

**УТИЛИЗАЦИЯ ^{14}C -ГЛЮКОЗЫ В ТКАНИ МОЗГА И СЕРДЦА ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СИНДРОМЕ ДЛИТЕЛЬНОГО РАЗДАВЛИВАНИЯ**

Г.А.Геворкян, Г.Л. Марухян, Л.Н. Аракелян, В.А. Кнарян,
Г.Г.Марикиан, А.Г.Геворкян

*/Институт биохимии им. Г.Бунятыана НАН РА/
Ереван 375014, ул. П.Севака, 5/1*

Ключевые слова: синдром длительного раздавливания, мозг, сердце, глюкоза, утилизация

Синдром длительного раздавливания (СДР) отличается высокой летальностью. Наиболее характерными повреждениями при СДР являются острая сердечно-сосудистая недостаточность, значительный выброс катехоламинов в кровяное русло, более чем двукратное повышение уровня глюкозы в крови с незначительным сдвигом ее содержания в моче [2].

В ранее опубликованных нами работах по изучению скорости синтеза белка в различных органах и субклеточных образованиях описаны изменения, происходящие в белоксинтезирующей системе и указывающие на состояние мембран ультраструктурных компонентов клетки [1,3]. Принимая во внимание результаты клинических анализов пострадавших при землетрясении с патогенезом СДР, в которых выявлен высокий уровень глюкозы в крови, снижение концентрации ионов K^+ и, наоборот, повышение Ca^{2+} , нами был изучен уровень утилизации ^{14}C -глюкозы в срезах некоторых органов белых крыс. Учитывая факт снижения концентрации K^+ в клетках, а также его роль в регуляции уровня утилизации глюкозы [5] в развитии сердечной патологии, нами были проведены исследования по изучению влияния различных концентраций эндогенно добавленного K^+ на процесс утилизации глюкозы. Следует особо отметить, что все исследования проводились при эндогенно повышенной концентрации катехоламинов, обусловленной шоком и стрессом, что оказывает заметное влияние на уровень глюкозы в клетке [6,7].

Материал и методы

Эксперименты проводились in мйбеспородных крысах-самцах
массой 180–200 г. В эксперименте было использовано 98 крыс. Экспериментальную модель СДР вызывали путем сдавливания бедренной мышцы на специальной установке с силой давления $100 \text{ кг}\cdot\text{кг}^{-1}$ массы животного продолжительностью 2 и 5 ч. Животные были разделены на группы: I – интактная, II – контрольная (животные с 2- и 5-часовой компрессией) и III – опытная – через 2, 24 и 48 ч декомпрессии. Были исследованы большие полушария мозга.

После декапитации животных извлеченные органы перфузировали 0,15М КСl и готовили кашицу путем продавливания ткани через специальное приспособление с микроотверстиями. Определенное количество кашицы переносили в специальные герметично закрываемые инкубационные флаконы с центральным отверстием на крышке, снабженной резиновой прокладкой, обеспечивающей герметичность. Флакон снабжен также центральной изолированной воронкой, куда вносили 100 мкл фенилэтиламина для поглощения $^{14}\text{CO}_2$. Затем во флакон добавляли инкубационную среду, состоящую из 0,05М Трис буфера и содержащую в ммоль конечной концентрации: MgCl_2 — 0,01; K_2HPO_4 — 0,1; АТФ — 3,1 мг на пробу. Концентрация добавленного в инкубационную среду K^+ составляла в конечной концентрации образцов 5,6; 28 и 56 мМ [5]. После всех добавок во флакон вносили 1 мкКи $^{14}\text{C}[\text{U}]$ -глюкозы с удельной радиоактивностью 260 мкКи-ммоль $^{-1}$. Инкубирование проводили в герметически закрытых флаконах при 37°C в течение 60 мин. Реакцию выделения $^{14}\text{CO}_2$ останавливали путем впрыскивания через центральное отверстие на крышке флакона 1 мл 2N хлорной кислоты. Пробы оставляли 5–10 мин, т.к. хлорная кислота способствует также выделению из инкубационной среды растворенных в ней во время инкубации первых порций $^{14}\text{CO}_2$. Данная методика была разработана в лаборатории радиоизотопных методов Института биохимии НАН РА под руководством докт. биол. наук Г.А. Геворкяна. После инкубации флаконы разгерметизировали, а фенилэтиламин из центральной воронки переносили во флаконы для счета радиоактивности, воронку дважды промывали спиртом. Радиоактивность определялась в среде жидкого сцинтиллятора на основе диоксана на сцинтилляционном спектрометре SL-4221 (Roche Bioelectronique Kontron, France) с эффективностью счета 90% по ^{14}C . Данные выражали в имп-мин $^{-1}$ -мг $^{-1}$ свежей ткани. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке по t критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Полученные данные, представленные в табл. 1, показывают, что после 2 ч компрессии уровень утилизации глюкозы в ткани полушарий мозга белых крыс возрастает на 180%. Через 2 ч декомпрессии эта величина составляет лишь 28% от уровня утилизации при 2-часовой компрессии, через 24 ч почти удваивается и резко повышается через 48 ч (на 281% по сравнению с интактными животными и на 36% по сравнению с 2-часовой компрессией). Принимая во внимание факт снижения концентрации ионов К в тканях животных с СДР, в последующем в инкубационную среду мы добавляли различные концентрации K^+ . Были получены следующие данные: добавление 5,6 мМ K^+ к образцам интактной ткани полушарий мозга привело к усилению уровня утилизации глюкозы на 64%, при 28 мМ K^+ — на 376% и при 56 мМ K^+ — на 70% (табл. 1). Следовательно, для максимальной величины утилизации глюкозы в интактном мозге необходима концентрация K^+ , равная 28 мМ. После 2-часовой компрессии при концентрации K^+ 5,6 мМ уровень утилизации глюкозы активируется на 51% по сравнению с бескальевой средой инкубирования. Дальнейшее увеличение концентрации K^+ до 28 и 56 мМ снижает уровень утилизации глюкозы до уровня при СДР. Через 2 ч декомпрессии прослеживается резкое ингибирование уровня утилизации глюкозы во всех изученных образцах. Экзогенно добавленный K^+ лишь незначительно усиливает этот процесс. Однако через 24 ч декомпрессии

наблюдается удвоение скорости утилизации глюкозы по сравнению с 2 ч в бескальциевой среде и значительное активирование этого процесса при концентрации K^+ 28 и 56 мМ (на 34 и 38% соответственно). Максимальная скорость утилизации глюкозы в ткани мозга при СДР приходится на срок 48 ч после декомпрессии, что составляет 282% по сравнению с интактным уровнем, который изменяется недостоверно после добавления 5,6 и 28 мМ K^+ и увеличивается на 29,2% по сравнению с бескальциевой средой (табл. 1).

Таблица 1

Утилизация ^{14}C -глюкозы в мозге после 2-часовой компрессии в различные периоды декомпрессии

Концентрация $[K^+]$ в мМ	Интактные животные	Контроль	Периоды декомпрессии		
			2 ч	24 ч	48 ч
Бескальциевая среда	825 ± 24 (2)	2311 ± 158 *P < 0,005 (3)	631 ± 4,4 *P < 0,025 **P < 0,01 (2)	1184 ± 7,2 *P < 0,025 **P < 0,01 (3)	3148 ± 249 *P < 0,005 **P < 0,05 (3)
5,6	1353 ± 54 (2)	3493 ± 247 *P < 0,005 (3)	717 ± 53 *P < 0,005 **P < 0,001 (4)	1101 ± 30 *P < 0,025 **P < 0,005 (3)	3359 ± 279 *P < 0,01 (2)
28	3925 ± 309 (3)	2526 ± 82 *P < 0,05 (3)	731 ± 26 *P < 0,001 **P < 0,001 (5)	1589 ± 134 *P < 0,01 **P < 0,025 (2)	3574 ± 177 **P < 0,05 (2)
56	1401 ± 36 (3)	2663 ± 51 *P < 0,001 (3)	707 ± 56 *P < 0,001 **P < 0,001 (4)	1628 ± 135 *P < 0,005 (4)	4067 ± 91 *P < 0,005 **P < 0,01 (2)

Здесь и в табл. 2, 3, 4: *P — достоверность по сравнению с интактными; **P — достоверность по сравнению с контролем; в скобках — число опытов

Идентично с 2-часовой компрессией протекает утилизация глюкозы в полушариях мозга при 5-часовой компрессии (табл. 2), однако активация утилизации глюкозы при концентрации K^+ 5,6 мМ не столь выразительна, как при 2-часовой компрессии. Через 2 ч декомпрессии, как и в предыдущем случае, уровень утилизации значительно снижается как с K^+ , так и без него. Через 24 ч декомпрессии после 5-часовой компрессии зарегистрирована самая низкая активность утилизации в бескальциевой среде с незначительным активированием при различных концентрациях добавленного K^+ с сохранением подобного рода изменений после 48 ч декомпрессии.

При изучении уровня утилизации глюкозы в миокарде интактных животных было зарегистрировано линейное активирование от бескальциевой среды до концентрации K^+ 56 мМ. При 2-часовой компрессии активность утилизации глюкозы заметно повышается как в бескальциевой среде, так и при концентрации K^+ 5,6 мМ (соответственно на 201 и 173%). Несмотря на активирование утилизации глюкозы при концентрации K^+ 28 и 56 мМ, она заметно уступает уровню утилизации у интактных животных (табл. 3). Спустя 2 ч после компрессии зарегистрировано резкое подавление уровня утилизации глюкозы в бескальциевой среде, а также при остальных концентрациях экзогенно добавленного K^+ . В дальнейшем

этот процесс в бескальцевой среде активируется и через 24 ч декомпрессии достоверно повышается (37,5%), а через 48 ч повышение составляет 159% от интактного уровня. Через 48 ч декомпрессии наблюдается общая активация процесса утилизации глюкозы, однако наивысшая активация наблюдается при концентрации 56 мМ К^+ .

Таблица 2

Утилизация ^{14}C -глюкозы в мозге после 5-часовой компрессии в различные периоды декомпрессии

Концентрация $[\text{K}^+]$ в мМ	Интактные животные	Контроль	Периоды декомпрессии		
			2 ч	24 ч	48 ч
Бескальцевая среда	825 ± 24 (2)	2120 ± 129 *P < 0,01 (2)	719 ± 52 **P < 0,005 (3)	584 ± 48 *P < 0,025 **P < 0,001 (4)	723 ± 40 **P < 0,005 (3)
5,6	1353 ± 54 (2)	2588 ± 116 *P < 0,005 (3)	912 ± 30 *P < 0,005 **P < 0,001 (4)	601 ± 35 *P < 0,001 **P < 0,001 (2)	655 ± 37 *P < 0,001 **P < 0,001 (2)
28	3925 ± 309 (3)	2387 ± 146 *P < 0,025 (3)	674 ± 39 *P < 0,001 **P < 0,001 (4)	779 ± 46 *P < 0,001 **P < 0,001 (4)	676 ± 66 *P < 0,001 **P < 0,001 (3)
56	1401 ± 36 (3)	2110 ± 129 *P < 0,025 (3)	770 ± 48 *P < 0,005 **P < 0,001 (4)	758 ± 29 *P < 0,005 **P < 0,001 (4)	819 ± 47 *P < 0,005 **P < 0,001 (3)

Таблица 3

Утилизация ^{14}C -глюкозы в миокарде после 2-часовой компрессии в различные периоды декомпрессии

Концентрация $[\text{K}^+]$ в мМ	Интактные животные	Контроль	Периоды декомпрессии		
			2 ч	24 ч	48 ч
Бескальцевая среда	686 ± 41 (3)	2067 ± 54 *P < 0,001 (2)	790 ± 30 **P < 0,001 (3)	943 ± 55 *P < 0,05 **P < 0,001 (2)	1774 ± 137 **P < 0,005 (3)
5,6	820 ± 26 (3)	2240 ± 135 *P < 0,005 (3)	996 ± 70 **P < 0,005 (3)	1362 ± 115 *P < 0,025 **P < 0,025 (3)	2249 ± 42 *P < 0,001 (3)
28	2872 ± 128 (3)	2542 ± 20 (2)	950 ± 53 *P < 0,001 **P < 0,001 (3)	1415 ± 117 *P < 0,005 **P < 0,001 (4)	2823 ± 67 (3)
56	4157 ± 359 (3)	3057 ± 147 (3)	873 ± 83 *P < 0,005 **P < 0,001 (3)	2388 ± 221 *P < 0,025 (3)	4923 ± 262 **P < 0,01 (3)

При 5-часовой компрессии уровень утилизации глюкозы в миокарде контрольных животных низкий по сравнению с 2-часовой компрессией как в бескальевой среде, так и при концентрации K^+ 5,6 мМ (табл. 4). Однако 28 мМ K^+ активизирует утилизацию глюкозы при 5-часовой компрессии на 204% (по сравнению с бескальевой средой) и 685% (по сравнению с интактной группой животных). Декомпрессия в течение 2 ч сопровождается значительным подавлением утилизации глюкозы: незначительно усиливается через 24 ч, а через 48 ч претерпевает резкое активирование (при 28 мМ K^+ — на 295% и при 56 мМ K^+ — на 358% по сравнению с бескальевой средой).

Таблица 4

Утилизация ^{14}C -глюкозы в миокарде после 5-часовой компрессии в различные периоды декомпрессии

Концентрация $[K^+]$ в мМ	Интактные животные	Контроль	Периоды декомпрессии		
			2 ч	24 ч	48 ч
Бескальевая среда	686 ± 41 (3)	1772 ± 109 *P < 0,01 (2)	829 ± 64 **P < 0,005 (3)	786 ± 25 **P < 0,005 (2)	823 ± 51 **P < 0,005 (3)
5,6	820 ± 26 (3)	2093 ± 144 *P < 0,005 (3)	485 ± 20 *P < 0,005 **P < 0,001 (3)	512 ± 37 *P < 0,01 **P < 0,001 (3)	671 ± 14 *P < 0,025 **P < 0,001 (3)
28	2872 ± 128 (3)	5386 ± 287 *P < 0,005 (3)	499 ± 14 *P < 0,001 **P < 0,001 (3)	625 ± 25 *P < 0,001 **P < 0,001 (2)	3250 ± 49 **P < 0,005 (2)
56	4157 ± 359 (3)	3811 ± 199 (4)	683 ± 39 *P < 0,001 **P < 0,001 (3)	835 ± 35 *P < 0,001 **P < 0,001 (3)	3766 ± 180 (2)

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что ионы К обладают активирующим действием на уровень утилизации глюкозы в полушариях мозга интактных животных. Столь значительное активирование при концентрации K^+ 28 мМ (на 376%), не свойственное нормальному физиологическому состоянию мозга, свидетельствует о наличии запасных резервов организма, включающихся при экстремальных состояниях.

Многочисленными исследованиями показано, что стресс, шок и другие экстремальные состояния организма различной природы сопровождаются выбросом высоких концентраций катехоламинов в кровь и их накоплением в тканях, способных стимулировать транспорт глюкозы путем увеличения функционального действия переносчика глюкозы GLUT1 активированием цАМФ-зависимого механизма [4,7]. Одновременно при СДР имеет место снижение цитоплазматической и митохондриальной белоксинтезирующей активности [2], сопровождающейся энергетическим дефицитом аэробной природы и индуцирующим гликолитический путь образования энергии. Период декомпрессии характеризуется общей интоксикацией организма, чем и объясняется высокий процент летальности потерпевших при катастрофах.

Поступила 01.02.00

**¹⁴C-ԳԼՅՈՒԿՈԶԻ ԶՈՒՐԱՅՈՒՄԸ ՈՂԵՂՈՒՄ ԵՎ ՍՐՏԱՍԿԱՆՈՒՄ
ՓՈՐՇԱՐԱՐԱՆԿԱՆ ԵՐԿԱՐԱՏԵՎ ՃԶՄՄԱՆ ՀԱՄԱԽԱՏԱՆԻՇԻ ԺԱՄԱՆԱԿ**

**Գ.Ա.Գևորգյան, Գ.Լ.Մարուխյան, Լ.Ն.Արակյան, Վ.Հ.Զևարյան,
Գ.Գ.Մարիկյան, Ա.Գ.Գևորգյան**

Երկարատև ճգնման համախտանիշը աչքի է ընկնում քարձր մահացությանը: Առավել խոցելի օղակներ են հանդիսանում սրտանոթային անբավարարությունը, կառնիսում ինքնի պրոպագատումը արյան մեջ և այլն: Երկարատև ճգնման համախտանիշը ուղեկցվում է արյան մեջ գլյուկոզի մակարդակի կրկնակի բարձրացումով և նրա քանակի աննշան տեղաշարժով մեզի մեջ: Հետազոտվել է ¹⁴C-գլյուկոզի օքսիդացման արագությունը սպիտակ առնետների ուղեղի և սրտի ենթաֆրակցիաներում 2 և 5 ժամ ճգնման, ինչպես նաև 2, 24 և 48 ժամ հետճգնման ժամանակ:

Սրտաքին ավելացված կալիումի տարրեր քանակները յուրաքանչյուր ¹⁴C-գլյուկոզի օքսիդացման մակարդակի վրա ուղեղում և սրտամկանում:

Ստացված արդյունքները բացահայտում են տարրեր աստիճանի վնասվածքներ ինչպես ճգնման, այնպես էլ հետճգնման ժամանակահատվածներում:

Առանձնահատուկ պետք է նշել հետճգնման ժամանակահատվածում էներգետիկ փոխանակման մեջ գլյուկոզի ներգրավումը:

**UTILIZATION OF ¹⁴C-GLUCOSE IN BRAIN AND HEART DURING EXPERIMENTAL
CRUSH-SYNDROME**

**G.A. Kevorkian, G.L. Maroukhyan, L.N. Arakelyan, V.H. Knaryan,
G.G. Marikyan, A.G. Guevorkian**

Crush-syndrome is characterized by a high lethality. The most defective links are acute cardiovascular insufficiency, considerable ejection of catecholamins in blood flow and others. Crush-syndrome is accompanied by more than two-fold rise of the level of glucose in blood with minor shift of its amount in urine. The speed of utilization of ¹⁴C-glucose in subfractions of the brain and heart of white rats during 2 and 5 hrs compression and 2, 24 and 48 hrs after it was studied. Addition of different quantities of K⁺ had a peculiar effect on the level of ¹⁴C-glucose oxidation in brain and myocardium. The results obtained demonstrate affections of different degrees under compression as well as after it.

It should be noted also the involvement of glucose in the energetic metabolism during post-compression period.

ЛИТЕРАТУРА

1. Գևորգյան Գ.Ա., Խաչատրյան Գ.Փ., Բարսեղյան Ժ.Լ. և ծր. Մեդ.նաւա Արմենիւ, 2000, Վ թատի.
2. Կազարյան Գ.Ա., Խաչատրյան Տ.Ա., Արուտյոնյան Վ.Մ. և ծր. Մատեր. սիմպոզիւմա "Մեդ. աւեկտս քոսեդստւիյի շեմլեդրասենյա Վ Արմենիւ". Երեւան, 1998, Տ. 120.
3. Խաչատրյան Գ.Փ., Գեւորգյան Ա.Գ., Բարսեղյան Ժ.Լ., Գեւորգյան Գ.Ա. Մեդ.նաւա Արմենիւ, 1999, 4, Տ. 37.
4. Baldwin S.A., Barros L.F., Griffiths M. et al. Biochem. Soc. Trans., 1997, 25(3), p. 954.
5. Gotoh J., Nakaj Y., Shiraisi-Gotoh H. et al. J. of Neurochem., 1997, 69, s. 245.
6. Rubinstein I., Abassi Z., Coleman R. et al. J. Clin. Invest., 1998, 101(6), p. 1325.
7. Shimizu Y., Satoh S., Yano H. et al. Biochem. J., 1998, 15(330), (Pt. 1), p. 397.