

Э. Е. МХЕЯН, Л. А. ГЕВОРКЯН, Э. А. АВАҚЯՆ

ОБМЕН ГЛИКОГЕНА В ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ВАГОТОМИИ

Показано, что после полной дегенерации окончания вагуса при превалировании симпатического воздействия на печень в ней увеличивается количество гликогена. Одновременно повышается активность глюкозо-6-фосфатазы и угнетается фосфогексозомераза, что свидетельствует о подавлении гликолитического распада. Наряду с этим, угнетается и гексомонофосфатный путь обмена глюкозы, так как на 20-й день после ваготомии имеет место заметное понижение активности Г-6-Ф ДГ и 6-Ф-Г ДГ.

Благодаря исследованиям последних лет более четко вырисовывается роль вегетативной нервной системы в тонкой регуляции гомеостаза организма. Симпатическая и парасимпатическая системы участвуют в формировании ответной реакции организма при стрессе и ходе дальнейших восстановительных процессов. Причем, как свидетельствуют литературные данные, в регуляции активности и синтеза ферментных белков отчетливо проявляется их антагонизм. Шимазу и Амакава [1, 2] показали, что раздражение симпатического нерва вызывает повышение активности гликогенфосфорилазы и глюкозо-6-фосфатазы печени кроликов, между тем как раздражение вагуса подавляет этот эффект. Аналогичную картину авторы наблюдали и в отношении изменения активности гликоген-синтетазы. Существует мнение, согласно которому в регуляции углеводного обмена в печени симпатическая нервная система участвует как стимулятор процессов глюконеогенеза, а парасимпатическая—как стимулятор процессов гликолиза [3, 4]. В литературе приведены данные, полученные в основном при полной или частичной денервации печени, а также при раздражении парасимпатических и симпатических нервных стволов. Определенный интерес представляло изучение состояния метаболизма во внутренних органах при исключении влияния одного из антагонистов вегетативной нервной системы. Для клинической медицины определенный интерес представляет состояние углеводного обмена в печени при превалировании симпатической иннервации, так как и в настоящее время одним из методов хирургического лечения язвенной болезни является стволовая поддиафрагмальная ваготомия. Несомненно, через определенное время после ваготомии в результате дегенерации периферических ветвей печень остается только под контролем симпатической нервной системы, действие которой, на наш взгляд, не может быть приравнено к раздражению стволов чревных нервов или самого чревного сплетения.

Материал и методика. Опыт ставили на белых беспородных крысах весом 120—150 г. Кроме интактных, в качестве контроля выделили группу крыс, подверженных

только лапаротомии. Стволовую двустороннюю поддиафрагмальную ваготомию производили при общем эфирном обезболивании. Печень для исследования брали через 1, 3, 7, 20, 90 дней после ваготомии. Во избежание возможных погрешностей интактные, контрольные и ваготомированные крысы содержались в одинаковых условиях, и в каждый послеоперационный срок вместе с опытной крысой исследовались также крысы из контрольных и интактных групп. Животных умерщвляли моментальной декапитацией.

Для определения гликогена быстро извлекали печень, кусочек тут же опускали в 30-процентный КОН; дальнейшее определение проводили по Зейфтеру [5]. Для определения ферментов печень гомогенизировали с десятикратным объемом 0,15 М КСl. Все операции проводили при $t=0-4^{\circ}$. Активность Г-6-ФДГ, 6-Ф-ГДГ и Г-6-Ф изомеразы определяли спектрофотометрически в надосадочной жидкости после центрифугирования гомогенатов при 9000 g в течение 20 мин. Активность Г-6-ФДГ измеряли в среде, содержащей (в мкМ): НАДФ—0,4; $MgCl_2$ —20; трис-буфер pH 7,6—50; Na—соль Г-6-Ф—4,5. Для определения 6-Ф-ГДГ в качестве субстрата использовали Na—соль 6-Ф-Г—4. К инкубационной среде в качестве ферментов добавляли 0,2 мл надосадочной жидкости. Активность ферментов выражали в мкМ восстановленного НАДФ за 1 мин на 1 мг белка [6]. Активность Г-6-Ф изомеразы определяли после 30-минутной инкубации при 37° , в среде, состоящей (в мкМ) из Na—соли Г-6-Ф—2,5; пероанал-ацетатного буфера—80 и 0,1 мл гомогената [7]. Активность фермента выражали в мкМ Ф-6-Ф за 1 мин на 1 мг белка. Активность Г-6-фосфатазы определяли в гомогенате. Инкубационная среда состояла из (в мкМ): Г-6-Ф—7; цитратного буфера—20; гомогената—0,1 мл. После 30-минутной инкубации при 37° [8] определяли содержание неорганического фосфора по методу Кондрашевой и др. [9]. Активность фермента выражали в мкг P неорг. на 1 мг белка за 1 мин. Содержание белка определяли по Лоури [10].

Результаты и обсуждение. Данные о количестве гликогена в различные сроки после ваготомии приведены в табл. 1, из которой видно, что через сутки после операции этот показатель в печени снижается в 2 раза— $2,3 \pm 0,24$ против $4,61 \pm 0,27$ в контроле. На седьмые сутки после двусторонней ваготомии количество гликогена в печени повышается, но нормы не достигает (на 17% ниже уровня нормы). Пробная лапаротомия, как и в предыдущих наших исследованиях, заметных сдвигов в количестве гликогена не вызывает [11]. Почти аналогичная динамика изменения количества гликогена в печени крыс нами установлена также в первые 7 суток после удаления солнечного сплетения [11]. Причина такого сходства пока не ясна. Особый интерес представляют указанные сдвиги через 20 суток после ваготомии. Как видно из табл. 1, в эти сроки количество гликогена в печени по сравнению с контрольной величиной увеличивается на 56%, составляя $7,17 \pm 0,65$ против $4,6 \pm 0,27$ в контроле. Таким образом, когда в результате дегенерации периферических ветвей вагуса печень остается только под контролем симпатической нервной системы, в клетках ее происходит накопление гликогена, что продолжается долгое время. Даже через три месяца после ваготомии, как видно из табл. 1, количество гликогена в печени остается выше контрольных величин на 40%.

Изменение количества и распределения гликогена, РНК, сукцинат и изоцитрат-дегидрогеназы в печени через 6 месяцев после ваготомии гистохимическими методами установлено также Королевым с соавт. [12]. Пока придется признать, что увеличение количества гликогена при

Таблица 1
Изменение содержания гликогена в печени белых крыс в различные сроки после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии (количество гликогена выражено в %-ах)

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	Опыт (двусторонняя ваготомия)
6,05±0,35 (8)*	1	5,65±0,45 (8)	1,57±0,27 (8) P<0,001
4,61±0,27 (6)	3	3,9±0,42 (6)	2,30±0,24 (7) P<0,01
5,12±0,39 (8)	7	4,38±0,35 (7)	4,23±0,17 (7) P>0,05
4,60±0,27 (6)	20	4,90±0,35 (7)	7,17±0,65 (7) P<0,01
4,98±0,39 (6)	90	4,25±0,45 (5)	6,85±0,3 (6) P<0,001

*—здесь и в следующих таблицах—в скобках количество опытов.

превалировании тонуса симпатической нервной системы представляется парадоксальным: повышение гликоген-фосфорилазы и повышение глюкозы в крови при раздражении симпатико-адреналовой системы известно со времен Клод Бернара, поэтому казалось, что повышение симпатического тонуса должно привести к понижению гликогена в печени. В процессе увеличения количества глюкозы в крови за счет печеночного гликогена при раздражении симпатико-адреналовой системы участвует также фермент глюкозо-6-фосфатаза. Изменение активности глюкозо-6-фосфатазы в различные сроки после двусторонней стволовой ваготомии приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, у интактных животных активность глюкозо-6-фосфатазы колеблется в пределах 1,88—2,02 мкг Р неорг. на 1 мг белка за 1 мин, что хорошо согласуется с литературными данными [8]. Через сутки после лапаротомии и ваготомии активность фермента статистически достоверно понижается на 16%. Начиная с третьих суток и далее у контрольных (лапаротомированных) животных активность фермента колеблется в пределах нормальных величин. Таким образом, эффект лапаротомии в отношении глюкозо-6-фосфатазы продолжается до 3-х суток.

Понижение активности глюкозо-6-фосфатазы после двусторонней ваготомии продолжается в течение семи суток, на 7-е сутки активность фермента по сравнению с аналогичным показателем интактной группы, как видно из табл. 2, понижается на 20%, начиная с 20-х суток она повышается и только через 3 месяца приближается к норме, оставаясь на несколько более высоком уровне. И в этом случае после ваготомии наблюдается двухэтапное изменение: I этап охватывает первые семь суток (возможно, и более) после операции, когда происходит интенсивная дегенерация периферических волокон вагуса, что, несомненно, сопровождается раздражением нервных окончаний, и II этап, который

начинается через семь суток после ваготомии, когда процесс дегенерации совершается и постепенно превалирует симпатическая иннервация, что и приводит на 20-е сутки к весьма заметному повышению активности глюкозо-6-фосфатазы (почти на 30%, табл. 2).

Таблица 2

Изменение активности глюкозо-6-фосфатазы в различные сроки после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии, активность фермента выражена в мкг Р неорг. за 1 мин на 1 мг белка

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	Опыт (двусторонняя ваготомия)
1,94±0,061 (10)	1	1,63±0,090 (7) P<0,02	1,69±0,032 (9) P<0,01
1,88±0,053 (9)	3	2,02±0,110 (8)	1,40±0,063 (7) P<0,01
2,11±0,058 (7)	7	1,97±0,120 (5)	1,58±0,11 (7) P<0,05
1,84±0,055 (8)	20	2,11±0,071 (7)	2,43±0,11 (7) P<0,01
1,94±0,063 (6)	90	1,82±0,045 (8)	2,27±0,28 (6)

Таким образом, при превалировании симпатической иннервации в печени, наряду с увеличением количества гликогена, повышается и активность глюкозо-6-фосфатазы, которая является одним из ключевых ферментов глюконеогенеза.

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что действие симпатической нервной системы на отдельные звенья тканевого обмена, в частности углеводного обмена, не всегда могло идентифицироваться с действием адреналина и объясниться им, что, возможно, имеет место при кратковременном возбуждении симпатической нервной системы.

Таблица 3

Изменение активности фосфогексоизомеразы в печени белых крыс в различные сроки после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии, мкМ Ф-6-Ф на 1 мг белка за 1 мин

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	Опыт (двусторонняя ваготомия)
0,0325±0,0024 (10)	1	0,040±0,0033 (9)	0,0248±0,0011 (9) P<0,02
0,0334±0,0024 (9)	3	0,028±0,0029 (10)	0,0409±0,0028 (7) P<0,05
0,0315±0,0020 (10)	7	0,0360±0,0019 (7)	0,0363±0,0013 (7) P>0,05
0,0317±0,0026 (8)	20	0,0292±0,0018 (8)	0,0231±0,0013 (8) P<0,01
0,0325±0,0021 (7)	90	0,0331±0,0021 (8)	0,0300±0,0022 (6)

Таблица 4

Изменение активности глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы и 6-фосфо-глюконат дегидрогеназы в печени белых крыс в различные сроки после двусторонней поддиафрагмальной ваготомии, мкМ НАДФН на 1 мг белка за 1 мин

Контроль		Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)		Опыт (двусторонняя ваготомия)	
			Гл-6-Ф-ДГ	6-Ф-ДГ	Гл-6-Ф-ДГ	6-Ф-Г-ДГ
0,0575±0,0030 (10)	0,0355±0,0015 (10)	1	0,079±0,0043 (9) P<0,01	0,0401±0,0028 (9) P>0,05	0,0835±0,0061 (9) P<0,01	0,0508±0,0026 (9) P<0,001
0,0550±0,0037 (11)	0,0345±0,0018 (11)	3	0,062±0,0043 (11)	0,0423±0,0026 (11)	0,0415±0,0026 (7) P<0,02	0,0415±0,0044 (7) P<0,01
0,059 ±0,0040 (7)	0,0316±0,0026 (7)	7	0,059±0,0040 (7)	0,0316±0,0026 (7)	0,0515±0,0029 (7) P>0,05	0,0345±0,0028 (7) P>0,05
0,0521±0,0038 (7)	0,0330±0,0021 (7)	20	0,057±0,0035 (8)	0,0345±0,0025 (8)	0,0387±0,0037 (7) P<0,01	0,0245±0,0008 (7) P<0,01
0,057 ±0,0028 (6)	0,0355±0,0015 (6)	90	0,055±0,0032 (6)	0,0325±0,0021 (6)	0,052 ±0,0051 (6)	0,0295±0,0031 (6)

Интересно, что на 20-е сутки после ваготомии заметно подавляется активность фосфогексоизомеразы (на 29%).

Этот фермент, как известно, не является ключевым ферментом гликолиза, он активирует реакцию перехода глюкозо-6-фосфата на фруктозо-6-фосфат, но несмотря на полную обратимость этой реакции, снижение активности фосфогексоизомеразы, несомненно, приведет к угнетению процессов гликолиза, что имеет место при превалировании симпатической иннервации печени.

Следует отметить, что состояние, которое отмечается после дегенерации периферических окончаний вагуса мы рассматриваем как превалирование симпатической иннервации, а не ее хроническое возбуждение, потому что при возбуждении больших чревных нервов, которые, как известно, участвуют в симпатической иннервации печени, процесс фосфорилиза гликогена в печени усиливается, т. е. количество гликогена повышается, а не наоборот, как в наших опытах [1, 2].

Как известно, наряду с гликолизом, в печени хорошо представлен фосфоглюконатный путь (пентозный цикл) обмена глюкозы, обеспечивающий восстановленный эквивалент (НАДФН), необходимый для синтетических реакций печени. Для этого пути ключевым ферментом является глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа, активность которой заметно повышается при денервации мышц [13, 14], а также при частичной денервации или десимпатизации печени [15].

Изучение изменения активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфо-глюконатдегидрогеназы показало, что в течение первой недели после двусторонней стволовой поддиафрагмальной ваготомии активность ферментов волнообразно меняется, на седьмые сутки устанавливается нормальный уровень обоих ферментов (табл. 4). Почти аналогичные изменения двух дегидрогеназ наблюдаются в печени лапаротомированных крыс.

На 20-е сутки после ваготомии активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы понижается на 33%, а 6-фосфо-глюконатдегидрогеназы—более чем на 30%. Трудно сказать, чем обусловлено понижение активности 6-Ф-ГДГ, является ли оно результатом снижения концентрации субстратов, образующихся в результате подавления активности Г-6-ФДГ или имеются другие причины. Тем не менее такое заметное снижение активности этих ферментов свидетельствует о том, что ваготомия сопровождается длительным угнетением пентозного цикла, так как активность ферментов повышается и доходит до уровня нормальных величин, как видно из табл. 4, только через 3 месяца после операции. Это в свою очередь не может не повлиять на течение синтетических процессов, протекающих в печени.

Է. Ե. ՄԵՆՅԱՆ, Լ. Ա. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ, Է. Ա. ԱՎԱԳՅԱՆ

ԳԼԻԿՈԳԵՆԻ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴՈՒՄ ՎԱԳՈՏՈՄԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ուսումնասիրվել է գլիկոգենի քանակական տեղաշարժերը, գլյուկոզո-6-ֆոսֆատազայի, ֆոսֆոհեքսոսիզոմերազայի, գլյուկոզո-6-ֆոսֆատ դեհիդրոգենազայի և 6-ֆոսֆոգլյուկոնատդեհիդրոգենազայի ակտիվության փոփոխությունները սպիտակ առնետների լյարդում ստոծանու տակ թափառող ներվերի երկկողմանի հատումից 1, 3, 7, 20 և 90 օր անց, ներվահատումից հետո առաջին 7 օրերի ընթացքում կատարված տեղաշարժերը հիմնականում հանդիսանում են որովայնահատման և թափառող ներվի վերջույթների գրգռման արդյունք, որը հավանական է տեղի է ունենում ներվահատումից հետո վիրջույթների վերասեռման հետևանքով: Ներվահատումից 7 օր անց, երբ թափառող ներվերի վիրջույթների վերասեռման հետևանքով լյարդում գերակշռում է սիմպատիկ ներվավորումը, ստացվում է գլիկոգենի քանակի ավելացում, գլյուկոզո-6-ֆոսֆատազայի ակտիվության բարձրացում, իսկ ֆոսֆոհեքսոսիզոմերազայի՝ ակտիվության արգելակում: Նշված փոփոխություններին զուգընթաց նկատելի կերպով ճնշվում է նաև ածխաջրատային փոխանակության պենտոզային ցիկլը: Այդ մասին է վկայում գլյուկոզա-6-ֆոսֆատ դեհիդրոգենազա և 6-ֆոսֆոգլյուկոնատդեհիդրոգենազա ֆերմենտների ակտիվության նկատելի արգելակումը թափառող ներվերի հատումից 20 օր հետո: Նշված փոփոխությունները աստիճանաբար թուլանում են ներվահատումից 3 ամիս հետո, բայց դեռևս լրիվ չեն կանոնավորվում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Shimasu T., Amakava A. Biochem. et Biophys. acta, 335, 3, 165, 1968.
2. Shimasu T., Amakava A. Biochem. et Biophys. acta, 349, 3, 165, 1968.
3. Nagai K., Suda M., Yokoyama M., Nakagawa M. Biochem. and Biophys. Res Commun, 1340, 6, 43, 1971.
4. Shimasu T. Science, 1256, 156, 1967.
5. Seifter S. et al. Arch. Biochemistry, 91, 25, 1950.
6. Захарьин Ю. Л. Лабор. дело, 6, 327, 1967.
7. Коровкин Б. Ф. Биохимические методы исследования в клинике. 140, М., 1969.
8. Асатиани В. С. Ферментативные методы анализа. 503, М., 1969.
9. Кондрашева М. Н. и др. Биохимия, 30, 567, 1965.
10. Lowry O. H. and Lopez J. A. J. of Biological Chemistry, 421, 162, 1916.
11. Мхеян Э. Е., Авакян Э. А. Журн. exper. и клин. медицины, 1, 16, 19, 1976.
12. Королев Ю. Н., Данилов К. Ю., Удовский Е. Е., Шурганова Л. В. Тр. II Московского Гос. мед. ин-та LIV, серия хирургия, вып. 14, 154, 1975.
13. Разумовская Н. И. Биохимия, 30, 3, 499, 1965.
14. Разумовская Н. И. Биохимия, 36, 4, 702, 1971.
15. Парфенова Н. С., Шаныгина К. Н. Вопр. мед. химии, 22, 6, 808, 1976.