

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

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ НЕКОТОРЫХ ФЕРМЕНТОВ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ПЕЧЕНИ ПРИ УДАЛЕНИИ СОЛНЕЧНОГО СПЛЕТЕНИЯ

Изучалось изменение активности Г-6-фосфатазы, фосфогексоизомеразы, Г-6-ФДГ и 6-Ф-ГДГ в печени белых крыс в различные сроки после удаления солнечного сплетения. Полученные данные свидетельствуют о том, что после полной дегенерации периферических окончаний постганглионарных волокон, когда превалирует только парасимпатическая иннервация печени (левый вагус), активность Г-6-фосфатазы понижается на 31%, активность фосфогексоизомеразы не меняется. Заметно повышается активность Г-6-ФДГ и 6-Ф-ГДГ.

Регулирующая роль вегетативной нервной системы в процессах синтеза ферментных белков и их активности доказана достаточно убедительно [1—5]. Однако доля участия и характер действия антагонистических систем в этой регуляции остаются далеко не ясными. Полностью не выяснена также роль гуморальных факторов, в частности известных нейромедиаторов, в осуществлении регулирующего действия нервной системы на синтез и активность ферментов. В литературе имеются лишь намеки на то, что повышение активности фосфорилазы при кратковременном раздражении чревного нерва и введении адреналина не идентично [6]. Этими же авторами доказано, что если раздражение симпатикуса вызывает усиление гликогенолиза, стимулируя два лимитирующих этапа одновременно, т. е. активируя фосфорилазу и глюкозо-6-фосфатазу, то под действием адреналина активируется только фосфорилаза [7]. Адреналин на активность глюкозо-6-фосфатазы печени собак и крыс не действует [8, 9].

Для выяснения роли вегетативной иннервации в отдельности целесообразно в эксперименте создать такие условия, чтобы данный орган находился под действием только однотипной иннервации. В этом отношении интерес представляет печень, которая иннервируется не только ганглием солнечного сплетения, но и левым вагусом, который входит в печень, минуя солнечное сплетение [10]. На основании этих анатомических данных можно допустить, что при удалении солнечного сплетения после полной дегенерации периферических постганглионарных волокон печень остается только под частичным действием парасимпатической нервной системы.

Ранее нами было показано, что после удаления солнечного сплетения наблюдаются заметные сдвиги в количестве гликогена в печени, в амилазной и фосфорилазной активности печеночной ткани. При этом на 20-е сутки после удаления солнечного сплетения наблюдается замет-

ное повышение количества гликогена и активности фосфорилазы и амилазы [4]. Наряду с этим, определенный интерес представляло выяснение характера энергетического обмена в печени при частичном превалировании парасимпатической иннервации.

С этой целью мы изучали изменение активности некоторых ключевых ферментов углеводного обмена после удаления солнечного сплетения.

Материал и методика. Опыт ставили на белых беспородных крысах весом 120—150 г. Кроме интактных, в качестве контроля выделили группу крыс, подвергаемых только лапаротомии. Удаление солнечного сплетения производили при общем эфирном обезболивании. Печень для исследования брали через 1, 3, 7, 20, 90 дней после операции.

Во избежание возможных погрешностей интактные, контрольные и симпатозотомированные крысы содержались в одинаковых условиях, и на каждый послеоперационный срок вместе с опытной крысой исследовались также крысы из контрольных и интактных групп. Животных умерщвляли моментальной декапитацией. Для определения активности Г-6-фосфатазы, Г-6-ФДГ, 6-Ф-ГДГ фосфогексоизомеразы печень гомогенизировали с десятикратным объемом 0,15 М КСl. Все операции проводили при t 0—4°. Активность Г-6-ФДГ, 6-ФГДГ и Г-6-физомеразы 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-буфера — 50 (рН 7,6); Na-соли Г-6-Ф — 4,5. Для определения 6-ФГДГ в качестве субстрата применяли Na-соль 6-Ф-Г — 4. На инкубационную среду в качестве ферментов добавляли 0,2 мл надосадочной жидкости. Активность ферментов выражали в мкМ восстановленного НАДФ за 1 мин на 1 мг белка [11]. Активность Г-6-физомеразы определяли после 30-минутной инкубации при 37°, в среде, состоящей (в мкМ) из Na-соли Г-6-Ф-2,5, веронал-ацетатного буфера — 80 и 0,1 мл гомогената [12]. 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° [13] определяли содержание неорганического фосфора по методу Кондрашевой и др. [14]. Активность фермента выражали в мкг Рнеорг. на 1 мг белка за 1 мин. Содержание белка определяли по Лоури [15].

Результаты и обсуждение. Глюкозо-6-фосфатаза печени, участвует как в процессе глюконеогенеза, так и в регуляции количества глюкозы в крови. Через сутки после удаления солнечного сплетения, как видно из табл. 1, активность фермента значительно угнетается. Угнетение активности фермента в этот срок наблюдается и при лапаротомии.

Как известно, глюкозо-6-фосфатаза, а также Ф-1,6-дифосфатаза, фосфоенолпируваткиназа, пируваткарбоксилаза являются ключевыми ферментами глюконеогенеза. С другой стороны, известно, что для ключевых ферментов глюконеогенеза специфическими индукторами являются кортикостероиды. Понижение активности Г-6-фосфатазы при лапаротомии косвенно свидетельствует о подавлении функции корковой части надпочечников. Аналогичную картину мы выявили также при изучении активности триптофанпирролазы при лапаротомии [3]. Эти данные вынуждают к смелым заключениям: не всегда чрезвычайные раздражители на первых этапах своего действия могут вызвать увеличение кортикостероидных гормонов в организме. По-видимому, тревожный этап

Таблица 1

Изменение активности глюкозо-6-фосфатазы в различные сроки после удаления солнечного сплетения (активность фермента выражена в мкг Рнеорг. на 1 мг белка за 1 мин)

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	% Δ	Опыт (удаления солнечного сплетения)	% Δ
2,02 ±0,115 (9)*	1	1,634±0,098 (9) P<0,02	-18	1,245±0,159 (10) P<0,01	-38
1,9 ±0,073 (10)	3	2,11 ±0,085 (10)	+11	2,45 ±0,2 (10) P<0,05	+29
2,09 ±0,08 (7)	7	1,97 ±0,124 (7)	-6	2,75 ±0,143 (7) P<0,01	+31
1,98 ±0,06 (6)	20	1,9 ±0,077 (8)	-5	1,68 ±0,068 (8) P<0,05	-15
1,936±0,061 (6)	90	—		1,7 ±0,044 (6)	-13

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

стресса может сопровождаться угнетением функции надпочечников в зависимости от того, на какие рецепторы действует стрессовый раздражитель. В дальнейшем у лапаротомированных животных активность глюкозо-6-фосфатазы колеблется в пределах нормальных величин, $1,9 \pm 0,077 - 2,11 \pm 0,085$ мкг Рнеорг. на мг белка. Своеобразно меняется активность фермента после удаления солнечного сплетения. Как видно из табл. 1, после заметного угнетения уже на третьи сутки активность фермента достоверно повышается на 29, а на 7-е сутки на 31%. После этого наблюдается понижение этого показателя, который остается на низком уровне в течение 3-х месяцев. На 90-е сутки активность фермента ниже нормы на 19%.

Снижение активности фермента в первые сутки, по всей вероятности, связано с операционной травмой, так как это наблюдается и при пробной лапаротомии, когда, как нами было доказано, в результате раздражения брюшины наблюдается парасимпатический эффект. В следующие дни в результате прогрессирующей дегенерации периферических нервных волокон превалирует раздражение симпатических окончаний, что приводит к повышению активности фермента. Повышение активности глюкозо-6-фосфатазы при раздражении чревных нервов кролика отмечают Шимазу и Амакава [7]. На 20-е сутки и далее уже превалирует парасимпатическая иннервация, что приводит к длительному угнетению активности фермента.

Иначе ведет себя глюкозо-6-фосфатизомераза, фермент, катализирующий превращение глюкозо-6-фосфата в фруктозо-6-фосфат и наоборот, — одна из промежуточных реакций гликолиза. Как видно из табл. 2, изменение активности фосфогеоксиомеразы наблюдается только при удалении солнечного сплетения. Причем в первые сутки после операции активность фермента повышается, а на третьи — понижается. В дальнейшем достоверных сдвигов в активности фермента по сравнению с таковой у интактных животных не наблюдается.

Таблица 2

Изменение активности фосфогексоизомеразы в различные сроки после удаления солнечного сплетения (активность фермента выражена в мкМ Ф-6-Ф на 1 мг белка за 1 мин)

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	% Δ	Опыт (удаление солнечного сплетения)	% Δ
0,0334±0,00245	1	0,04±0,0023 (9)	+21	0,0445±0,0026 (10) P<0,01	+30
0,0315±0,002 (10)	3	0,0285±0,0029 (10)	-10	0,0215±0,002 (10) P<0,01	-32
0,0317±0,0026 (7)	7	0,03±0,0019 (7)	-3	0,0273±0,0027 (7)	-14
—	20	0,0292±0,018 (8)		0,036 ±0,00275 (8)	+20
0,0325±0,0024 (6)	90	—		0,0411±0,0055 (6)	+27

В наших предыдущих исследованиях было показано, что при превалировании симпатической иннервации печени, т. е. через 20 суток после двухсторонней ваготомии активность глюкозо-6-фосфоизомеразы угнетается [16]. Наверное, этим можно объяснить подавление активности фермента на третьи сутки после удаления солнечного сплетения, когда имеет место картина симпатического возбуждения.

По всей вероятности, активность данного фермента, или синтез ферментного белка, контролируется только симпатической нервной системой, так как после наступления полной десимпатизации и частичного превалирования вагуса изменений в активности фермента не наблюдается. Вероятно, этим можно объяснить и тот факт, что пробная лапаротомия не вызывает достоверных сдвигов в активности глюкозо-6-фосфоизомеразы.

Особенно интересны изменения в активности Г-6-ФДГ и 6-Ф-ГДГ. Как видно из табл. 3, активность этих ферментов повышается с первого же дня после удаления солнечного сплетения. Через сутки после десимпатизации активность Г-6-ФДГ повышается на 33%, а на 20-е сутки — до 43%. Через три месяца этот показатель на 22% выше контроля. Почти аналогичным изменениям подвергается активность 6-Ф-ГДГ.

Интересно, что активность этих ферментов повышается и у контрольных животных — через сутки после пробной лапаротомии, когда превалирует раздражение парасимпатической нервной системы. Непонятно в таком случае, почему на третьи сутки после удаления солнечного сплетения, когда имеет место возбуждение постганглионарных волокон (что неоднократно подчеркивалось в наших предыдущих работах), т. е. картина возбуждения симпатической нервной системы, в печени происходит повышение активности этих двух дегидрогеназ. При оформлении этой статьи мы познакомились с почти аналогичными работами Н. С. Парфенова и Н. К. Шаныгиной, где авторы приводят данные об изменении активности этих ферментов после двусторонней перерезки чревных нервов, что ими рассматривается как частичная десимпатизация [17]. По данным этих авторов, начиная со вторых суток после перерезки чревных нервов наблюдается повышение активности Г-6-ФДГ и

Таблица 3

Изменение активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и 6-фосфо-глюконат-дегидрогеназы в печени белых крыс в различные сроки после удаления солнечного сплетения (активность фермента выражена в мкМ НАДФ на 1 мг белка за 1 мин)

Контроль		Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)			Опыт (удаление солнечного сплетения)		
Г-6-ФДГ	6-Ф-ГДГ		Г-6-ФДГ	6-Ф-ГДГ	Δ %	Г-6-ФДГ	6-Ф-ГДГ	Δ %
0,061±0,0045 (9)	0,0315±0,0018 (9)	1	0,079±0,0043 (9) P<0,01	0,0401±0,0028 (9) P>0,05	+30	0,0815±0,0042 (10) P<0,01	0,0455±0,0038 (10) P<0,02	+33
0,055±0,0037 (11)	0,0355±0,0028 (11)	3	0,062±0,0043 (11)	0,0423±0,0023 (11)	+13	0,076 ±0,006 P<0,02	0,0545±0,0047 (11) P<0,001	+38
0,059±0,004 (7)	0,0316±0,0026 (7)	7	0,053±0,0047 (7)	0,0374±0,0026 (7)	+6	0,0745±0,0062 (7)	0,0431±0,00315 (7) P<0,02	+26
—	—	20	0,057±0,0035 (8)	0,0345±0,0025 (8)		0,073 ±0,0019 (8) P<0,05	0,0483±0,0016 (8) P<0,05	+26
0,057±0,0028 (6)	0,0355±0,0015 (6)	90	—	—		0,0695±0,0039 (6) P<0,05	0,0461±0,0028 (6) P<0,02	+22

6-Ф-ГДГ, что они рассматривают как результат десимпатизации. С этим согласиться трудно, так как общеизвестно, что полная дегенерация периферических нервных волокон после перерезки нерва происходит в течение семи суток, причем в первые сутки этот процесс сопровождается возбуждением [18, 19]. Таким образом, как после перерезки чревных нервов (приводящей к неполной десимпатизации), так и после удаления солнечного сплетения (приводящего к почти полной десимпатизации) наблюдается повышение активности дегидрогеназ пентозного цикла. Разница заключается в том, что при перерезке чревных нервов активность 6-Ф-ГДГ повышается заметно меньше по сравнению с активностью Г-6-ФДГ [17]. Этого не наблюдается при удалении солнечного сплетения. При перерезке чревных нервов уже на третьей неделе эффект десимпатизации проходит. Это и естественно, так как за это время интактные клетки солнечного ганглия могут компенсировать дефицит чревных нервов, особенно если учесть, что чревные нервы частично прерываются солнечным сплетением [19]. В наших опытах возможность быстрой компенсации исключается, поэтому даже через 3 месяца после удаления солнечного сплетения повышение активности ферментов продолжается. Следует отметить, что однозначные изменения активности этих двух ферментов на 3-и и 7-е сутки по сравнению с остальными днями после удаления солнечного сплетения остаются пока непонятными.

Предполагать, что превазирование парасимпатической иннервации печени обеспечивает повышение активности Г-6-ФДГ через инсулярный аппарат, не представляется возможным. Известно, что инсулин является индуктором для Г-6-ФДГ печени, а активность 6-Ф-ГДГ под действием инсулина индуцируется в жировой ткани [20, 21].

Ереванский медицинский
институт

Поступило 23.V 1977

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

ԱՄԵԱԶՐԱՏԱՅԻՆ ՓՈՆԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՄԻ ՔԱՆԻ ՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ
ԱԿՏԻՎՈՒԹՅԱՆ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅՈՒՆԸ ԼՅԱՐԴՈՒՄ
ԱՐԵՎԱՅԻՆ ՀԱՆԿՈՒՅՑԻ ՀԵՌԱՅՈՒՄԻՑ ՀՆՏՈ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

Ուսումնասիրվել է սպիտակ առնետների լյարդի լուծելի ֆրակցիայում գլյուկոզա-6-ֆոսֆատազա, ֆոսֆոհեքսոսիզոմերազա, գլյուկոզա-6-ֆոսֆատ դեհիդրոգենազա և 6-ֆոսֆոգլյուկոնատդեհիդրոգենազա ֆերմենտների ակտիվության փոփոխությունը արևային հանգույցի հեռացումից 1, 3, 7, 20, 30 օր հետո: Որպես կոնտրոլ ուսումնասիրվել է նույն ֆերմենտների ակտիվությունը կենդանիներին որովայնահատում կատարելուց համապատասխան օրերից հետո: Ստացված արդյունքները ցույց են տվել, որ որովայնահատումը ինքը՝ առաջացնում է գլյուկոզա-6-ֆոսֆատազայի ակտիվության

նկատելի ընկճում, իսկ գլյուկոզա-6-ֆոսֆատդեհիդրոգենազայի, 6-ֆոսֆոգլյուկոնատդեհիդրոգենազայի ակտիվության բարձրացում վիրահատումից 1 օր հետո: Հաջորդ օրերին նշված ֆերմենտների ակտիվությունը կանոնավորվում է: Արևային հանգույցի հեռացումից 20 օր հետո, երբ ծայրամասային ներվաթելիկների ալլասերումից լյարդը մնում է միայն ձախ թափառող ներվի ազդեցության ներքո նկատվում է գլյուկոզա-6-ֆոսֆատազայի ակտիվության ընկճում և դեհիդրոգենազների ակտիվության նկատելի բարձրացում, որը կրում է երկարատև բնույթ: Ֆոսֆոհեքսոսիդոմերազայի ակտիվությունը վիճակագրորեն հավաստի փոփոխությունների չի ենթարկվում:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Մխեյն Յ. Ե. Вопросы биохимии, 3, 11, 1963.
2. Մխեյն Յ. Ե., Ավետիսյան Լ. Ե. Научные тр. Арм. гос. пед. ин-та, 6, Երևան, 1967.
3. Մխեյն Յ. Ե., Ավետիսյան Լ. Ե. Биологический журнал Армении, 22, 5, 22, 1969.
4. Մխեյն Յ. Ե., Աვაզյան Յ. Ա. Журн. эксп. и клин. медицины, 16, 1, 19, 1976.
5. Մխեյն Յ. Ե., Աვაզյան Յ. Ա. Мат-лы IV Всесоюзн. конф. по физиологии вегетативн. нервной системы, 223, 1976.
6. Shimazu P., Amakawa H. Biochem. et Biophys. acta, 165, 3, 335, 1968.
7. Shimazu P., Amakawa H. Biochem. et Biophys. acta, 165, 3, 349, 1968.
8. Perske W. E., Kvam D. C., Parks R. E. Ir. Blochem. pharmacol, 1, 141, 1958.
9. Srilagyl T., Srabo E. Acta physiol. Acad. Sci Hung. 11, 426, 1957.
10. Скок В. Н. Физиология вегетативных ганглиев. Л., 1970.
11. Захарьин Ю. Л. Лаб. дело, 6, 327, 1967.
12. Коровкин Б. Ф. Биохимические методы исследования в клинике, 140, М., 1969.
13. Асатиани В. С. Ферментативные методы анализа, 503, М., 1969.
14. Кондрашева М. И. и др. Биохимия, 30, 567, 1965.
15. Lowry O. H., Lopez J. A. J. of Biological Chemistry, 162, 421, 1946.
16. Մխեյն Յ. Ե., Գեւորկյան Լ. Ա., Աვაզյան Յ. Ա. Биологический журнал Армении, 30, 6, 1977.
17. Парфенова Н. С., Шаныгина К. Н. Вопр. мед. химии, 22, 6, 808, 1976.
18. Лобко П. Н. Чревное сплетение и чувствительная иннервация внутренних органов. Мпшск, 1976.
19. Семенов С. П. Морфология вегетативной нервной системы и интеррецепторов. Л., 1965.
20. Ильин В. С. Вестн. АМН СССР, 8, 3, 1969.
21. Ильин В. С., Громова К. Г., Иисюла Л. С. Ферменты в эволюции животных, 116, Л., 1969.