

УДК 616-009.2+612.122.1]615.25

ВЛИЯНИЕ ИНСУЛИНА И ПРОПРАНОЛОЛА НА ЗАХВАТ ^{14}C -ГЛЮКОЗЫ СРЕЗАМИ МОЗГОВОЙ ТКАНИ КРЫС ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ

А.Ж.Кочарян, А.С.Канаян, К.В.Мелконян

/Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци,
кафедра фармакологии/
375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: гипокинезия, захват глюкозы, инсулин, пропранолол

Ограничение двигательной активности является одним из факторов риска развития нарушений мозгового кровообращения. Результаты многочисленных исследований, посвященных этой проблеме, убедительно показывают, что изменения, вызванные гипокинезией (ГК), охватывают практически все стороны регуляции мозгового кровообращения [1,3,5]. Исследования, ранее проведенные в нашей лаборатории, свидетельствуют, что биохимические и морфологические изменения, происходящие в мозговой ткани, тесно связаны со сроком ограничения двигательной активности [2,9].

Цель данного исследования состоит в изучении некоторых сторон утилизации глюкозы нервной тканью в различные сроки ГК.

Материал и методы

Эксперименты проводились на 38 беспородных белых крысах массой 150–200 г. Животные были разделены на группы: I (10 крыс) – интактные животные, которые содержались в обычных условиях вивария; II, III, IV (соответственно 10, 10 и 8 крыс) – животные, которые находились в условиях ГК в течение 15, 30 и 45 суток. ГК вызывали помещением животных в клетки-пеналы из органического стекла, ограничивающие их двигательную активность.

Процесс захвата глюкозы срезами мозговой ткани *in vitro* изучали в различные сроки ГК, а также в присутствии инсулина и пропранолола. После декапитации животных мозг извлекали, делали срезы из области коры и гипоталамуса толщиной 0,5 мм, взвешивали и инкубировали в растворе Рингера при температуре 37°C в течение часа. В инкубационную среду добавляли 5 мкл ^{14}C -глюкозы с удельной радиоактивностью 1 мКи/мг. После инкубирования срезы извлекали, промывали несколько

раз в холодном (4°C) растворе Рингера и помещали в абсолютный спирт на ночь. Через 12 ч к пробам добавляли сцинтилятор Брея и производили количественное измерение на сцинтиляционном спектрометре. Абсолютную радиоактивность рассчитывали методом внешней стандартизации, выражали в *имп/мин/мг* ткани.

Парафиновые срезы толщиной 8 *мкм* окрашивали гематоксилином и эозином, а также тионином по Нисслю. Для выявления гликогена и гликопротеидов ставили ШИК-реакцию [4]. В эксперименте использовался кристаллический бычий инсулин с активностью 28 *ЕД/мг* (*M*=5749,5). Статистическую обработку полученных результатов проводили по *t*-тесту Стьюдента.

Результаты и обсуждение

При гистохимическом определении гликогена в нервной ткани головного мозга на 15-е сутки ГК в коре, особенно в V слое, установлено преобладание гиперхромных, пикнотичных нейроцитов, которые обладают интенсивной ШИК-позитивной реакцией. Часто обнаруживаются явления нейронофагии. Несколько возрастает по сравнению с контролем количество глиальных клеток с ШИК-позитивной реакцией цитоплазмы. В подкорковых ядрах отмечаются явления нейронофагии, нейроциты подкорковых ядер при постановке ШИК-реакции воспринимают метиловый зеленый (ШИК-негативны). В цитоплазме эпендимных клеток и эпителия сосудистых сплетений желудочков мозга выявляются зерна и глыбки гликогена. Такое увеличение содержания гликогена в цитоплазме нервных и глиальных клеток сопровождается повышением на 32,6% скорости захвата ¹⁴C-глюкозы срезами коры и на 22,1% — срезами гипоталамуса по сравнению с интактными животными (табл.1). Этот результат аналогичен увеличению захвата глюкозы мозговой тканью при стрессорном воздействии, а также при нарушениях питания мозговой ткани [10,12,14].

При более продолжительном пребывании в условиях гипокинезии (30 суток) во всех слоях коры доминируют пикноморфные нейроциты. Нередко в коре, особенно в V слое, обнаруживаются участки запустения, т.е. отсутствие нейроцитов на разрозненных ограниченных участках. При этом нейроциты и глиальные элементы коры не содержат ШИК-положительного материала в отличие от предыдущего срока наблюдения. Цитоплазма нейроцитов гипоталамических и базальных ядер по-прежнему обладает ШИК-негативной реакцией. Здесь часто замечается периферический хроматолиз и нейронофагия. В эпителии сосудистых сплетений интенсивность ШИК-реакции снижена. Из цитоплазмы эпендимных клеток, в отличие от предыдущего срока эксперимента, исчезают зерна и гранулы гликогена.

Спустя 45 дней после начала ограничения двигательной активности в коре ослабевают ишемически-гомогенизирующие изменения нейроцитов, встречаются лишь единичные гиперхромные пикнотичные нейроци-

ты. Повсеместно в коре и подкорковых образованиях в цитоплазме ШИК-реакция отрицательная. Из цитоплазмы эпителиальных клеток сосудистых сплетений и эпендимных клеток гликоген полностью исчезает.

Таблица 1

Влияние гипокинезии на захват ^{14}C -глюкозы мозговой тканью крыс (имп/мин/мг ткани)

Срезы мозга	Интактные крысы	Гипокинезия		
		15 суток	30 суток	45 суток
Кора	18,44±0,12	24,41±2,34*	15,93±2,69**	11,03±2,01*
Гипоталамус	16,27±1,16	19,87±0,78*	14,45±1,23**	12,65±0,48*

* - $p < 0,05$, ** - $p > 0,05$

Дальнейшее изучение процесса захвата ^{14}C -глюкозы срезами мозга показало, что начиная с тридцатых суток ГК как захват, так и содержание гликогена прогрессивно снижается (табл.1). Следует указать, что подобные данные были получены в нашей лаборатории ранее при изучении утилизации глюкозы мозговой тканью в условиях *in vivo* [1]. Можно предположить, что увеличение длительности ограничения двигательной активности сопровождается нарушением активности ряда ферментов, ответственных за углеводный и энергетический обмен мозговой ткани, и истощением компенсаторных механизмов [6,7]. Интерпретируя эти результаты, можно провести гипотетическую аналогию между нарушением захвата глюкозы в поздние сроки гипокинезии и заболеваниями, которые сопровождаются хронической ишемией мозговой ткани [8,11,13].

Таблица 2

Изменение захвата ^{14}C -глюкозы мозговой тканью крыс под действием инсулина (0,1 мкМ) и пропранолола (10 мкМ) в различные сроки гипокинезии (имп/мин/мг ткани)

Препарат	Срезы мозга	Интактные крысы	Гипокинезия		
			15 суток	30 суток	45 суток
Инсулин	кора	39,21±5,42* (+112,6%)	54,67±6,13** (+123,9%)	30,09±3,32* (+88,9%)	19,8±4,15* (+79,5%)
	гипоталамус	34,85±4,77* (+114,2%)	43,32±8,21** (+118%)	28,49±1,92* (+97,2%)	23,31±9,57** (+84,3%)
Пропранолол	кора	20,73±3,06** (+12,4%)	28,27±2,73** (+15,8%)	10,26±1,47** (-35,6%)	6,39±0,16* (-42,1%)

* - $p < 0,05$, ** - $p > 0,05$

Для объяснения некоторых механизмов происходящих изменений углеводного обмена нами была проведена серия экспериментов *in vitro* по

изучению влияния инсулина на скорость утилизации глюкозы срезами головного мозга крыс в условиях гипокинезии.

Известно, что процесс утилизации глюкозы мозговой тканью регулируется в первую очередь инсулином посредством различных транспортных систем. Изучение влияния инсулина на процесс захвата ^{14}C -глюкозы срезами коры и гипоталамуса мозга крыс показало, что предварительное добавление инсулина в концентрации $0,1 \text{ мкМ}$ в инкубационную среду со срезами мозга интактных крыс приводит к увеличению показателей (табл. 2). Как видно из данных табл. 2, 15-суточное ограничение двигательной активности не приводит к существенному изменению влияния инсулина на захват глюкозы срезами мозга. Однако при более длительной ГК происходит снижение способности тканей мозга к захвату ^{14}C -глюкозы из инкубационной среды. Необходимо указать, что для каждого срока контрольными принимались соответствующие результаты, полученные при изучении захвата глюкозы без добавления инсулина в инкубационную среду (табл.1).

При добавлении в инкубационную среду 10 мкМ пропранолола (табл.2) у интактных крыс, а также в ранние сроки ГК несколько (статистически недостоверно) усиливается процесс захвата ^{14}C -глюкозы срезами коры. В поздние же сроки ГК под воздействием пропранолола происходит резкое уменьшение захвата глюкозы.

Таким образом, длительное ограничение двигательной активности приводит к нарушению процессов утилизации глюкозы мозговой тканью, по всей вероятности, в результате нарушения кровоснабжения и тотальной гипоксии мозга и лежит в основе грубых, часто необратимых, его повреждений.

Поступила 02.11.97

**ԻՆՍՈՒԼԻՆԻ ԵՎ ՊՐՈՊՐԱՆՈԼՈԼԻ ԱԶԳԵՅՈՒԹՅՈՒՆԸ
 ^{14}C -ԳԼՅՈՒԿՈԶԱՅԻ ԶԱՎԹՄԱՆ ՎՐԱ ԱՌՆԵՏՆԵՐԻ ՈՒՂԵՂԱՅԻՆ
ՀՅՈՒՄԱԿԱՑՔԻ ԿՏՐՎԱԾՔՆԵՐԻ ԿՈՂՄԻՑ ՀԻՊՈԿԻՆԵԶԻԱՅԻ
ՊԱՅՄԱՆՆԵՐՈՒՄ**

Ա.Ժ.Քոչարյան, Ա.Ս.Կանայան, Կ.Վ.Մելքոնյան

Հիպոկլինեզիայի պայմաններում գտվող առնետների մոտ 15-ից - 45-րդ օրերին բացահայտված է գլխուղեղի կեղևի եւ հիպոթալամուսի կողմից ^{14}C -գլյուկոզայի զավթման ունակության փոփոխություն: Նկատվում է նշակվող գլյուկոզայի զավթման ընկճում ուղեղային հյուսվածքի կողմից տեսական հիպոկլինեզիայի պայմաններում, ինչը զուգորդվում է ՇԻԿ-ռեակցիայի ակտիվության իջեցմամբ գլխայում: Ինկուբացիոն միջավայրին 1 մկՄ ինսուլինի ավելացումը բացահայտում է հյուսվածքների զգայունության իջեցում ինսուլինի նկատմամբ: Հայտնաբերված է նաեւ, որ ինկուբացիոն միջավայրին 10 մկՄ պրոպրանոլոլի ավելացումը բերում է տեսակա՞ հիպոկլինեզիայի պայմաններում գտնվող առնետների ուղեղային հյուսվածքի կողմից գլյուկոզայի զավթման կտրուկ իջեցմանը:

THE INFLUENCE OF INSULIN AND PROPRANOLOL ON ^{14}C -GLUCOSE UPTAKE
BY THE SLICES OF RAT BRAIN TISSUE UNDER HYPOKINESIA

A.G.Kocharian, A.S.Kanayan, K.V.Melkonian

Alteration of the ability of the brain cortex and hypothalamus to uptake ^{14}C -glucose *in vitro* on the 15th–45th days of hypokinesia has been established. Inhibition of the marked glucose uptake in condition of prolonged hypokinesia has been observed. Addition of 1 *mkM* of insulin to incubation solution reveals a decrease of the brain tissue sensitivity to insulin.

It has been also revealed that addition of 10 *mkM* of propranolol to incubation solution results in an acute decrease of glucose uptake by the rat brain tissue in prolonged hypokinesia condition.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян В.П., Канаян А.С., Геворкян Г.А., Мелконян К.В. Фармакол. и токсикол., 1993, 5, с. 8.
2. Акопян В.П., Кочарян А. Ж. Экспер. и клин. мед. НАН РА, 1993, 1–2, с.85.
3. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. Гипокинезия. М., 1980.
4. Лили Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М., 1969.
5. Лобзин В.С., Михайленко А.А., Панов А.Г. Клиническая нейрофизиология и патология гипокинезии. Л., 1979.
6. Тигранян Р.А. Метаболические аспекты проблемы стресса в космическом полете. М., 1985.
7. Федоров И.В. В сб.: Изменения метаболизма у животных при гипокинезии. Ярославль, 1984.
8. Beck T., Goller H.J., Wree A. Stroke, 1995, 26(6), p. 1107.
9. Hakopian V.P., Yedigaryova L.V., Manukian A.A., Kocharian A.G. 1st European Congr. of Pharmacology, J. Pharm. Research, Milan, Italy, 1995, p.273.
10. LeBlanc M.H., Huang M., Patel D., Smith E.E., Devidas M. Stroke, 1994, 25(7), p. 1443.
11. Sano M., Ishii K., Momose Y., Uchigata M., Senda M. Acta Neurol. Scand., 1995, 92(6), p. 497.
12. Shima K., Umezawa H., Chigasaki H., Okuyama S., Araki H. Neurol. Res., 1994, 16(4), p. 289.
13. Tsuchiya M., Sako K., Yura S., Yonemasu Y. Exp. Brain. Res., 1993, 95(1), p. 1.
14. Vannucci S.J., Seaman L.B., Vannucci R.C. J. Cereb. Blood Flow Metab., 1996, 16(1), p. 77.