

Г. С. ХАЧАТРЯН, Ц. М. СУДЖАН

СОДЕРЖАНИЕ ГЛИКОГЕНА, АКТИВНОСТЬ ГЛИКОГЕНСИНТЕ- ТАЗЫ В МОЗГЕ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЦИКЛО-АМФ И ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ

Изучено влияние цикл. 3',5'-АМФ, ингибиторов моноаминоксидазы (ипразида и трансамина) и их сочетанное действие на содержание общего гликогена, свободного гликогена, связанного с белками и связанного с липидами гликогена, на активность общей, J- и D-форм гликогенсинтетазы мозга. Введение с ипразидом цикл. 3',5'-АМФ, не предотвращая повышающего влияния ипразида на содержание свободной и белковой форм гликогена, снимает эффект повышения активности J-формы гликогенсинтетазы, индуцируемый ипразидом.

Циклический аденозин-3',5'-фосфат (цикл. 3',5'-АМФ) участвует в многочисленных реакциях в организме, регулируя активность внутриклеточных ферментов, в том числе фосфорилазы и синтетазы, осуществляющих обмен гликогена [30, 31]. В наших предыдущих исследованиях было показано, что ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО) оказывают влияние на активность зависимой (D) и независимой (J) от глюкозо-6-фосфата форм гликогенсинтетазы и на содержание катехоламинов (нор-адреналина и адреналина) мозговой ткани [5, 6].

Учитывая, что катехоламины могут осуществлять свое влияние на метаболизм гликогена при воздействии ИМАО через циклоадениловую систему, а также имея в виду, что цикл. 3',5'-АМФ принимает непосредственное участие во взаимопереходе молекулярных форм гликогенсинтетазы, мы сочли интересным изучить влияние цикл. 3',5'-АМФ в сочетании с ИМАО на метаболизм гликогена мозга.

Методика

Опыты ставили на белых крысах-самцах. Цикл. 3',5'-АМФ марки Сигма вводили интрацестернально [2] в количестве 2,28 нм/г мозга [14, 26] за 15 и 30 мин до исследования мозговой ткани животных, которых замораживали в жидком азоте. ИМАО вводили на время и в дозах, при которых наблюдается торможение активности МАО и значительно повышается содержание моноаминов в мозге [6, 20, 22]. В опытах *in vivo* ипразид и трансамин вводили в физиологическом растворе внутривенно. Животных замораживали в жидком азоте через 16 часов после введения ипразида в дозе 10 мг/100 г веса животного и через 4 часа после введения трансамина (1 мг/100 г). В опытах *in vitro*

эти вещества вносили в пробы в концентрациях, рассчитанных на вес ткани и соответствующих опытам *in vivo*. Контролем служили интактные животные, которым вместо психотропных веществ вводили физиологический раствор в те же интервалы времени. Из замороженной мозговой ткани извлекали свободный гликоген, гликоген, связанный с белками и липидами [3]. Содержание гликогена и его различных форм определяли по цветной реакции с антроном [18]. Выделение и очистку гликогенсинтетазы проводили фракционированием мозговой ткани при 41000 g по методу Виллар-Паласа и соавт. [32]. Для определения активности гликогенсинтетазы измеряли методом Лелуара и Гольдсберга [15] количество УДФ, образующееся в реакции. Активность общей гликогенсинтетазы определяли в присутствии глюкозо-6-фосфата, а активность J-формы фермента — в его отсутствии. По разности активности общей и J-формы гликогенсинтетазы судили об активности ее D-формы. Активность гликогенсинтетазы выражали в мкмоль УДФ на 1 мг белка [16].

Результаты и обсуждение

Из результатов опытов, приведенных в табл. 1, видно, что интрацестернальное введение физиологического раствора в количестве 0,2 мл у контрольной группы животных не вызывает сдвигов в содержании отдельных форм гликогена. Введение цикл. 3',5'-АМФ за 15 мин до исследования мозга вызывает понижение содержания общего гликогена за счет его свободной, связанной с белками и связанной с липидами форм. Недавние исследования Мрсуля [19] показали, что в опытах *in vitro* цикл. 3',5'-АМФ уменьшает содержание гликогена в срезах головного мозга крыс. Введение цикл. 3',5'-АМФ в наших опытах за 30 мин до исследования мозга понижает содержание общего гликогена в основном за счет снижения количества свободной формы гликогена. Таким образом, гликогенолитический эффект цикл. 3',5'-АМФ более выражен при его интрацестернальном введении за 15 мин до начала опыта. Учитывая, что биосинтез гликогена в организме обеспечивается активностью гликогенсинтетазной системы, мы в последующем изучали активность J- и D-форм гликогенсинтетазы мозга после введения цикл. 3',5'-АМФ. Установленные нами уровни активности отдельных форм гликогенсинтетазы у контрольной группы животных сопоставимы с результатами наших предыдущих исследований [4]. Введение цикл. 3',5'-АМФ за 15 мин до начала опыта вызывает повышение активности общей гликогенсинтетазы при значительном понижении активности ее J-формы. Соответственно снижена и доля ее активности по отношению к общей гликогенсинтетазе, составляя 7,2% против 8,61% в контрольных опытах. При введении цикл. 3',5'-АМФ за 30 мин до исследования мозга при отсутствии изменений в активности общей гликогенсинтетазы значительно понижается активность ее J-формы. Процент активности J-формы синтетазы регулируется активностью синтетаза-J-киназы, катализирующей переход J-формы в D-, и синтетаза-D-фосфатазы.

Влияние психотропных веществ и цикл. 3',5'-АМФ на содержание гликогена
и активность гликогенсинтетазы мозговой ткани белых крыс

Гликоген (в мг %)				Активность гликогенсинтетазы (в мкмоль УДФ/мг белка/мин)		Актив- ность J-формы в % от общей
общий	свободный	связанный с белками	связанный с липидами	J+D-форма	J-форма	
1	2	3	4	5	6	7
Контроль (за 15 мин п/ц физраствор)						
69,51±1,62 (6)	16,81±0,52	35,48±0,40	15,55±0,21	35,62±0,27 (5)	3,03±0,034	8,61
Контроль (за 30 мин п/ц физраствор)						
69,39±0,54 (5)	16,50±0,24	36,40±0,21	16,48±0,27	35,06±0,08 (5)	2,97±0,02	8,46
Цикл. 3',5'-АМФ (за 15 мин п/ц)						
49,05±1,45 (5) t<0,001	13,12±0,64 <0,01	24,33±2,20 <0,01	11,55±1,13 <0,02	34,14±0,09 (5) <0,001	2,75±0,035 <0,01	7,20
Цикл. 3',5'-АМФ (за 30 мин п/ц)						
62,12±0,18 (5) P<0,01	12,56±0,18 <0,001	33,14±1,19 <0,05	16,41±0,20 >0,05	34,92±0,05 (5) >0,05	2,75±0,02 <0,01	7,88
Ипразид (за 16 часов в/бр) + физраствор (за 15 мин п/ц)						
82,03±0,19 (5) P<0,001	22,08±0,42 <0,001	44,18±0,15 <0,001	15,83±0,66 >0,05	39,16±0,55 (5) <0,01	3,74±0,03 <0,001	9,55
Ипразид (за 16 часов в/бр) + физраствор (за 30 мин п/ц)						
80,38±0,46 (4) P<0,001	21,23±0,22 <0,001	43,28±0,46 <0,001	15,88±0,22 >0,05	38,04±1,07 (5) <0,02	3,66±0,04 <0,001	9,39

1	2	3	4	5	6	7
Ипразид (за 16 часов в /бр) + цикл. 3',5'-АМФ (за 15 мин и/ц)						
85,82±1,79 P>0,05 (4)	24,72±0,98 >0,05	45,55±1,48 >0,05	16,35±1,53 >0,05	35,18±0,74 <0,01 (5)	2,79±0,04 <0,001	7,94
Ипразид (за 16 часов в/бр) + цикл. 3',5'-АМФ (за 30 мин и/ц)						
83,32±0,63 P<0,03 (4)	19,93±1,03 >0,05	48,05±0,57 <0,01	15,35±0,45 >0,05	35,58±0,79 <0,05 (5)	3,34±0,04 <0,01	9,38
Трансамин (за 4 часа в/бр) + физраствор (за 15 мин и/ц)						
68,15±1,98 P>0,05 (4)	19,30±0,27 <0,02	34,50±0,91 <0,05	14,60±0,33 <0,02	34,98±0,13 >0,05 (5)	2,95±0,04 >0,05	8,43
Трансамин (за 4 часа в/бр) + физраствор (за 30 мин и/ц)						
71,70±1,62 P>0,05 (4)	20,83±2,20 >0,05	35,78±0,50 >0,05	16,60±0,36 >0,05	35,10±0,25 >0,1 (5)	2,98±0,031 >0,1	8,49
Трансамин (за 4 часа в/бр) + цикл. 3',5'-АМФ (за 15 мин и/ц)						
57,95±1,17 P<0,01 (4)	21,95±0,70 <0,05	23,88±1,11 <0,01	12,17±0,30 <0,01	31,62±0,26 <0,001 (5)	2,69±0,03 <0,01	8,49
Трансамин (за 4 часа в/бр) + цикл. 3',5'-АМФ (за 30 мин и/ц)						
49,73±1,08 P<0,001 (4)	11,18±0,31 <0,02	27,65±0,87 <0,01	10,91±0,57 <0,01	33,54±0,39 <0,05 (4)	2,76±0,04 <0,01	8,24

Примечание. В скобках указано число опытов.

катализирующей переход в J-форму. В качестве природного ингибитора синтетаза-фосфатазы может рассматриваться фосфорилаза А. Глюкоза и Mg^{++} , мало влияя на гликогенсинтетаза-фосфатазную реакцию, значительно активируют фосфорилаза-фосфатазную реакцию [28]. Увеличение запасов эссенциального фактора перехода различных форм гликогенсинтетазы (глюкозо-6-фосфат) может привести к активированию гликогенсинтетаза-фосфатазы. На основе полученных нами данных можно допустить, что повышение уровня цикл. 3',5'-АМФ в мозге, вызванное ее интрацистернальным введением, может стимулировать активность киназы и увеличить переход J-формы гликогенсинтетазы в D-форму.

Введение гидразинного ИМАО-ипразида за 16 часов до начала опыта вызывает повышение общего гликогена за счет увеличения свободной и связанной с белками форм гликогена при отсутствии изменения в его липидной форме. Под влиянием ипризида в мозговой ткани повышается активность общей гликогенсинтетазы и ее J-формы. Данные эти сопоставимы с результатами наших предыдущих исследований [4, 5]. Однако повышение активности J-формы гликогенсинтетазы в данной серии исследований более выражено, соответственно выше оказалась и доля активности J-формы по отношению к общей, при сравнении с контролем. При введении ипризида за 16 часов до начала опыта в мозге повышено также содержание норадреналина и адреналина [6]. Норадреналин и адреналин вызывают в мозге крыс значительное повышение содержания цикл. 3',5'-АМФ, как в опытах *in vivo* [8], так и в опытах *in vitro* [27]. Поэтому в последующем изучали сочетанное действие цикл. 3', 5'-АМФ и ИМАО на те же компоненты обмена гликогена. Результаты этой серии исследований сравнивали с данными опытов введения ИМАО, в которых за 15 и 30 мин соответственно до начала опыта вводили интрацистернально физиологический раствор. Опыты показали, что введение с ипризидом цикл. 3',5'-АМФ как за 15 мин, так и за 30 мин не предотвращает повышающего влияния ипризида на содержание свободной и белковой форм гликогена. При введении же цикл. 3', 5'-АМФ за 30 мин наблюдали даже потенцирование повышающего влияния ипризида на содержание белковой формы гликогена. При введении с ипризидом цикл. 3',5'-АМФ за 15 мин до начала опыта активность общей гликогенсинтетазы понижена, значительно снижена и активность ее J-формы по сравнению с опытами введения ипризида. Цикл. 3', 5'-АМФ, введенный за 30 мин, лишь несколько понижает повышенную ипризидом активность J-формы гликогенсинтетазы. Таким образом, цикл. 3', 5'-АМФ, введенный в сочетании с ипризидом, предотвращая повышающее влияние ипризида на активность общей гликогенсинтетазы и ее J-формы, не влияет на повышенное содержание свободной и белковой форм гликогена, вызванное ипризидом. Отсутствие соответствия между сдвигами в содержании гликогена мозга и изменениями в синтетаза-J-киназной активности мозга крыс было отмечено в исследованиях Гольдберга и О'Тул [11] у диабетических крыс после введения глюкозы. В регуляции содержания отдельных форм гликоге-

на мозга определенную роль играют также ферменты, участвующие в его распаде [9, 17].

В последующем изучали влияние другого ИМАО негидразинной структуры—трансамина. Введенный за 4 часа до начала опыта трансамин лишь несколько повышает содержание свободной формы гликогена и не изменяет активности изучаемых форм гликогенсинтетазы. Роджерсом [25] было выявлено понижение содержания гликогена в мозговой ткани мышей при введении трансамина. Введение цикл. 3', 5'-АМФ за 15 мин до исследования мозга в сочетании с трансаминном вызывает понижение содержания общего гликогена за счет липидной и особенно белковой формы, а за 30 мин—понижение свободной формы гликогена. Цикл. 3', 5'-АМФ, введенный в сочетании с трансаминном, за 15 мин до начала опыта вызывает понижение активности как общей, так и J-формы гликогенсинтетазы, поэтому процент активности J-формы от общей гликогенсинтетазы был неотличим при сравнении как с контрольными опытами, так и с опытами отдельного введения трансамина. При введении цикл. 3', 5'-АМФ за 30 мин до исследования мозга в сочетании с трансаминном понижена активность только J-формы гликогенсинтетазы. В результатах наших опытов выявляются определенные отличия во влиянии ипразида и трансамина на биосинтез гликогена мозга. Эти отличия сохраняются при их сочетании с цикл. 3', 5'-АМФ. Для более углубленного изучения затронутого вопроса была проведена серия исследований *in vitro*. Эти исследования подтвердили наличие в опытах *in vitro* стимулирующего влияния цикл. 3', 5'-АМФ на переход J-формы гликогенсинтетазы в D-форму фермента.

Таким образом, введение цикл. 3', 5'-АМФ за 15 мин до исследования активности фермента при сочетании с ипразидом снимает эффект повышения активности J-формы гликогенсинтетазы, индуцируемый ипразидом. Вероятно, при повышении концентрации цикл. 3', 5'-АМФ в мозге активируется активность гликогенсинтетаза-J-киназы, которая переводит J-форму в D. Это предположение хорошо согласуется с фактом понижения доли активности J-формы гликогенсинтетазы от общей. Однако введение цикл. 3', 5'-АМФ не предотвращает повышения содержания общего гликогена за счет его свободной и связанной с белками форм, вызванного ипразидом. Изучение активности D- и J-форм гликогенсинтетазы в мышечной и печеночной тканях позволило авторам заключить, что ее D-форма метаболически неактивна и только гликогенсинтетаза способна к синтезу гликогена [21, 34]. В наших опытах наличие повышенного содержания свободной и, особенно, белковой формы гликогена при пониженной активности J-формы гликогенсинтетазы позволяет заключить, что при некоторых условиях в синтезе гликогена мозга принимает участие и D-форма гликогенсинтетазы. Вместе с этим понижение содержания глюкозы в мозге при введении ипразида, выявленное нами в предыдущих исследованиях [1], может быть проявлением повышенного синтеза гликогена в мозге. Повышение свободной и белковой форм гликогена в сочетании с понижением содержания глюкозы в мозге и повышением активности общей гликогенсинтетазы в

основном за счет ее J-формы под влиянием ипразида позволяет предположить о возможной индукции биосинтеза гликогена мозга ипразидом подобно действию инсулина. Исследованиями последних лет [23, 29, 33] доказано, что инсулин в опытах *in vivo* и *in vitro* стимулирует синтез мозгового гликогена. Введение другого ИМАО-ниаламида крысам [11] повышает концентрацию инсулина в плазме крови и потенцирует инсулиногенное действие глюкозы.

Наличие потенцирующего влияния цикл. 3', 5'-АМФ на повышенное ипразидом содержание белковой формы гликогена мозга при его введении за 30 мин до начала опыта представляет, на наш взгляд, особый интерес. Результаты эти соответствуют данным об усиленном образовании цикл. 3', 5'-АМФ в срезах мозга морских свинок под влиянием трициклического антидепрессанта—дезипрамина [13].

В последние годы в механизме действия некоторых лекарственных веществ большое значение придается их влиянию на системы, контролирующие уровень цикл. 3', 5'-АМФ в тканях [7]. Получены данные относительно действия аденозина на регуляцию уровня цикл. 3', 5'-АМФ в тканях. Аденозин стимулирует накопление цикл. 3', 5'-АМФ в клетках коры мозга [12]. Стимуляция накопления цикл. 3', 5'-АМФ обусловлена повышением концентрации аденозина в экстраклеточном пространстве. Теофиллин может взаимодействовать с экстраклеточным рецептором аденозина и снимать его эффект. Каково взаимодействие психотропных веществ, цикл. 3', 5'-АМФ и аденозина в регуляции индукции ферментных реакций обмена гликогена—задача наших дальнейших исследований.

Лаборатория биосинтетических реакций мозга
Ереванского медицинского института

Поступила 11/X 1974 г.

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Յ. Մ. ՍՈՒՋՅԱՆ

ԳԼԻԿՈԳԵՆԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ, ԳԼԻԿՈԳԵՆՍԻՆԹԵՏԱԶԱՅԻ ԱԿՏԻՎՈՒԹՅՈՒՆԸ
ԳԼԻՈՒԴԵՂՈՒՄ ՑԻԿԼԻԿ 3',5'-ԱՄՖ-Ի ԵՎ ՊՍԻԽՈՏՐՈՊ ՆՅՈՒԹԵՐԻ
ԱԶԴԵՑՈՒԹՅԱՆ ԺԱՄԱՆԱԿ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ցիկլիկ 3',5'-ԱՄՖ-ի ներցիտներնալ ներմուծումը ուղեղի ուսումնասիրությունից 15 րոպե առաջ առաջ է բերում ընդհանուր գլիկոգենի քանակի իջեցում ի հաշիվ ազատ և սպիրտակուցի ու լիպիդների հետ կապված գլիկոգենի, բարձրացնում է ընդհանուր գլիկոգենսինթետազայի ակտիվությունը, որի դեպքում ցածր է նրա I ձևի ակտիվությունը: Ցիկլիկ 3',5'-ԱՄՖ-ի ներմուծումը 30 րոպե հետո իջեցնում է ընդհանուր գլիկոգենի քանակությունը ի հաշիվ նրա ազատ ձևի: Իջեցնում է նաև գլիկոգենսինթետազայի I ձևի ակտիվությունը: Ցիկլիկ 3',5'-ԱՄՖ-ի և պսիխոտրոպ նյութերի (իպրազիդ) համատեղ ներմուծումը, չկանխելով գլիկոգենի և նրա տարբեր ձևերի քանակի շատացումը,

իշեցնում է գլիկոգենսինթետազայի I ձևի ակտիվության բարձրացման էֆեկտը: Յիկլիկ 3',5'-ԱՄՖ և տրանսամինի ներմոծումը իշեցնում է գլիկոգենի և նրա տարբեր ձևերի քանակը, ինչպես նաև գլիկոգենսինթետազայի I ձևի ակտիվությունը:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Суджян Ц. М., Петросян М. С. Материалы 50-й научной сессии Ереванского мед. института, посвященной 50-летию образования СССР. Ереван, 1972, стр. 339.
2. Фельдберг В. Фармакологический подход к изучению мозга. Л., 1971.
3. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга при нормальных физиологических условиях. Гексозомонофосфатный шунт в мозгу. Ереван, 1967.
4. Хачатрян Г. С., Суджян Ц. М. Биологический журнал Армении, 1972, 8, 25, стр. 3.
5. Хачатрян Г. С., Суджян Ц. М. Вопросы мед. химии, 1973, 19, 5, стр. 539.
6. Хачатрян Г. С., Суджян Ц. М. Биологический журнал Армении, 1973, 8, 26, стр. 17.
7. Breckenridge B. M. Ann. Rev. Pharmacol., 10, 19, 1970.
8. Burkard W. P. J. Neurochem., 19, 11, 2615, 1972.
9. Flischer E. H., Graves D. J., Krebs E. G. Federat. Proc., 16, 180, 1957.
10. Gagliard J. et al. Amer. J. Physiol., 219, 2, 314, 1970.
11. Goldberg N. D., O'Toole A. G. J. Biol. Chem., 244, 3053, 1969.
12. Huang M., Daly J. W. Life Sci., 13, 3, 489, 1974.
13. Kodama T. et al. Biochem. Biophys. Acta, 252, 1, 165, 1971.
14. Kuo J., Greengard P. J. Biol. Chem., 245, 26, 4067, 1970.
15. Lefoir L., Goldemberg S. Methods in Enzymology, 5, 145, 1962.
16. Lowry O., Rosebrough N., Farr A., Randall R. J. Biol. Chem., 193, 265, 1951.
17. Madsen N. B., Cort C. F. J. Biol. Chem., 224, 899, 1957.
18. Morris D. S. Science, 107, 254, 1948.
19. Mršulja B. B. Experientia, 28, 8, 1067, 1972.
20. Neff N. H., Costa E. J. Pharmacol. Exptl. Therap., 160, 1, 49, 1969.
21. Piras R., Rothman L. B., Cabib E. Biochemistry, 7, 55, 1968.
22. Pletscher A. Pharmacol. Rev., 18, 121, 1966.
23. Prasannan K. G., Subrahmanyam K. Endocrinology, 82, 1, 1968.
24. Rall T. W., Sutherland E. W., Berthet J. J. Biol. Chem., 224, 463, 1957.
25. Rogers K. J., Hutchins D. A. European J. Pharmacol., 20, 1, 97, 1972.
26. Schmidt M., Schmidt D., Robison G. Science, 173, 4002, 1142, 1971.
27. Scolnick P. et al. J. Neurochem., 21, 1, 237, 1973.
28. Segal H. L., Sanada Y., Martin S. R. In: Metabolic Interconversion of Enzymes. Berlin, New-York, 1972.
29. Strang R. H. C., Bachslard H. S. J. Neurochem., 18, 10, 1799, 1971.
30. Sutherland E. W., Rall T. W. J. Amer. Chem. Soc., 79, 3608, 1957.
31. Sutherland E. W., Rall T. W. J. Biol. Chem., 232, 1077, 1958.
32. Villar-Palasi C. et al. In: Methods in Enzymology, 8, 382, 1966.
33. Visweswaran P., Prasannan K. G., Subrahmanyam K. J. Neurochem., 16, 1389, 1969.
34. De Wulf H., Stalmans W., Hers H. G. European J. Biochem., 6, 545, 1968.