

Г. С. ХАЧАТРЯН, Ц. М. СУДЖЯН

АКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ ГЛИКОГЕНСИНТЕТАЗЫ В МОЗГУ ПОД ВЛИЯНИЕМ ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИХ ВОЗДЕЙСТВИЙ

Запасы гликогена в мозговой ткани, хотя относительно маленькие, тем не менее составляют резерв углеводов, который при некоторых метаболических условиях может быть существенным для поддержания энергетического уровня и сохранения нейрональной функции. Исследования последних лет [10, 12, 13] доказали, что основным ферментом, ответственным за биосинтез гликогена, является гликогенсинтетаза (КФ 2.4.1.11), активность которой проявляется в двух формах: зависимой (D) и независимой (I) от глюкозо-6-фосфата. Предыдущие наши исследования показали, что активность гликогенсинтетазы мозга изменяется при воздействии ингибиторов моноаминоксидаз (ИМАО), относящихся к нейротропным веществам антидепрессивного типа действия.

В настоящем исследовании изучалось влияние различных функциональных состояний мозга, вызванных физиологическими воздействиями и действием ИМАО-ипразида и трансамина на активность D и I форм гликогенсинтетазы в мозговой ткани.

Методика. Опыты ставили на белых крысах-самцах. Различные функциональные состояния вырабатывали в условнорефлекторной камере, где и производили замораживание животных в момент необходимой функциональной активности [5]. При выборе времени и доз введения ИМАО-ипразида, трансамина, а также изониазида (продукта окисления ипразида) придерживались описанной нами ранее схемы [6]. Выделение изучаемых ферментов из мозга проводили фракционированием мозговой ткани при 41000 g по методу Виллар-Паласа, Россел-Переца и др. [20]. Дальнейшее определение активности гликогенсинтетазы проводили измерением количества УДФ, образующегося в течение реакции методом Лелуара и Гольдemberг [14]. Активность общей гликогенсинтетазы определяли в присутствии глюкозо-6-фосфата. Активность I формы гликогенсинтетазы определяли в отсутствии глюкозо-6-фосфата. По разности активностей общей и I форм гликогенсинтетазы судили об активности ее D формы. Активность гликогенсинтетазы выражали в μM УДФ/мг белка. Содержание белка в выделенном ферменте определяли по Лоури [15].

Результаты и обсуждение. Из результатов опытов, приведенных в табл. I, видно, что у контрольной группы животных общая активность гликогенсинтетазы мозга во фракции, полученной при 41000 g, составляет $31,5 \pm 1,39 \mu\text{M}$ /УДФ/мг белка/мин, а I формы — $3,1 \pm 0,21 \mu\text{M}$ УДФ/мг белка/мин. Интраперитонеальное введение ипразида в дозе 10 мг/100 г веса животного за 16 час. до начала опыта вызывает повышение общей гликогенсинтетазной активности при отсутствии изменений ее

Таблица 1

Активность гликогенсинтетазы мозговой ткани во фракции, полученной при 41000 g после интраперитонеального введения ипразида, трансамина и изониазида

		Контроль	Ипразид за 16 час.	Изониазид		Трансамин за 4 час.
				за 10 час.	за 16 час.	
$M \pm m$ σ Р	Активность гликогенсинтетазы, μ г.М УДФ/мг белка/мин	$31,5 \pm 1,39$ (8) $\pm 3,9$ —	$36,8 \pm 1,18$ (8) $\pm 3,33$ $< 0,02$	$39,7 \pm 0,78$ (6) $\pm 1,9$ $< 0,01$	$31,2 \pm 0,76$ (6) $\pm 1,85$ $> 0,5$	$28,3 \pm 1,67$ (6) $\pm 4,1$ $< 0,2$
$M \pm m$ σ Р	— глюк-6-ф	$3,1 \pm 0,21$ (7) $\pm 0,56$ —	$3,6 \pm 0,28$ (9) $\pm 0,83$ $> 0,1$	$4,2 \pm 0,13$ (6) $\pm 0,31$ $< 0,01$	$3,65 \pm 0,5$ (6) $\pm 0,112$ $< 0,05$	$2,7 \pm 0,18$ (6) $\pm 0,43$ $< 0,2$
Активность (—) глюк-6-ф, %		9,8	9,8	10,5	11,7	9,5

I формы. Повышение общей гликогенсинтетазной активности мозга после введения ипразида мы наблюдали также во фракции мозговой ткани, полученной при 2000 g, а также 25000 g [6]. Введение трансамина—другого ИМАО—в дозе 1 мг/100 г веса животного за 4 час. до начала опыта не изменяет активности изучаемого фермента во всех трех исследованных фракциях мозговой ткани. Не изменяется и активность I формы гликогенсинтетазы по сравнению с контрольными опытами. В наших исследованиях ИМАО вводили на время и в дозах, при которых наблюдается максимальное торможение активности моноаминоксидазы (КФ 1.4.3.4). ИМАО тормозит окислительное деаминирование и способствует накоплению аминов в организме [17—19]. Так, введение ипразида вызывает в мозгу кроликов и крыс повышение содержания серотонина и норадреналина [2, 7, 9], а, как известно, катехоламины, в некоторой степени и серотонин, стимулируют активность печеночной фосфорилазы [8]. Исходя из вышеприведенных данных, можно было бы предположить наличие преимущественно катаболического воздействия ИМАО на метаболизм гликогена. Полученные нами данные в отношении воздействия ипразида на активность гликогенсинтетазы мозга говорят о более сложных метаболических взаимоотношениях ИМАО, биоактивных аминов и активности изучаемого нами фермента. Они свидетельствуют о преимущественном анаболическом воздействии ипразида на обмен гликогена и его различных форм. Наряду с этим, отсутствие влияния трансамина—ИМАО негидразинной структуры—на активность гликогенсинтетазы привело нас к заключению о наличии специфического воздействия ипразида на биосинтез гликогена, не связанного с ингибированием МАО. Ипразид в организме может распадаться путем окисления молекулы или же гидролитическим путем. При окислении его образуется изониазид, гидразин и другие продукты. При гидролизе он переходит в изопропилгидразин и изоникотиновую кислоту. Исследования Мусьялковской [3] показали, что продукты гидролитического распада ипразида не изменяют содержания гликогена,

в то время как продукты его окисления повышают его количество. При введении изониазида в эквимоллярных ипразиду количествах в наших опытах за 16 час. до начала опыта происходит лишь некоторое повышение активности I формы гликогенсинтетазы. Соответственно возрастает процент ее активности, составляя 11,7 (по сравнению с 9,8% в контрольных опытах). В дальнейшем изониазид вводили за 10 час. до начала опыта. В этом случае значительно возрастает активность обеих форм гликогенсинтетазы. Полученные данные позволяют предположить, что ипразид в организме крыс превращается в изониазид в течение 6 час. и влияние на биосинтез гликогена проявляет через молекулу изониазида. Для более углубленного изучения затронутого вопроса в следующей серии исследований мы поставили опыты *in vitro*, где изучаемые вещества

Таблица 2

Активность гликогенсинтетазы мозговой ткани во фракции, полученной при 41000g под влиянием ипразид, трансамина, изониазида

Время инкуба- ции, мин		Активность гликогенсинтетазы, мкМ УДФ/мг белка		Активность (—) глюк-6-ф. %
		+ глюк-6-ф	—глюк-6-ф	
Контроль				
M ± m σ	15	357,2 ± 1,8 (7) ± 4,85	46,8 ± 2,17 (6) ± 5,3	13,1
M ± m σ	30	785,0 ± 19,1 (7) ± 50,6	93,4 ± 2,3 (7) ± 6,1	11,8
Ипразид				
M ± m σ P	15	332,0 ± 2,02 (5) ± 4,52 < 0,01	43,7 ± 4,36 (5) ± 9,75 > 0,5	13,1
M ± m σ P	30	741,0 ± 93,06 (6) ± 227,91 > 0,5	90,1 ± 6,77 (6) ± 16,57 > 0,5	12,1
Изонназид				
M ± m σ P	15	405,0 ± 13,19 (6) ± 32,32 < 0,01	61,8 ± 2,42 (7) ± 6,4 < 0,001	15,2
M ± m σ P	30	1313,0 ± 68,35 (6) ± 167,4 < 0,001	135,0 ± 3,89 (6) ± 9,54 < 0,001	10,2
Трансамин				
M ± m σ P	15	367,3 ± 16,19 (4) ± 32,37 > 0,5	53,1 ± 3,07 (4) ± 6,15 > 0,2	14,4
M ± m σ P	30	1483,0 ± 106,78 (4) ± 213,56 < 0,01	137,1 ± 12,32 (4) ± 24,64 < 0,02	9,2

вносились в пробы в концентрациях, эквивалентных примененным в опытах *in vivo*. Как показывают данные опытов, у контрольной группы животных возрастание активности обеих форм гликогенсинтетазы в течение

30 мин инкубации является линейным. Внесение ипразида в пробы вызывает на 15 мин инкубации понижение общей гликогенсинтетазной активности при отсутствии изменений ее I формы. На 30 мин активность как общей, так и I формы гликогенсинтетазы соответствует уровню контрольной группы. Изониазид на 15 мин инкубации вызывает повышение активности общей гликогенсинтетазы. На 30 мин инкубации повышение активности как общей, так и I формы еще более значительное. Однако степень повышения активности общей гликогенсинтетазы значительно выше, чем ее D-формы. Соответственно ниже и процент I формы гликогенсинтетазы, т. е. повышение активности общей гликогенсинтетазы на 30 мин инкубации обусловлено преимущественным возрастанием активности ее D-формы. Применение трансамина в опытах *in vitro* не изменяет активности обеих форм гликогенсинтетазы на 15 мин инкубации. На 30 мин он повышает активность общей гликогенсинтетазы при наличии лишь некоторого повышения ее I формы, т. е. возрастание общей гликогенсинтетазы обусловлено преимущественным повышением ее D-формы.

Таким образом, проведенные исследования *in vitro* подтвердили наше предположение. В опытах *in vitro* ипразид, не вызывая изменений в активности изучаемого фермента на 15 мин инкубации, понижает активность общей гликогенсинтетазы на 30 мин инкубации. Изониазид значительно повышает активность общей гликогенсинтетазы, причем на 15 мин преимущественно за счет ее I формы, а на 30 мин—D-формы. По-видимому, реализация эффекта ипразида на биосинтез гликогена в мозговой ткани может быть осуществлена через молекулу изониазида. Выявленное нами повышение активности общей гликогенсинтетазы на 30 мин инкубации под влиянием трансамина при отсутствии изменений ее в опытах *in vivo* труднообъяснимо и требует дальнейшей разработки.

Таблица 3

Гликогенсинтетазная активность мозга при его различных функциональных состояниях

Контроль			Пищевое воз- буждение	Условнопище- вое возбужде- ние	Торможение	
$M \pm m$ з р	Активность гликоген- синтетазы, μM УДФ/мг белка/мин	+глюк-6-ф	$35,0 \pm 0,84$ (7) $\pm 2,22$ —	$39,3 \pm 1,16$ (6) $\pm 2,8$ $< 0,05$	$38,9 \pm 0,64$ (8) $\pm 1,84$ $< 0,01$	$45,4 \pm 2,2$ (6) $\pm 5,3$ $< 0,01$
$M \pm m$ з р		—глюк-6-ф	$3,01 \pm 0,13$ (6) $\pm 0,32$ —	$4,3 \pm 0,15$ (6) $\pm 0,36$ $< 0,01$	$3,8 \pm 0,043$ (8) $\pm 0,12$ $< 0,01$	$4,4 \pm 0,082$ (6) $\pm 0,2$ $< 0,001$
Активность, (—) глюк-6-ф			8,6	10,8	9,8	9,7

В следующей серии исследований мы изучали влияние различных функциональных состояний, вызванных естественными физиологически-

ми раздражителями на активность обеих форм гликогенсинтетазы мозга. Результаты опытов, приведенных в табл. 3, показывают, что при пищевом возбуждении во фракции мозга, полученной при 41000 g, повышается активность I формы гликогенсинтетазы. При этом несколько возрастает и общая активность ее. При условнопищевом возбуждении нарастание активности общей гликогенсинтетазы обусловлено преимущественным повышением активности ее I формы. Исследования ряда авторов [11, 16] показали, что в мышцах и печени I форма гликогенсинтетазы физиологически более активна. Наши исследования подтверждают это представление и в отношении мозга при данных физиологических состояниях.

При условном торможении повышение активности обеих форм гликогенсинтетазы в мозгу выражено еще больше, чем при условном возбуждении. В опытах с условными рефлексам на мышах Коганом [1] было показано, что во время электроэнцефалографического контролирования условного торможения образование аммиака в коре головного мозга усиливается по сравнению с нормой даже больше, чем при условном возбуждении. Эти и другие данные позволили автору предположить, что возбуждению и торможению соответствуют не количественные различия, а разные типы организации активного метаболизма. Полученные нами данные свидетельствуют о значительных сдвигах в активности обеих форм гликогенсинтетазы мозговой ткани при изменении ее функциональной активности. Повышение активности I формы гликогенсинтетазы при пищевом и условнопищевом возбуждении, а также при условном торможении говорят в пользу важной физиологической роли I формы гликогенсинтетазы мозга. Наряду с этим, мы наблюдаем выраженное повышение активности как I, так и D-формы в мозгу при условном торможении, что свидетельствует о превалировании анаболического пути обмена гликогена при данном функциональном состоянии.

Ереванский государственный
медицинский институт

Поступило 2.XII 1971 г.

Կ. Ս. ԽԱԶԱՏՐՅԱՆ, Յ. Մ. ՍՈՒՋՅԱՆ

ԳԼԻԿՈԳԵՆ ՍԻՆԹԵՏԱԶԱՅԻ ՏԱՐԲԵՐ ԶԵՎԵՐԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ
ՈՐՂԵՂՈՒՄ ՊՍԻԽՈՏՐՈՊ ՆՅՈՒԹԵՐԻ ՆԵՐԱՐԿՄԱՆ Ե ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ
ԱԶԴԱԿՆԵՐԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է առնետների գլխուղեղում գլիկոգեն սինթետազայի տարբեր ձևերի ակտիվության փոփոխությունները պսիխոտրոպ նյութերի ներարկման և ֆիզիոլոգիական ազդակների դեպքում: Փորձից 16 ժամ առաջ մոնոամինոօքսիդազայի արգելակիչներից՝ իպրազիդի ներմուծումը առաջ է բերում ընդհանուր գլիկոգեն սինթետազայի ակտիվության բարձրացում ուղեղային հյուսվածքից 2000g, 25000g և 41000g ստացված ֆրակցիաներում գլյուկոզո-6-ֆոսֆատից չկախված գլիկոգեն սինթետազայի ձևի (I) ակտիվու-

թյան փոփոխության բացակայության դեպքում: Փորձից 4 ժամ առաջ ներմուծած տրանսամինը չի փոփոխում գլիկոգեն սինթետազայի I և D (կախված գլյուկոզա-6-ֆոսֆատից) ձևերի ակտիվությունը: Իզոնիազիդի ներարկումից 10 ժամ հետո բարձրանում է գլիկոգեն սինթետազայի երկու ձևերի ակտիվությունը:

Փորձարկվել է իպրազիդի և իզոնիազիդի ազդեցությունը նաև *in vitro* պայմաններում: Իպրազիդը իջեցնում է ընդհանուր գլիկոգեն սինթետազայի ակտիվությունը, իսկ իզոնիազիդը ինկուբացիայի 15 րոպեում բարձրացնում է գլիկոգեն սինթետազայի I ձևի և 30 րոպեում D ձևի ակտիվությունը: Ֆիզիոլոգիական ազդակների, մասնավորապես սննդային և պայմանական սննդային դրդման ժամանակ բարձրանում է գլիկոգեն սինթետազայի ընդհանուր ակտիվությունը՝ ի հաշիվ նրա I ձևի: Պայմանական սննդային դրդման ֆոնի վրա մշակված արգելակումը էլ ավելի է բարձրացնում գլիկոգեն սինթետազայի երկու ձևերի ակտիվությունը, հատկապես նրա I ձևի ակտիվությունը:

Ստացված արդյունքները ցույց են տալիս, որ անտիդեպրեսանտների ազդեցության բիոքիմիական մեխանիզմը չի սահմանափակվում միայն ներանց կողմից մոնոամինոօքսիդազայի ակտիվության արգելակումով, այլև գոյություն ունեն ուրիշ մեխանիզմներ, որոնց օղակների մեջ կարող է տեղ գտնել ֆերմենտների, մասնավորապես գլիկոգեն սինթետազայի և նրա տարբեր ձևերի ինդուկցիան:

Ֆիզիոլոգիական ազդակներով տարված փորձերի արդյունքները լավագույն ապացույց են գլիկոգեն սինթետազայի տարբեր ձևերի ակտիվության կանոնավորման համար, որոնք սինխրոն ձևով փոփոխվում են ուղեղի դրդման և արգելակման պայմաններում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Коган А. Е. V Всесоюзная конференция по нейрохимии, Тезисы докладов, Тбилиси, 1968.
2. Кочерга В. И., Готовцева О. П. Украинский биохимический журнал, 1967.
3. Мусьялковская А. А. Изучение влияния ипразида на некоторые показатели углеводного обмена в головном мозгу животных. Автореф. канд. дисс., Киев, 1968.
4. Տոյճյան Շ. Մ. Մատ-լы 46 научной сессии Ермедикститута, Ереван, 1969.
5. Խաչատրյան Դ. Ս. Биохимия головного мозга при нормальных физиологических условиях. Ереван, 1967.
6. Խաչատրյան Դ. Ս., Տոյճյան Շ. Մ. Մատ-լы 49 научной сессии Ермедикститута, Ереван, 1971.
7. Brodie B., Bogdanski D., Shore P. Биохимия психозов, М., 1963.
8. Colombo J. P., Weber J. W. Endocrinology, 67, p. 693, 1964.
9. Gey K. F., Pletscher A. Experientia (Basel), 17, p. 25, 1961.
10. Goldemberg S. H. Biochim. Biophys. Acta., 56, p. 357, 1962.
11. Hornbrook K. R., Burch H. B., Lowry O. H. Mol. Pharmacology, 2, 106, 1966.
12. Kornfeld R., Brown D. J. Biol. Chem., 237, p. 1772, 1962.
13. Leloir L. F., Cardini C. E. J. Amer. Chem. Soc., 79, p. 6340, 1957.
14. Leloir L. F., Goldemberg S. H. In Meth. Enzym., 5, p. 145, 1962.
15. Lowry O., Rosebrough N., Farr A. Randall R. J. Biol. Chem., 193, p. 265, 1951.
16. Mersmann H. J., Segal H. L. Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 58, p. 1688, 1967.
17. Pletscher A. Experientia, 12, p. 479, 1956.
18. Pletscher A. Pharm. Rev., 18, p. 121, 1966.
19. Udenfriend S., Welssbach H. J. Pharmac. and Exp. Therap., 120, p. 255, 1957.
20. Villar-Palasi C., Rossel-Perez M., Hluzkuri S., Huijing F., Lerner J. In Meth. Enzym., 8, p. 382, 1966.