

Б. А. КАЗАРЯН

О МЕХАНИЗМЕ ГИПЕРГЛИКЕМИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ

Гамма-аминомасляная кислота (ГАМК) образуется в значительных количествах в центральной нервной системе в результате декарбоксилирования глутаминовой кислоты [1, 2]. Распад ГАМК протекает через трансаминирование с α -кетоглутаровой кислотой, вследствие чего переходит в полуальдегид янтарной кислоты, а затем под действием соответствующей дегидрогеназы восстанавливается в янтарную кислоту и включается в цикл трикарбоновых кислот [3, 4].

ГАМК широко распространена в живых организмах. Ее наличие обнаружено почти у всех представителей различных классов животного мира, за исключением вирусов и рикетсий [5]. Сравнительно высокая активность декарбоксилазы глутаминовой кислоты была обнаружена в препаратах кишечной палочки [6]. По данным Таллана и сотр. [7] в различных тканях кошки содержится до 10 мкг/гр ГАМК, в крови ее количество доходит до 20—40 мкг%. Вероятно, наличие ГАМК в периферических органах и тканевых жидкостях отчасти обусловлено постоянным поступлением ГАМК из кишечника.

ГАМК имеет тормозящий эффект на центральную нервную систему и входит в состав так называемого «фактора I», выделенного из мозга [8]. Однако имеются и противоречивые данные об идентичности физиологического действия ГАМК и «фактора I» [9].

Большинство авторов считает, что ГАМК играет роль регулятора активности в центральной нервной системе. Ряд исследований показывает, что ингибирующее действие ГАМК на синаптическую передачу сопровождается повышением проницаемости мембран в отношении ионов хлора и калия [10].

Опыты, проведенные в лаборатории Г. Х. Бунятына, показали, что ГАМК обладает инсулиноподобным действием в отношении транспорта глюкозы в мышечную, жировую и хрящевую ткани [11, 12]. Результаты этих исследований приводят к заключению о том, что малые дозы ГАМК ускоряют транспорт глюкозы из среды в указанные ткани, тогда как большие дозы тормозят этот процесс. Введенная в сонную артерию собак ГАМК уменьшает или подавляет поглощение глюкозы мозгом в зависимости от ее дозы [13].

Изучая действие ГАМК на уровень глюкозы в крови—на интактных крысах мы установили, что ГАМК, введенная интраперитонеально (0,25 мг/100 г живого веса), обладает гликогенолитическим и гипергликемическим действием. ГАМК проявляет гликогенолитическое действие и

в поперечнополосатых мышцах, хотя в менее выраженной степени, чем в печени.

Однако, как показали наши наблюдения, при нембуталовом наркозе гипергликемический эффект ГАМК отсутствует [14]. Следовательно, надо полагать, что в осуществлении гипергликемического эффекта ГАМК важную роль играет нейрогуморальная система.

Исходя из этого, мы задались целью выяснить роль надпочечных желез в механизме гипергликемического и гликогенолитического действия ГАМК.

Результаты исследований. Опыты были поставлены на крысах-самцах весом 200—220 г. Пробы крови на глюкозу брались из наружной яремной вены без вскрытия кожных покровов. Глюкоза крови определялась по методу Хагедорна-Иенсена [15], гликоген печени и четырехглавой мышцы бедра—антроновым методом по Моррису [16], фосфоролитическую активность в печени и мышце — по описанному методу Фердмана-Сопина [17]. Определялся также пируват в крови и в мышцах по методу Фридмена и Хоуджена [18].

Под нембуталовым наркозом (3 мг/100 г живого веса) оба надпочечника удалялись одномоментно. Проба крови на глюкозу бралась в следующей последовательности: до наркоза, после удаления надпочечников, когда животные выходили из наркотического состояния (этот промежуток длится примерно 40—50 мин.), вслед за тем вводился интраперитонеально 0,5 мг ГАМК и последующие пробы брались через 5, 10 и 20 мин. после ее введения. У контрольной группы животных также удалялись надпочечники и брались пробы крови в такой же последовательности, с той лишь разницей, что им не вводилась ГАМК. Вслед за взятием последней пробы крови животные сразу декапитировались и определялось количество гликогена в печени и в четырехглавой мышце бедра.

Таблица 1

Действие ГАМК на уровень глюкозы в крови и содержание гликогена печени и мышц (в мг⁰/о) у адреналэктомированных крыс

Показатели	Г л ю к о з а					Г л и к о г е н	
	до адреналэктомии	после адреналэктомии	5 мин.	10 мин.	20 мин.	печень	мышца
Контроль	105 ± 10,6 (9)	63 ± 14,0	59 ± 12,8 P=0,5	59 ± 10,6 P=0,5	54 ± 6,5 P > 0,05 P < 0,1	2400 ± 110	180 ± 70,0
После введения ГАМК							
0,5 мг ГАМК	103 ± 10,7 (15)	60,4 ± 8,0	57 ± 8,0 P > 0,2 P < 0,3	56 ± 5,0 P > 0,1 P < 0,2	52 ± 7,6 P=0,01	2500 ± 700 P=0,8	300 ± 10 P < 0,01

* В скобках указано количество опытов.

Полученные данные свидетельствуют о том (табл. 1), что у контрольных животных после адреналэктомии уровень глюкозы в крови постепенно падает. Гликоген печени и мышц не подвергается количественным изменениям, его уровень остается в пределах нормы. У животных, которым была введена ГАМК, уровень глюкозы также постепенно падал.

Особый интерес вызывает то, что независимо от введения ГАМК уровень гликогена в мышцах по сравнению с контрольными опытами увеличивается. Таким образом, при адреналэктомии ГАМК не вызывает гликогенолитического действия в печени и в мышцах, с другой стороны, проявляется ее влияние на проницаемость глюкозы в мышечную ткань.

Для детального выяснения этого вопроса нами проведена серия опытов с нагрузкой глюкозы. У группы адреналэктомированных животных соблюдались те же условия, что в предыдущей серии лишь с той разницей, что вводился интраперитонеально 1 г глюкозы, а затем ГАМК. Контрольной группе животных вводилась только глюкоза.

Таблица 2

Действие ГАМК на уровень глюкозы в крови и содержание гликогена в печени и мышцах (в мг %) у адреналэктомированных крыс после нагрузки глюкозой (1,0 г)

Показатели	Г л ю к о з а					Г л и к о г е н	
	до адреналэктомии	после адреналэктомии	5 мин.	10 мин.	20 мин.	печень	мышца
Контроль	104 ± 10,0 (8)	65 ± 5,6	136 ± 42 P < 0,01	201 ± 22,3 P < 0,01	329 ± 49,0 P < 0,01	1000 ± 50 50	300 ± 10 10
После введения ГАМК + глюкоза 1 г							
0,5 мг ГАМК	101 ± 12,2 (10)	61 ± 7,0	99 ± 5,7 P < 0,01	149 ± 15,0 P < 0,01	129 ± 15 P < 0,01	800 ± 35 P = 0,3	190 ± 5,0 P = 0,3

Результаты опытов (табл. 2) показали, что уровень глюкозы в крови у этих животных после нагрузки глюкозой резко повышается. Если в контрольных опытах после адреналэктомии уровень глюкозы в среднем равен 65,5 мг %, а на 20-й мин. доходит до 329 мг %, то у животных, которым параллельно была введена ГАМК, такого увеличения уровня глюкозы в крови не наблюдается. После адреналэктомии исходный уровень глюкозы у них составляет 61 мг %, а на 20-й мин. он доходит лишь до 129 мг %. Эти данные показывают, что ГАМК способствует утилизации глюкозы тканями. Содержание гликогена в печени и мышцах остается в пределах нормы.

Как известно, ГАМК быстро подвергается распаду в периферических органах под влиянием имеющихся ферментативных систем, превращаясь при этом в ряд промежуточных продуктов. Исходя из этого, возникает вопрос: является ли гликогенолитический и гипергликемический эффект ГАМК результатом ее прямого действия или продуктов ее распада?

Для разрешения этого вопроса необходимо было ингибировать фер-

мент, которым обуславливается процесс трансаминирования ГАМК с α -кетоглутаровой кислотой. В этом отношении хорошими ингибиторами являются гидроксилламин [19] и аминоксиуксусная кислота [20]. По данным Робертса и сотр. [19] при введении гидроксилламина или аминоксиуксусной кислоты количество ГАМК в мозгу животных увеличивается в 4—5 раза, и это действие продолжается в течение 5—6 ч.

В качестве ингибитора нами использован гидроксилламин из расчета 10 мг/100 г живого веса при pH — 7,2 и, чтобы избежать токсического действия метгемоглобина, образующегося при введении гидроксилламина, вводился раствор метиленовой сини из расчета 10 мг/100 г живого веса.

Таблица 3

Действие ГАМК на уровень глюкозы в крови и содержание гликогена в печени и мышцах мг $\%$ после введения гидроксилламина

Показатели	До введения	Г л ю к о з а			Г л и к о г е н	
		5 мин.	10 мин.	20 мин.	печень	мышца
Контроль	$107 \pm 5,1$ (12)	$138 \pm 9,0$ $P < 0,01$	142 ± 8 $P < 0,01$	139 ± 9 $P < 0,01$	$98 \pm 10,5$	$52 \pm 35,6$
Гидроксилламин + 0,5 мг ГАМК						
0,5 мг ГАМК	$108 \pm 7,0$	138 ± 10 $P < 0,05$	157 ± 8 $P < 0,01$	182 ± 11 $P < 0,01$	$80 \pm 9,2$ $P = 0,05$	$94 \pm 13,8$ $P < 0,01$

Полученные результаты показали (табл. 3), что одно лишь введение гидроксилламина вызывает заметно выраженную гипергликемию. ГАМК, введенная на этом фоне, еще больше повышает уровень глюкозы в крови. Гликоген печени и мышц уменьшается. Следовательно, гипергликемический эффект ГАМК обусловлен прямым действием ГАМК, а не продуктов ее превращений; осуществление этого процесса происходит через нейрогуморальную систему и, в частности, через надпочечники.

Весьма большой интерес представляет также вопрос о том, какова продолжительность гипергликемического и гликогенолитического действия ГАМК.

Результаты этих наблюдений показали (табл. 4), что гипергликемический эффект ГАМК нарастает в течение 25—30 мин, после чего уровень глюкозы в крови постепенно снижается и примерно на 50 мин. возвращается к исходному. Однако количество гликогена к этому времени не достигает своего первоначального уровня. Вследствие гликогенолиза в печени продуцировавшаяся в кровотоке глюкоза подвергается утилизации со стороны других тканей.

Во всех проведенных опытах одновременно изучалась фосфорилитическая активность печени и мышц. Результаты этих исследований показали полное совпадение уровня фосфорилитической активности, связанное с количественными сдвигами гликогена в этих тканях.

Таблица 4

Продолжительность действия ГАМК на уровень глюкозы в крови и содержание гликогена в печени и в мышцах (в мг %) у крыс

Показатели	Г л ю к о з а						Г л и к о г е н	
	до введения	15 мин.	25 мин.	30 мин.	40 мин.	50 мин.	печень	мышца
Контроль	108 ± 8,3 (7)	100 ± 8,0 P=0,4	99 ± 8,0 P=0,2	106 ± 11 P=0,5	109 ± 6 P=0,4	103 ± 4 P=0,4	1820 ± 114	170 ± 60
0,5 мг ГАМК	95 ± 1,4 (12)	114 ± 20 P=0,02	121 ± 9,0 P > 0,02 P < 0,01	122 ± 21 P < 0,01	99 ± 14 P > 0,2 P < 0,3	100 ± 21 P < 0,1	500 ± 42 500 ± 42 P < 0,01	100 ± 37 P=0,3

Результаты предыдущих опытов показали, что ГАМК, с одной стороны, способствует поглощению глюкозы мышечной тканью, с другой, — усиливает дальнейшую утилизацию глюкозы непосредственно самой мышечной тканью, по всей вероятности, и другими тканями. Для подтверждения полученных данных дополнительно определялось и количество пирувата как одного из основных продуктов распада глюкозы. Наряду с этим мы наблюдали за уровнем пирувата в венозной крови, взятой из наружной яремной вены, в которую, как известно, поступает также кровь из мозга.

В проведенной нами серии опытов проба крови бралась до введения ГАМК и на 20-й мин. после ее введения. Пируват мышц определялся в экстракте четырехглавой мышцы бедра крыс, которых декаптировали через 20 мин. после введения ГАМК. Контрольной группе животных вводился только физиологический раствор, соответствующий объему введенной ГАМК (0,5 мл).

Таблица 5

Действие ГАМК на уровень пирувата в крови и мышцах в мг %

Показатели	П и р у в а т		
	К р о в ь		Мышцы
	до введения	20 мин.	
Контроль	5,5 ± 0,9 (9)	5,1 ± 0,72 P > 0,5 P < 0,6	7,5 ± 1,14 (12)
0,5 мг ГАМК	5,2 ± 1,0 (9)	3,5 ± 0,65 P < 0,01	12,6 ± 1,3 P < 0,01 (12)

Как показывают данные, приведенные в табл. 5, уровень пирувата в крови выше норм, приведенных в литературе (2,5—3 мг%). На наш взгляд это объясняется тем, что перед взятием пробы крови крысы приходили в возбужденное состояние при их иммобилизации на операционном столике, а количество пирувата, как известно, очень сильно варьирует в крови, в зависимости от состояния животного. Что касается неполноценности пищи, то это исключается, так как животные получали пищу, богатую витаминами.

Данные опытов показывают, что под действием ГАМК количество пирувата в крови значительно уменьшается. В мышцах же, наоборот, пируват увеличивается, что объясняется, по-видимому, усиленным гликолизом под действием ГАМК.

Обсуждение результатов

Результаты проведенных исследований приводят к выводу, что гипергликемическое и гликогенолитическое действие ГАМК интимно связано с функцией надпочечников, и главным образом их мозгового вещества. Опыты показали, что ГАМК, введенная интраперитонеально животным с удаленными надпочечниками, не приводит к сдвигам уровня глюкозы в крови, а также не изменяет количества гликогена в печени и мышцах.

Исследованиями Г. Х. Бунятына и сотр. [12] было доказано, что интраперитонеально введенная ГАМК увеличивает количество катехоламинов, продуцированных мозговым веществом надпочечников в общий кровоток. Исследования Н. А. Есаян в лаборатории Бунятына показали, что под действием ГАМК происходит значительное увеличение адреналина в надпочечных железах.

В отдельных работах [21, 22] указывается, что ГАМК стимулирует функцию надпочечников, усиливает экскрецию 17-гидрооксикортикостероидов в моче и вызывает значительное падение содержания аскорбиновой кислоты в них вплоть до опустошения, что объясняется повышенным выделением АКТГ из гипофиза. При удалении гипофиза этот эффект не наблюдается. Наряду с этим выяснено, что корковая и мозговая части надпочечных желез тесно связаны между собой. Мозговая часть регулирует деятельность корковой части через аденогипофиз [23]. В многочисленных работах Кори [24] отмечается, что адреналовая гипергликемия является результатом гликогенолиза в печени. Ферментом, которому приписывается основная роль в этих превращениях, является фосфоорилаза.

Нашими предыдущими исследованиями было показано [14], что гликогенолитическое и гипергликемическое действие ГАМК осуществляется через центральную нервную систему. Из приведенного в данной работе экспериментального материала можно полагать, что периферическим звеном этого механизма являются надпочечные железы.

Полученные нами результаты еще раз подтверждают, что ГАМК способствует поглощению глюкозы со стороны некоторых тканей и, в частности, мышечной тканью. У адреналэктомированных животных ГАМК

способствует накоплению гликогена в мышечной ткани; кроме того, как показали опыты, при нагрузке адреналэктомированных животных глюкозой и последующем интраперитонеальном введении ГАМК, уровень глюкозы в крови значительно уменьшается, что является следствием повышенной утилизации глюкозы под действием ГАМК.

Результаты проведенных нами исследований с гидроксиламином, являющимся ингибитором процесса трансаминирования ГАМК с α -кетоглутаровой кислотой, свидетельствуют о том, что гипергликемический эффект ГАМК и усиленный гликогенолиз в печени под ее действием обуславливаются не продуктами ее распада, а подтверждением непосредственного действия ГАМК, на периферический механизм углеводного обмена.

Исследования, проведенные в лаборатории Г. Х. Бунятяна [12], показали, что ГАМК имеет трофическую функцию в центральной нервной системе. Так, срезы коры головного мозга крыс при инкубировании с ГАМК повышали распад пирувата, что объясняется стимуляцией цикла трикарбоновых кислот. ГАМК в отсутствии глюкозы ускоряет распад глютаминовой кислоты и глутамина в мозговых срезах, при добавке глюкозы усиливает ее действие на аккумуляцию глютаминовой кислоты, на образование глутамина и нейтрализацию аммиака. Полученные нами результаты показали, что содержание пирувата в крови, взятой из наружной яремной вены, значительно уменьшается. Эти данные также свидетельствуют о том, что ГАМК стимулирует цикл трикарбоновых кислот в мозгу, хотя до сих пор неизвестны пути, по которым ГАМК проникает через гематоэнцефалический барьер. Более наглядно проявляется трофическая функция ГАМК в мышечной ткани, в которой значительно увеличивается количество пирувата на 20-й мин. после введения ГАМК. Механизм этого действия осуществляется в результате гликогенолиза в мышцах, где немаловажную роль играет продуцирование адреналина из надпочечных желез.

Следовательно, можно заключить, что, с одной стороны, ГАМК стимулирует гликогенолиз в печени, вследствие чего проявляется ее гипергликемическое действие, а с другой,— способствует поглощению глюкозы непосредственно в мышечной ткани. Этот механизм осуществляется через нейрогуморальную систему.

Следует отметить, что гипергликемический эффект ГАМК, наблюдаемый нами, подтвердился исследованиями Катане [25], в опытах которого отмечалась более выраженная гипергликемия после одновременного введения ГАМК и адреналина. Гипергликемический эффект ГАМК понижался, когда у животных с помощью фенобарбитала вызывали паралич нервных центров или введением бензилимидазола угнетали деятельность симпатической нервной системы. Согласно данным Катане, после удаления надпочечников ГАМК продолжает проявлять гипергликемический эффект, что по его мнению обуславливается воздействием ГАМК на мозговые центры симпатической нервной системы и ее непосредственным действием на клетки печени. В этом отношении полученные нами результаты не соответствуют данным, полученным Катане.

Благодаря своему гипергликемическому действию ГАМК применяется в клинической практике [26]. Введение ГАМК больным в состоянии инсулиновой комы вызывает повышение уровня глюкозы. Лучший эффект наблюдается при ведении параллельно с ГАМК глюкозы и АТФ.

В ы в о д ы

1. Гипергликемическое и гликогенолитическое действие ГАМК осуществляется нейрогуморальным путем, одним из основных звеньев которого являются надпочечные железы.

2. При двухсторонней адреналэктомии животных ГАМК не проявляет гипергликемического и гликогенолитического действия.

3. При нагрузке глюкозой у адреналэктомизированных крыс ГАМК способствует утилизации глюкозы со стороны тканей, при этом увеличивается количество гликогена в мышечной ткани.

4. Гипергликемическое и гликогенолитическое действие ГАМК обуславливается самой ГАМК, а не продуктами ее распада, что подтверждается опытами, проведенными с гидроксиламином, являющимся ингибитором процесса трансаминирования ГАМК, с α -кетоглутаровой кислотой.

5. Гипергликемический эффект ГАМК продолжается до 25—30 мин. На 50 мин. уровень глюкозы в крови возвращается к норме.

6. ГАМК, введенная интраперитонеально, понижает содержание пирувата в крови, взятой из яремной вены, и усиливает гликогенолиз в поперечнополосатых мышцах, вследствие чего увеличивается количество пирувата в мышечной ткани.

Полученные нами результаты свидетельствуют, что эти эффекты ГАМК осуществляются через адреналовую систему.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 31. X. 1962 г.

Բ. Ա. ԴԱԶԱՐՅԱՆ

ԳԱՄԿԱ-ԱՄԻՆՈԿԱՐԱԳԱԹԹՎԻ ՀԻՊԵՐԳԼԻԿԵՄԻԱԿ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ
ՄԵԽԱՆԻԶՄԻ ՄԱՍԻՆ

Ա. մ. փ ո փ ու մ

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ դամմա-ամինոկարապթթվի հիպերգլիկեմիկ ազդեցությունն իրագործվում է նեյրոհումորալ ճանապարհով, որտեղ նշանակալից է մակերիկամների դերը: Վերջիններիս հետացման դեպքում դամմա-ամինոկարապթթվի հիպերգլիկեմիկ և դիկոդենոլիտիկ ազդեցությունը լյարդում և մկաններում բացակայում է:

Ցույց է տրված, որ այս պրոցեսները տեղի են ունենում այդ ամինոթթվի անմիջական և ոչ թե նրա բայրայման արդասիրների ազդեցության ներքո:

Այսպիսով, մի կողմից գամմա-ամինոկարագաթթուն խթանում է գլիկո-դենոլիտիկ պրոցեսները լյարդում, իսկ մյուս կողմից նպաստում գլյուկոզայի յուրացմանը այլ հյուսվածքների և հատկապես մկանների կողմից:

Այդ ամինոթթվի ներորուլայնային ներարկումը առաջացնում է պիրոլիս-դոզաթթվի քանակի նվազում արտաքին քներակի տրյան մեջ, որը հաստատում է նրա ազդեցությունը եռկարբոնաթթվային ցիկլի արագացման պրոցեսներում: Մյուս կողմից՝ նա ավելացնում է պիրոլիսդոզաթթվի քանակը մկանային հյուսվածքում, որը մի անգամ ևս հաստատում է գամմա-ամինոկարագաթթվի տրոֆիկ ազդեցությունը, հատկապես սծխաջրատների փոխանակության մեջ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Roberts E. and Frankel S., J. Biol. Chem., 187, 55, 1950.
2. Roberts E., Frankel S. and Harman P., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 74, 383, 1950.
3. Albers R. W. and Salvador R., Science, 128, 358, 1958.
4. Bessman S. P., Rossen J. and Layne E. C., J. Biol. Chem., 201, 385, 1953.
5. Roberts E. and Eidelberg E., Internat. Rev. Neurobiol., 2, 279, 1960.
6. Roberts E., Ayenger P. and Posner I., Fed. Proc., 12, 259, 1953.
7. Tallen H. H., Moore S. and Stein W. H., J. Biol. Chem., 211, 927, 1954.
8. Bazemore A. W., Elliott K. A. C. and Florey E., Nature, 178, 1052, 1956.
9. Florey E. and McLennan H., J. Physiol., 145, 66, 1959.
10. Edwards C. and Kuffler S. W., Fed. Proc., 18, 448, 1959.
11. Бунятян Г. X., ДАН СССР 132, 1431, 1960.
12. Buniatian H. Ch. Studies of the role of Gamma-aminobutyric acid in carbohydrate metabolism, Erevan, 1961.
13. Егян В. Б. Вопросы биохимии, изд. АН АрмССР, 2, 29, 1961.
14. Казарян Б. А. Известия АН АрмССР (серия биол. науки), XV, 11, 1962.
15. Петрунькин М. Л. и Петрунькина А. М. Практи. биохимия, Медгиз, 181, 1951.
16. Morris D. S., Science, 107, 254, 1948.
17. Фердман Д. Л. и Сопин Е. Ф. Практикум по биол. химии, изд. Сов. наука, 184, 1957.
18. Friedemann T. E. and Haugen G. E., J. Biol. chem., 147, 415, 1943.
19. Baxter C. F. and Roberts E., Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 101, 811, 1959.
20. Wallach D. P., Biochem. pharmacol. 5, 166, 1960.
21. Mori A. and Kosaka M., J. Neurochem., 7, 313, 1961.
22. Kosaka M. and Mori A., J. Neurochem., 8, 152, 1961.
23. Ramey E. R. and Goldstein M. S., Physiol. Rev., 37, 155, 1957.
24. Cori C. f. Physiol. Rev. 11, 143, 1931.
25. Katane H., J. Tokyo Med. Cell., 18, 2401, 1960.
26. Zenryu T., Takashi S., Acira C., Sho S., Naomasa I., Folia Psichiatr. et Neurol. Japan 13, 63, 1959.