

С. А. ХАЧАТРЯН, В. Г. БАЯНДУРОВ

ВЛИЯНИЕ ГЛЮКОЗЫ И ИНСУЛИНА НА ОСНОВНОЙ ПУТЬ ОБМЕНА ТРИПТОФАНА И ГИСТИДИНА, А ТАКЖЕ ИХ КОМБИНИРОВАННОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ В УСЛОВИЯХ ФТОРОТАНОВОГО НАРКОЗА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Исследовалась возможность коррекции основного пути обмена триптофана и гистидина, претерпевающего значительные изменения вследствие воздействия фторотана, комбинацией глюкоза—инсулин.

Выявлено, что глюкоза и инсулин активируют триптофанпирролазу и ингибируют дезаминазный путь расщепления гистидина. Комбинированное воздействие препаратов в условиях фторотанового наркоза приводит к тому, что инсулин лишается способности участвовать в обмене триптофана и гистидина.

В течение двух последних десятилетий наиболее широкое распространение получил галогенсодержащий анестетик—фторотан (галотан). Однако до настоящего времени вопрос о гепатотоксичности фторотана и его влиянии на отдаленные звенья обмена гепатоцита разноречивы.

В настоящей работе приводятся данные об изменениях активности трех органоспецифических ферментов печени: триптофанпирролазы (к. ф. 1.11.1.4—триптофан: H_2O_2 оксидоредуктаза), гистидазы (к. ф. 4.3.13—гистидин-аммиак-лиаза) и уроканиназы, обнаруживаемых современными методами только в печени [10, 4, 5], в ответ на введение глюкозы, инсулина при фторотановом наркозе и комбинацию воздействия их в эксперименте. Глюкоза и инсулин—препараты настолько часто применяющиеся в клинике, что в настоящее время трудно представить без них интенсивную терапию в послеоперационном периоде и реанимацию в самом широком смысле этого слова.

Нам представлялось интересным изучить динамику изменения активности адаптивных ферментов печени, возникающего под влиянием глюкозы, инсулина в условиях фторотанового наркоза, тем более что по литературным данным известно также, что глюкоза выступает в роли репрессора активности гистидазы у интактных и адреналэктомированных крыс [7], а инсулин является активатором (хотя и слабым) триптофанпирролазы [13]; триптофан же в свою очередь тормозит инсулин, являясь естественным ингибитором последнего в организме [6]. Данных о влиянии инсулина на активность гистидазы и уроканиназы, а также глюкозы на активность триптофанпирролазы в доступной нам литературе найти не удалось. Настоящая работа предпринята с целью изучения возможности коррекции обмена изучаемых аминокислот при фторотановом наркозе.

Методы исследования

Активность триптофанпирролазы определялась спектрофотометрически по методике Нокса в модификации Фейгельсона и Грингардта [10]. Активность гистидазы и уроганиназы определялась также спектрофотометрически по методу Табор и Мейлер в модификации С. Р. Мардашева и В. А. Буробина [4, 5]. Исследования проводились на отечественном спектрофотометре СФ-16. Исследованию подверглись 150 белых крыс весом 200 ± 15 г, содержащихся на обычном рационе. Перед опытом животные голодали в течение 12 часов. Ингаляционному трехчасовому наркозу животных подвергали в специальной камере, через которую с помощью наркозного аппарата пропускали постоянно обновляющуюся наркотическую смесь с точной дозировкой анестетика в объемных процентах. Глюкоза вводилась внутривентриально в дозе 1 г/кг веса. Инсулин вводился внутримышечно из расчета 0,3 ЕД на кг веса.

Результаты исследований и их обсуждение

Внутривентриальное введение глюкозы животным уже через час после введения вызывает повышение активности триптофанпирролазы печени на 33%, достигая максимума к третьему часу (на 56%). Активность фермента возвращается к цифрам, близким к контрольным, к пятому часу (табл. 1). Активность гистидазы, повышаясь через 1 час на 28%, уже к исходу 2-го часа подавляется на 30% по сравнению с исходной. Через 5 часов после введения глюкозы отмечена потеря прежней активности на 67%, не отмечено тенденции к росту и через 24 часа после введения глюкозы. Подобная картина наблюдается и в изменениях активности уроганиназы, где прирост активности в течение первого часа составил 16,5%, сменившись подавлением активности ко 2-му часу на 36,6, 3-му—на 58,5-му—на 61,2%, оставаясь низкой и спустя 24 часа.

Таким образом, внутривентриальное введение глюкозы животным в дозе 1 г/кг веса вызывает повышение активности триптофанпирролазы и подавление активности гистидазы и уроганиназы. Из литературы известно [15], что добавление глюкозы к гидролизату казеина—рациону животных, вызывающего индукцию треониндегидрогеназы и орнитин-карбамоил-трансферазы, не вызывает повышения активности указанных ферментов. Исследование индуцибельности энзимов дезаминазного пути расщепления гистидина в печени крыс (гистидаза и уроганиназа) [7] выявило, что глюкоза препятствует активации ферментов смесью вводимых аминокислот. Результаты указанных исследований находятся в соответствии с данными, полученными для бактерий [14], у которых также отмечается репрессорное действие глюкозы на синтез ферментов расщепления аминокислот, индуцированный добавлением соответствующей аминокислоты в среду выращивания бактерий. Таким образом,

Таблица 1

Изменение активности ферментов печени крыс под влиянием глюкозы

Ферменты	Контроль	После введения через				
		1 час	2 часа	3 часа	5 часов	24 часа
Триптофанпирролаза Р	$2,34 \pm 0,028$	$3,12 \pm 0,069$ <0,001	$3,43 \pm 0,051$ <0,001	$3,66 \pm 0,04$ <0,001	$2,43 \pm 0,024$ <0,005	—
Гистадаза Р	$6,0 \pm 0,068$	$7,7 \pm 0,112$ <0,001	$4,2 \pm 0,061$ <0,001	$2,3 \pm 0,079$ <0,001	$2,0 \pm 0,095$ <0,001	$1,8 \pm 0,049$ <0,001
Уроканиназа Р	$12,1 \pm 0,089$	$14,0 \pm 0,119$ <0,001	$7,8 \pm 0,111$ <0,001	$5,0 \pm 0,142$ <0,001	$4,7 \pm 0,110$ <0,001	$4,6 \pm 0,042$ <0,001

Таблица 2

Изменение активности ферментов печени крыс под влиянием инсулина

Ферменты	Контроль	После введения через				
		1 час	2 часа	3 часа	5 часов	24 часа
Триптофанпирролаза Р	$2,34 \pm 0,028$	$6,69 \pm 0,041$ <0,001	—	$5,14 \pm 0,04$ <0,001	$2,51 \pm 0,043$ <0,01	$3,08 \pm 0,061$ <0,001
Гистадаза Р	$6,0 \pm 0,068$	$4,7 \pm 0,085$ <0,001	$3,2 \pm 0,195$ <0,001	$1,9 \pm 0,095$ <0,001	$2,8 \pm 0,108$ <0,001	$6,6 \pm 0,102$ <0,001
Уроканиназа Р	$12,1 \pm 0,089$	$10,7 \pm 0,101$ <0,001	$7,1 \pm 0,067$ <0,001	$4,0 \pm 0,061$ <0,001	$4,6 \pm 0,145$ <0,001	$12,7 \pm 0,154$ <0,01

Примечание. Во всех сериях приведено статистически достоверное различие по отношению к исходному уровню.

введение глюкозы или так называемый «глюкозный эффект» авторы рассматривают как репрессию индуцированного синтеза специфических белков ферментов. В отличие от приведенных работ в наших опытах, исключающих присутствие индуктора, глюкоза также выступает в роли ингибитора ферментов дезаминазного пути расщепления тистидина. Объяснить полученный «глюкозный эффект», нам кажется, можно тем, что введение легкоомобилизуемого и легкоусвояемого энергетического субстрата, по-видимому, приводит к замедлению скорости распада аминокислот в клетке нормальной печени крыс, и наоборот, отсутствие других энергетических ресурсов либо повреждение клетки печени (до известного предела) теми или иными гепатотоксичными агентами приводит к увеличению скорости распада аминокислот в клетке как следствие повышения активности ферментов, о чем свидетельствуют и результаты наших предыдущих исследований гепатотоксичности фторотана и хлороформа. Подобное объяснение противоречит результатам, полученным при исследовании активности триптофанпирролазы, повышение активности которой мы рассматриваем как результат повышения секреции инсулина в ответ на гипергликемию; этим, нам кажется, можно объяснить и кратковременность индукции фермента, активность которого уже к 5-му часу возвращается к норме.

В следующей серии опытов (табл. 2) было изучено влияние инсулина. Как и следовало ожидать, мы наблюдали повышение активности триптофанпирролазы печени: уже через 1 час после введения активность энзима возрастает на 28,5% по сравнению с исходной, однако уже к 3-му часу отмечается тенденция к понижению активности, и через 5 часов активность фермента практически не отличается от исходной. Нам кажется интересным тот факт, что активность фермента возвращается к норме в те же сроки, что и после введения глюкозы, что, на наш взгляд, подтверждает участие именно инсулина в повышении активности фермента в первой серии опытов, которое, по-видимому, следует расценить как опосредованную индукцию фермента.

Труднообъяснимым нам кажется факт довольно выраженного падения активности тистидазы: через 1 час наблюдается понижение на 22%, через 3 часа потеря прежней активности составляет 69%, к 5-му часу наблюдается тенденция к некоторому повышению активности. Через 24 часа активность фермента даже несколько превышает исходную. Аналогичные изменения претерпевает и активность урокинаказы: к 3-му часу наблюдается падение активности на 67%, спустя 5 часов — некоторое повышение, через 24 часа после введения инсулина активность превышает исходную.

Таким образом, инсулин выступает в роли инактиватора тистидин-дезаминазного пути. Безусловно не бесспорным, но приемлемым, на наш взгляд, объяснением полученному результату может послужить следующее. Инсулин, активируя гексокиназу, противодействует инактивации последней гипофизарными и кортико-надпочечными гормонами [3], способствует и облегчает перемещение глюкозы из внеклеточной среды внутрь клетки, косвенным образом вызывая «глюкозный эф-

фект», который и вызывает репрессию ферментов, расщепляющих гистидин. К 5-му часу гипогликемия, вызванная введением инсулина, или, иначе, состояние напряжения приводит к активации симпато-адреналовой системы и, как следствие, к повышению активности всех трех ферментов спустя 24 часа после введения.

Для выяснения роли анестетика в отношениях глюкоза—инсулин—адаптивные ферменты печени—наркоз была поставлена серия опытов с фторотаново-кислородным наркозом длительностью 3 часа (кислородный поток 5 л/мин, фторотан 1 об/% в течение первого часа и 0,5 об/% в течение двух последующих). Такая дозировка фторотана (это подтверждается результатами предыдущих исследований) позволяет поддерживать у крыс наркоз достаточной глубины, исключая в то же время серьезное повреждение печеночной паренхимы. Результаты этой серии представлены в табл. 3.

Следующая серия наших опытов имела целью выяснить, в какой зависимости находится активность изучаемых ферментов от комбинированного воздействия глюкозы и инсулина в условиях наркоза. Наркоз начинали через час после введения глюкозы, непосредственно перед началом наркоза вводился инсулин с соблюдением всех условий и доз предыдущих серий. Активность триптофанпирролазы, возросшая после введения глюкозы на 36% к началу наркоза, продолжала повышаться еще в течение часа (табл. 4), однако два часа наркоза наметили заметную тенденцию к падению активности (на 10% по сравнению с предыдущим исследованием), которая продолжалась и далее во все сроки исследования: 3 часа наркоза—практически начальная активность, спустя еще 2 часа—90,5% исходной и через 24 часа—лишь 82% активности.

В отличие от триптофанпирролазы активность гистидазы и урокаминназы начала падать уже по истечении первого часа наркоза, соответственно составив 90,4 и 97%. Понижение активности продолжалось и в последующие сроки исследования: спустя 2 часа после наркоза активность гистидазы равна 68,4%, а урокаминназы 80,6% исходной. Через сутки активность ферментов была близкой к норме.

Таким образом, результаты, полученные в данной серии опытов, свидетельствуют в первую очередь о том, что под влиянием наркоза инсулин теряет свои свойства активатора триптофанпирролазы и ингибитора дезаминазного пути расщепления гистидина. Анестезиологам давно известен тот факт, что под влиянием наркоза инсулин теряет способность снижать сахар и неорганический фосфат крови, лишаясь, таким образом, возможности участвовать в углеводном обмене. Результаты последней серии опытов свидетельствуют о том, что под влиянием наркоза фторотаном инсулин лишен возможности участвовать и в белковом обмене печеночной клетки.

Таким образом, получены данные об изменениях активности трех органоспецифических ферментов печени—триптофанпирролазы, гистидазы, урокаминназы у крыс в ответ на введение глюкозы, инсулина, фто-

Таблица 2

Изменение активности ферментов печени крыс при фторотановом наркозе

Ферменты	Контроль	Наркоз через				
		1 час	2 часа	3 часа	5 часов	24 часа
Триптофанпирролаза P	$2,34 \pm 0,028$	$2,67 \pm 0,049$ $< 0,001$	$2,75 \pm 0,042$ $< 0,001$	$2,27 \pm 0,037$ $< 0,01$	$2,03 \pm 0,022$ $< 0,001$	—
Гистидаза P	$5,7 \pm 0,083$	$6,1 \pm 0,051$ $< 0,01$	$6,1 \pm 0,054$ $< 0,01$	$6,9 \pm 0,07$ $< 0,001$	$5,3 \pm 0,083$ $< 0,01$	$4,8 \pm 0,042$ $< 0,001$
Уроканиназа P	$11,7 \pm 0,081$	$12,0 \pm 0,061$ $< 0,02$	$12,3 \pm 0,119$ $< 0,01$	$12,9 \pm 0,071$ $< 0,001$	$11,2 \pm 0,093$ $< 0,01$	$10,7 \pm 0,219$ $< 0,01$

Таблица 3

Изменение активности ферментов печени крыс при фторотановом наркозе на фоне введения глюкозы и инсулина

Ферменты	Спустя 1 час после введения глюкозы	Наркоз через				
		1 час	2 часа	3 часа	5 часов	24 часа
Триптофанпирролаза P	$3,20 \pm 0,019$ $< 0,001$	$3,45 \pm 0,048$ $< 0,001$	$2,95 \pm 0,036$ $< 0,001$	$2,38 \pm 0,044$ $< 0,05$	$2,12 \pm 0,04$ $< 0,001$	$1,94 \pm 0,03$ $< 0,001$
Гистидаза P	$7,3 \pm 0,120$ $< 0,001$	$6,6 \pm 0,089$ $< 0,001$	$5,8 \pm 0,061$ $< 0,05$	$6,0 \pm 0,068$ $< 0,02$	$5,0 \pm 0,125$ $< 0,001$	$5,5 \pm 0,073$ $< 0,1$
Уроканиназа P	$13,9 \pm 0,066$ $< 0,001$	$13,5 \pm 0,164$ $< 0,001$	$12,5 \pm 0,111$ $< 0,001$	$12,6 \pm 0,114$ $< 0,001$	$11,2 \pm 0,123$ $< 0,01$	$11,5 \pm 0,076$ $< 0,1$

ротана и комбинированное действие указанных фармакологических агентов.

В Ы В О Д Ы

1. Введение глюкозы вызывает повышение активности триптофанпирролазы. Индукция энзима является опосредованной и, по-видимому, представляет собой результат повышения секреции иноулина. Глюкоза является ингибитором дезаминазного пути расщепления гистидина, что, возможно, связано с замедлением скорости распада аминокислот в клетке нормальной печени крыс в ответ на поступление легкоомобилизуемого энергетического субстрата.

2. Инсулин вызывает выраженную активацию триптофанпирролазы в течение первых трех часов после введения. Активность ферментов дезаминазного пути расщепления гистидина подавляется значительным образом на достаточно длительный срок.

3. Активность изучаемых ферментов под влиянием фторотанового наркоза в примененных концентрациях анестетика выраженных изменений, граничащих с патологией, не претерпевает.

4. Комбинированное воздействие препаратов в условиях фторотанового наркоза приводит к тому, что инсулин при наркозе лишается способности участвовать в белковом обмене печеночной клетки.

Кафедра патологической физиологии
Ереванского государственного
медицинского института

Поступила 14/X 1974 г.

Ս. Շ. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Վ. Շ. ԲԱՅԱՆԴՈՒՐՈՎ

ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՅՏՈՐՈՏԱՆԱՅԻՆ ՆԱՐԿՈՋԻ ՔԱՄԱՆԱԿ ՏՐԻՊՏՈՆԱՆԻ ԵՎ
ՀԻՍՏԻԴԻՆԻ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՀԻՄՆԱԿԱՆ ՈՒՂՈՒ ՎՐԱ ԳԼՅՈՒԿՈՋԱՅԻ,
ԻՆՍՈՒԼԻՆԻ ԵՎ ՆՐԱՆՑ ԶՈՒԴՈՐԴԱԾ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ

Ա մ փ ն փ ու մ

Առնետների մոտ ուսումնասիրված են լյարդի ադապտիվ ֆերմենտների տրիպտոֆանպիրրոլազի, հիստիդազի և ուրոկանինազայի ակտիվության փոփոխությունները շաքարի, ինսուլինի ներմուծման ֆոտոռոտանային նարկոզի և նշվածների զուգորդման պայմաններում:

Գլյուկոզայի ներմուծման ժամանակ փորձնական կենդանիների լյարդում դիտվում է տրիպտոֆանպիրրոլազայի ակտիվության բարձրացում, որը վերադառնում է նորմալ մակարդակի 5-րդ ժամվա վերջում, իսկ հիստիդազայի և ուրոկանինազայի ակտիվությունը ընկճվում է: Այդ վկայում է այն մասին, որ գլյուկոզան հանդես է գալիս, որպես հիստիդինի դեզամինացման ուղու ինգիբիտոր:

Ինսուլինը առաջ է բերում տրիպտոֆանպիրրոլազայի ակտիվության նշանակալից բարձրացում, իսկ հիստիդազայի և ուրոկանինազայի ակտիվության

ընկճում: Ֆտորոտանային նարկոզի ժամանակ օգտագործված դոզաներում նըշված ֆերմենտների ակտիվության մեջ ակտարանական տեղաշարժեր չեն նըկատվում:

Նշված պրեպարատների կոմբինացված ազդեցության ուսումնասիրությունը ցույց է տվել, որ ինսուլինը նարկոզի պայմաններում կորցնում է լյարդային հյուսվածքի ամինոթթվային փոխանակությանը մասնակցելու ընդունակությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Буробин В. А. Автореферат канд. дисс., М., 1972.
2. Збарский Б. И., Иванов И. И., Мардашев С. Р. В кн.: Биологическая химия. М., 1965, стр. 260.
3. Лабори А. В кн.: Регуляция обменных процессов. М., 1970, стр. 63.
4. Мардашев С. Р., Буробин В. А. Вопросы медицинской химии, 1962, 3, стр. 320.
5. Мардашев С. Р., Буробин В. А. Вопросы медицинской химии, 1963, 1, стр. 93.
6. Мережинский М. Ф., Черкасова Л. С. В кн.: Основы клинической биохимии. М., 1965, стр. 38.
7. Мясоедова К. Н. Биохимия, 1966, 1, стр. 186.
8. Хачатрян С. А. Автореферат докт. дисс. Ереван, 1968.
9. Cahill G. F., Jeanrenaud B., Lebceuf B., Renold A. E. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1959, 82, 2, 403.
10. Felgelson P., Greengard O. J. Biol. Chem., 236, 153, 1961.
11. Hall I. C., Sordahl L. A., Stefko P. L. J. Biol. Chem., 1960, 235, 5, 1536.
12. Knox W. E. Brit. J. Exper. Path., 32, 462, 1951.
13. Knox W. E. In: Methods in Enzymology. Acad. Press. Inc., Publishers, New York, 2, 242, 1955.
14. Magasanik B. Cold Spring Harbor Symposia on Quant. Biol., 26, 249, 1961.
15. Pitot H. C., Peratno C. J. Biol. Chem., 238, PC1910, *1963.