	$200 \pm 30,0$ $P<0,9$

Обсуждение результатов

Полученный нами фактический материал, а также результаты исследований Г. Х. Бунятына и сотр. показывают, что у интактных животных гипергликемический эффект ГАМК обусловлен активированием процессов гликогенолиза в печени. Наряду с этим, ряд исследований показал, что ГАМК в определенных концентрациях повышает проницаемость клеточных мембран в отношении глюкозы [8, 11, 14]. Гипергликемический и гликогенолитический эффект проявляется наиболее интенсивно при интраперитонеальном введении ГАМК в количестве 0,25 мг на 100 г. живого веса животного: при этом максимальное повышение уровня глюкозы в крови наблюдается на 20 мин. При внутривенном введении того же количества ГАМК подобных результатов не наблюдается. Это, на наш взгляд, можно объяснить тем, что ГАМК быстро распределяется по органам, подвергается дальнейшему распаду под действием соответствующих ферментов. Источником гипергликемии служит печеночный гликоген.

В мышечной ткани, как показали наши исследования, под действием ГАМК также активируется гликогенолитический процесс, но в несравненно меньшей степени, чем в печени.

Опыты, проведенные на крысах после 24 часового голодания, окончательно подтвердили эти предположения. ГАМК, введенная на этом фоне, гипергликемического эффекта не вызывает. В наших исследованиях было показано, что при этом мышечный гликоген также истощается, но не до такой степени, как в печени.

Как показали результаты исследований, у животных, находящихся под нембуталовым наркозом, ГАМК не вызывает гликогенолиза, следовательно и гипергликемия отсутствует. Полученные данные свидетельствуют о том, что гипергликемический эффект ГАМК осуществляется через нейрогуморальную систему и при активном участии надпочечни-

ков, так как проведенные нами исследования показали, что у адренал-эктомизированных животных ГАМК не вызывает гипергликемии. В литературе имеются указания, говорящие о непроницаемости ГАМК через гематоэнцефалический барьер. Вопрос о том, каковы пути воздействия ГАМК на центральную нервную систему при интраперитонеальном ее введении, остается открытым и является задачей дальнейших наших исследований.

В ы в о д ы

1. При интраперитонеальном введении ГАМК оказывает гликогенолитическое и гипергликемическое действие у интактных крыс.
2. Внутривенное введение ГАМК не вызывает гликогенолиза и следовательно гипергликемии.
3. Гипергликемический эффект ГАМК в основном обусловлен гликогенолизом в печени. Некоторое уменьшение запасов гликогена под действием ГАМК наблюдается в мышечной ткани.
4. Гликогенолитический и гипергликемический эффекты ГАМК осуществляются через центральную нервную систему.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 1.VII 1962 г.

Р. А. ՂԱԶԱՐՅԱՆ

ԳԱՄԿ-ԱՄԻՆՈԿԱՐԱԳԱԹԹՎԻ ԱԶԻՅՈՒԹՅՈՒՆՆ ԱԾԽԱԶՐԱՏԱՅԻՆ
ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇ ԿՈՂՄԵՐԻ ՎՐԱ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հետազոտություններից պարզվել է, որ գամմա-ամինոկարագաթթուն որոշակի դեր ունի ածխաջրատալի փոխանակության մեջ:

Հ. Խ. Բունյաթյանի և նրա աշխատակիցների երկարամյա հետազոտությունները ցույց են տվել, որ այդ ամինոթթուն նպաստում է գլյուկոզայի կլանմանը որոշ հյուսվածքների կողմից:

Մեր փորձերից, որոնք դրվել են սպիտակ մեծամկների վրա, պարզվել է, որ գամմա-ամինոկարագաթթվի ներորոգվանային ներարկումը նրանց մոտ թողնում է հիպերգլիկեմիկ ազդեցություն, որը չի նկատվում նրա ներերակային ներարկման դեպքում: Գամմա-ամինոկարագաթթուն նպաստում է լյարդի և մասամբ մկանների գլիկոգենոլիզին:

Ստացված տվյալները վկայում են այն մասին, որ այդ ամինոթթվի գլիկոգենոլիտիկ և հիպերգլիկեմիկ ազդեցությունը պայմանավորված է ներորոգումորալ մեխանիզմով:

Պարզվել է, որ նեմբուտալային նարկոզի, ինչպես նաև մակերիկամների հեռացման դեպքում գամմա-ամինոկարագաթթվի վերոհիշյալ ազդեցությունն ածխաջրատների փոխանակության վրա բացակայում է:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Albers B. W. and Salvador R. Science, 128, 359, 1958.
2. Ansell G. B. and Richter D., Biochem. J., 57, 70, 1954.
3. Awapara J., Landua A. J., Fuert R. and Seale S., J. Biol. Chem., 187, 35, 1950.
4. Bazemore A., Elliott K. A. C. and Florey E., J. Neurochem., 1, 334, 1957.
5. Балаховский С. Д., Балаховский И. С., Методы хим. анализа крови, Медгиз, 419, 1953.
6. Bessman S. P., Rossen J. and Layne E. C., J. Biol. Chem., 201, 385, 1953.
7. Бунятян Г. Х., ДАН СССР, 132, 1431, 1960.
8. Бунятян Г. Х., Вопросы биохимии, Изд. АН АрмССР, 1, 197, 1960.
9. Cravioto R. O., Massieu G. and Izquierdo J. J., Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 78, 856, 1956.
10. Edwards C. and Kuffler S. W., Fed. Proc., 16, 34, 1957.
11. Галоян А. А., Манасян Р. Ф., Срапионян Р. М., Вопросы биохимии, Изд. АН АрмССР, 2, 109, 1961.
12. Hayashi T. and Nagai K., Abstr. Commun. XX Intern. Physiol. Congress, Brussels, 410, 1956.
13. Kuffler S. W. and Edwards C., J. Neurophysiol., 21, 586, 1958.
14. Мовсесян С. Г., Вопросы биохимии, Изд. АН АрмССР, 2, 87, 1961.
15. Morris D. S., Science, 107, 254, 1948.
16. Roberts E., Frankel S. and Harman P., Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med., 74, 383, 1950.
17. Roberts E. and Frankel S., J. Biol. Chem., 187, 55, 1950.
18. Roberts E. and Frankel S. J., J., Biol. Chem., 188, 789, 1951.
19. Roberts E. and Frankel S. J., J. Biol. Chem., 190, 505, 1951.
20. Roberts E. and Bregoff H. M., J. Biol. Chem., 201, 393, 1953.
21. Roberts E. and Baxter C. F., Neurology 8. Suppl., 1, 77, 1958.
22. Tallan N., Moore S. and Stein W. H., J. Biol. Chem., 211, 927, 1954.
23. Van Gelder N. M. and Elliott K. A. C., J. Neurochem., 3, 139, 1958.
24. Udenfriend S., J. Biol. Chem., 187, 65, 1950.