

УДК 616.36+612.35

Э. Е. МХЕЯН, Э. А. АВАКЯН

ОБМЕН ГЛИКОГЕНА В ПЕЧЕНИ БЕЛЫХ КРЫС ПОСЛЕ
УДАЛЕНИЯ СОЛНЕЧНОГО СПЛЕТЕНИЯ

С целью обеспечения полной денервации печени удалено солнечное сплетение белых крыс. Через 1, 3, 7, 20 дней после операции изучено содержание гликогена, активность фосфорилазы и амилазы. Полученные данные показывают, что содержание гликогена заметно понижается в 1- и 20-е сутки. Изменение активности фосфорилазы носит фазный характер, активность амилазы изменяется только в 20-е сутки.

Литературные данные свидетельствуют о важной роли вегетативной иннервации в регуляции отдельных метаболических звеньев в печени. При частичной денервации печени отмечается снижение уровня тканевого дыхания срезов печени, понижение активности холинэстеразы в сыворотке крови и в печени, наблюдается заметное и затяжное нарушение белкового спектра сыворотки крови, что выражается повышением количества сывороточных глобулинов и понижением альбуминов [12, 13]. По данным К. Н. Шаныгиной [11], через три недели после неполной денервации печени активность глюкозо-6-фосфатазы в микросомах печени и специфической глюкокиназы в гиалоплазме печени падает. Активность дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата и неспецифической гексокиназы повышается. Автор показал также, что после денервации индуцирующее действие глюкозы и инсулина на глюкокиназу снимается [11]. Следует отметить, что в этих исследованиях для достижения денервации печени в основном очищали желчный проток и сосуды ворот печени, что не обеспечивало полной денервации.

С целью достижения полной денервации печени мы сочли целесообразным удалить солнечное сплетение, ганглии которого, как установлено в настоящее время, обеспечивают нервнорефлекторную взаимосвязь между отдельными органами брюшной полости [9, 10].

Изучая роль вегетативной иннервации печени в процессе адаптивного индуцирования активности триптофанпирролазы и субстратной индукции аргиназной активности, мы установили, что удаление солнечного сплетения приводит к длительному угнетению активности этих ферментов, а также их субстратной и гормональной индукции [5, 7]. Дальнейшие гистохимические исследования показали заметные сдвиги в количестве и характере накопления гликогена в печеночных клетках в различные сроки после удаления солнечного сплетения [1]. В этом сообщении приводятся данные по изучению изменения количества гликогена и активности его ферментов в печени крыс в различные сроки после ее денервации путем удаления солнечного сплетения.

Методы и результаты исследований

Опыты ставили на белых беспородных крысах обоего пола весом 120—150 г. Подопытные крысы распределялись на три группы—контрольная, денервированная, интактная. Животные контрольной группы подвергались оперативному вмешательству аналогично крысам без удаления солнечного сплетения (пробная лапаротомия). Именно такой контроль, как показали наши предыдущие исследования, дает возможность выяснить те изменения, которые характерны для денервации [7]. Операцию проводили под общим эфирным наркозом. После удаления ганглиев солнечного сплетения верхнюю часть брюшной аорты тщательно очищали и слегка обрабатывали раствором фенола. Животных всех трех групп содержали в одинаковых условиях. Печень для исследований брали через 1, 3, 7, 20-е сутки после операции. Животных умерщвляли моментально декапитацией. Быстро извлекали печень, кусочки тут же опускали в 30% КОН для определения гликогена по Зейфтеру [16]. α -амилазную активность печеночной ткани определяли по методу Смита и Роя. Фосфорилазную активность определяли по методу Кори по убыли неорганического фосфора [15]. Неорганический фосфор определяли по методу М. Н. Кондрашевой и др. [4], который имеет ряд преимуществ. Все процедуры определения ферментов до момента инкубации проводились на холоду.

Таблица 1

Изменение содержания гликогена в различные сроки после удаления солнечного сплетения (содержание гликогена выражено в $\text{мг}\%$)

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	Опыт (удаление солнечного сплетения)
$4,85 \pm 0,65$ (10)*	1	$4,89 \pm 0,55$ (10)	$1,16 \pm 0,42$ (10)
$2,5 \pm 0,40$ (10)	3	$2,51 \pm 0,40$ (10)	$2,57 \pm 0,49$ (10)
$3,88 \pm 0,54$ (10)	7	$3,69 \pm 0,88$ (10)	$4,21 \pm 0,40$ (10)
$2,8 \pm 0,6$ (10)	20	$2,4 \pm 0,15$ (10)	$1,49 \pm 0,14$ (10)
			$P=0,05$

* В скобках указано количество опытов.

В табл. 1 приведены изменения количества гликогена в печени в различные сроки после денервации и лапаротомии. Учитывая, что опыты проводились в различное время года, во избежание ошибок мы считали необходимым в один и тот же день параллельно исследовать количество гликогена, активность амилазы и фосфорилазы в печени у интактных, контрольных и подопытных животных одновременно. Как видно из табл. 1, количество гликогена в печени интактных крыс в различное время колеблется от $2,5 \pm 0,40$ до $4,85 \pm 0,65$, что соответствует литературным данным [3, 6, 8].

Пробная лапаротомия изменяет количество гликогена в печени не вызывает. Через сутки после удаления солнечного сплетения количест-

вогликогена в печени уменьшается более чем в четыре раза—от $4,85 \pm 0,65$ падает до $1,16 \pm 0,42$. На третьи и седьмые сутки после денервации гликоген в печени находится в пределах контрольных величин.

На двадцатые сутки после денервации печени количество гликогена в ней снова падает в два раза по сравнению с нормой— $1,49 \pm 0,14$ против $2,8 \pm 0,6$.

Своеобразно меняется фосфорилазная активность. Данные, приведенные в табл. 2, показывают, что фосфорилазная активность печени интактных крыс в различное время года незначительно меняется и колеблется в пределах от $19,11 \pm 2,35$ до $24,8 \pm 1,73$ мкг-атом Рн/г. В раз-

Таблица 2

Изменение активности фосфорилазы в различные сроки после удаления солнечного сплетения (активность фосфорилазы выражена в мкг-атом неорганического фосфора на 1 г ткани за час)

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	Опыт (удаление солнечного сплетения)
$19,11 \pm 2,35$ (10)	1	$23,05 \pm 4,54$ (10)	$37,06 \pm 1,47$ (10) $P < 0,001$
$20,85 \pm 1,09$ (10)	3	$22,57 \pm 1,59$ (10)	$14,51 \pm 0,4$ (10) $P < 0,001$
$24,8 \pm 1,73$ (10)	7	$27,7 \pm 2,66$ (10)	$34,17 \pm 2,1$ (10) $P < 0,01$
$22,5 \pm 3,7$ (10)	20	$22,11 \pm 1,53$ (10)	$36,25 \pm 2,49$ (10) $P = 0,01$

ные сроки после лапаротомии также статистически достоверных сдвигов в активности фосфорилазы не отмечается. Через сутки после удаления солнечного сплетения фосфорилазная активность повышается почти в два раза ($37,06 \pm 1,47$ против $19,11 \pm 2,35$ мкг-атом Рн/г в норме), на третьи сутки активность фермента заметно угнетается, что отмечается и через 20 суток после денервации.

Изменение амилазной активности приведено в табл. 3. Активность этого фермента достоверно изменяется только у подопытных животных и то через 20 суток после удаления солнечного сплетения, повышаясь на 31%.

Резкое понижение активности гликогена в печени через день после денервации коррелируется с заметным повышением фосфорилазной активности печеночной ткани. Следует отметить своеобразное возбужденное состояние постганглионарных волокон, в которых, как известно, преобладают симпатические волокна. Это может привести к повышению синтеза циклического АМФ [16, 17], что, в свою очередь, активизирует фосфорилазу. На третьи сутки понижению фосфорилазной активности сопутствует восстановление уровня гликогена. На седьмые сутки, когда дегенерация постганглионарных нервных волокон почти

Таблица 3

Изменение активности α -амилазы в различные сроки после удаления солнечного сплетения (активность амилазы выражена количеством фермента, катализирующего гидролиз 10 мг крахмала за 30 мин)

Контроль	Дни после операции	Контроль (пробная лапаротомия)	Опыт (удаление солнечного сплетения)
35,7 $\pm$ 2,0 (10)	1	31,25 $\pm$ 2,16 (10)	35,5 $\pm$ 2,14 (10)
37,45 $\pm$ 1,37 (10)	3	38,45 $\pm$ 1,90 (10)	33,75 $\pm$ 2,49 (10)
33,15 $\pm$ 1,0 (10)	7	31,55 $\pm$ 1,46 (10)	34,95 $\pm$ 3,0 (10)
32,3 $\pm$ 1,5 (10)	20	30,9 $\pm$ 1,41 (10)	42,65 $\pm$ 1,27 (10)
			P < 0,001

завершается, фосфорилазная активность по сравнению с нормой опять заметно повышается, но уровень гликогена остается в пределах нормальных величин.

Поэтому объяснить сдвиги в количестве гликогена только изменением фосфорилазной активности не представляется возможным. На 20-е сутки после удаления солнечного сплетения наряду с фосфорилазной заметно повышается и амилазная активность печеночной ткани, что сопровождается резким понижением количества гликогена в печени. Повышение активности фосфорилазы в поздние сроки после денервации, несомненно, обеспечивается другим механизмом. Следует отметить, что фосфорилаза, являясь аллостерическим ферментом, регулируется в организме сложным нейрогуморальным механизмом каскадного типа, в котором определенную роль играет количество глюкозо-6-фосфата, АТФ, ионов Ca^{++} и др. По данным нашей лаборатории, на 20-е сутки после денервации количество АТФ в печени понижается примерно в 3 раза, между тем как фосфорилазная активность повышается, что исключает роль АТФ в данном механизме.

Выводы

1. Количество гликогена в печени заметно понижается только на 1- и 20-е сутки после удаления солнечного сплетения.
2. Фосфорилазная активность печеночной ткани на 1-е сутки после денервации повышается в 2 раза, на 3-ьи сутки достоверно понижается, а затем снова повышается на длительное время.
3. Амилазная активность повышается только на 20-е сутки после удаления солнечного сплетения на 31%.
4. Пробная лапаротомия достоверных сдвигов в количестве гликогена, фосфорилазной активности печеночной ткани не вызывает.

Է. Ն. ՄԵՆՅԱՆ, Է. Ա. ԱՎԱԳՅԱՆ

ՊԼԻԿՈԳԵՆԻ ՓՈԽԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍՊԻՏԱԿ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴՈՒՄ
ԱՐԵՎԱՅԻՆ ՀԱՆԳՈՒՅՑԻ ՀԵՌԱՅՈՒՄԻՑ ՀԵՏՈ

Ա. մ. փ. ո. փ. ո. մ.

Լյարդի առանձին մետաբոլիկ օղակների վեգետատիվ իներվացիայի կարևոր դերի պարզարանմանը վերաբերվող աշխատանքները կատարված են Լյարդի մասնակի դեներվացիայի պայմաններում: Լրիվ դեներվացիայի ապահովման նպատակով, նպատակահարմար է համարվել արևային հանգույցի հեռացումը, մանավանդ, որ վերջինիս ներվահանգույցները փոխադարձ կապ են ապահովում որովայնի տարբեր օրգանների միջև:

Փորձերը կատարվել են սպիտակ առնետների վրա: Արևային հանգույցի հեռացումից 1, 3, 7, 20 օր հետո ուսումնասիրվել է գլիկոգենի քանակը Լյարդում, ֆոսֆորիլազայի և ամիլազայի ակտիվությունը: Տվյալները ցույց են տալիս, որ արևային հանգույցի հեռացումից հետո գլիկոգենի քանակը նկատելիորեն իջնում է 1-ին և 20-րդ օրերին: Ֆոսֆորիլազայի ակտիվությունը 1-ին օրը բարձրանում է 2 անգամ, 3-րդ օրը հավաստիորեն իջնում է, իսկ հետագայում երկարատև ժամանակով բարձրանում է: Ամիլազայի ակտիվությունը բարձրանում է միայն 20-րդ օրը:

Որպես ստուգիչ խումբ ծառայել են փորձնական որովայնահատման ենթարկված առնետներ, որոնց մոտ գլիկոգենի քանակության, ֆոսֆորիլազայի և ամիլազայի ակտիվության հավաստի տեղաշարժ չի նկատվել:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аветисян Л. Е. Автореферат канд. дисс. Ереван, 1970.
2. Асатиани В. С. В кн.: Биохимическая фотометрия. М., 1957, стр. 235.
3. Жихарева А. М., Докишина Г. А. Радиобиология, 1972, 12, 6, стр. 816.
4. Кондрашева М. Н., Лесозорова К. И., Школь А. М. Биохимия, 1965, 30, стр. 567.
5. Мхейан Э. Е., Аветисян Л. Е. В сб.: Научные труды Арм. Гос. заочного педагогического института, часть II. Ереван, 1967, стр. 6.
6. Мхейан Э. Е. Вопросы биохимии, Ереван, 1963, 3, стр. 11.
7. Мхейан Э. Е., Аветисян Л. Е. Биологический журнал Армении, 1969, XXII, 5, стр. 22.
8. Розенфельд Е. Л. Биохимия, 1970, 35, 3, стр. 356.
9. Скок В. Н. Физиология вегетативных ганглиев. Л., 1970.
10. Сыроматников А. В., Костромина А. П., Братусь В. В. В сб.: Центральные и периферические механизмы вегетативной нервной системы. Ереван, 1975, стр. 337.
11. Шаньгина К. Н. Вопросы медицинской химии, 1966, 12, стр. 258.
12. Шастин Р. Н., Шевелева Н. Я., Гельфонд М. Б. Труды Калининского гос. медицинского института. Калинин, 1962, 8, стр. 127.
13. Шастин Р. Н. Там же, стр. 119.
14. Khoo John C., Steinberg Daniel, Tcmpson Barbara, Mayer Steven E. J. of Biological Chemistry, 1973, 248, 3823.
15. Lowry O. H. and Lopez I. A. J. of Biological Chemistry, 1946, 162, 421.
16. Seifter S. et al. Arch. Biochemistry, 1950, 25, 91.
17. Shepherd A. Pitt, Mailman David, Burks Thomas F., Gronger Harris S. Circulat. Res., 1973, 33, 2, 166.