

## Специфика функциональной активности ферментов метаболизма гликогена в биологических системах белых крыс с сахарным диабетом, моделированным аллоксаном

К.Г. Карагезян, О.К. Бдоян, А.В. Казарян, С.С. Овакимян

*Институт молекулярной биологии НАН РА, Медицинский центр "Сурб Аствацамайр"  
375014, Ереван, ул. Асратяна, 7*

**Ключевые слова:** сахарный диабет, тиосульфат натрия, альфа-токоферол, гликоген-фосфорилаза, фосфопротеинфосфатаза, гексокиназа, инсулиновая гипогликемия

Регуляторные механизмы ферментных систем метаболизма гликогена, их роль при сахарном диабете (СД) и при различной степени выраженности инсулиновой гипогликемии (ИГ) до сих пор недостаточно изучены. Особого внимания заслуживают функциональные изменения активностей гликогенфосфорилазы (ГФазы), фосфопротеинфосфатазы (ФПФазы) и гексокиназы (ГКазы) в скелетной мышце, миокардиальной, печеночной, почечной тканях, цельной крови и мембранах эритроцитов (МЭ). Выявление стабильно повторяющихся закономерностей в сдвигах активностей отмеченных ферментных систем углеводного обмена послужит формированию принципиально нового осмысления роли депонированных углеводов (гликогена) в своевременном их подключении в регуляторные системы энергетического обмена на различных стадиях развития СД.

(angulus venosus), образованного в месте слияния подключичной и верхнеполой вен. При смешении притекающей в шприц крови с заранее забранным в него раствором известной концентрации стабилизатора строго придерживались соблюдения их объемных соотношений в пределах 9:1. Отделение эритроцитарной массы осуществляли центрифугированием при 6000 об/мин в течение 10–15 мин для последующего ее использования на предмет получения МЭ методом гипотонического шока в условиях рефрижератора в течение 24 ч. Отделение образовавшихся МЭ производили с помощью рефрижераторного центрифугирования в виде плотного хлопьевидного осадка.

Изолирование исследованных тканей, их освобождение от оболочек, капсул и кровеносных сосудов производили в предельно короткие промежутки времени в условиях холодильной комнаты.

### Материал и методы

Исследования проводили на 80 беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Моделирование СД производили внутрибрюшинным введением аллоксана из расчета 15 мг/100 г массы тела. Умерщвление животных осуществляли под легким эфирным наркозом на 20–25 день после инъекции аллоксана на фоне установления стойкой картины ИГ. Определение активности тотальной ГФазы производили на основании интенсивности течения реакций синтеза гликогена по методу Иллингтона-Кюри [17], ФПФазы – по Файнштейну и Фолку [17] при использовании казеина в качестве субстрата, а ГКазы – по Саласу и соавт. [17]. Стабилизированную на оксалате, цитрате или гепарине цельную кровь забирали с помощью одноразовых шприцов проколом по биссектрисе венозного угла

### Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований, отраженные в таблице, свидетельствуют о заметном активировании ГФазы в скелетной мышце, миокарде, цельной крови и МЭ при одновременном ее ингибировании в печеночной и почечной тканях. Что касается изменений активностей ФПФазы и ГКазы, то во всех исследованных биологических объектах подопытных животных с ИГ отмечается их заметное статистически достоверное ингибирование с наибольшей степенью выраженности в миокардиальной ткани. Учитывая патогенетическую роль оксидативного стресса, как важнейшего фактора в формировании структурно-функциональных и метаболических нарушений при различных экстремальных и болезненных состояниях организма в том числе ИГ, и принимая во внимание особое значение при этом активирования процессов

прооксидантного действия, мы остановили наш выбор на специальном изучении особенностей действия на этом фоне тиосульфата натрия (ТСН) как признанного фактора, выступающего в роли синергиста эндогенного альфа-токоферола ( $\alpha$ -Т).

Согласно данным научной литературы [12–16], медленно протекающее в животных тканях расщепле-

ние ТСН, как натриевой соли тиосерной кислоты, сопровождается выделением элементарной серы и сульфата с установлением стойкой слабощелочной реакции среды. По некоторым наблюдениям [16], в процессе образования роданатов, являющихся мощными детонаторами серы, ТСН оказывается более чем 1000 крат эффективнее цистеина и цистина. Примеча-

Таблицы

*Динамика изменений (в % от контроля) активностей гликогенфосфорилазы (ГФаза), фосфопротеинфосфатазы (ФПФаза), гексокиназы (ГКаза) в скелетной мышце, печени, миокарде, почках, цельной крови и мембранах эритроцитов при 20-дневном сахарном диабете белых крыс, моделированном аллоксаном, и эффекты сверхнизких доз тиосульфата натрия различной продолжительности действия (5–20 дней)*

Показатели	Диабет	% разницы от контроля	Диабет+ТСН (5 дней)	% разницы от контроля	Диабет+ТСН (10 дней)	% разницы от контроля	Диабет +ТСН (15 дней)	% разницы от контроля	Диабет+ТСН (20 дней)	% разницы от контроля
<b>Скелетная мышца</b>										
ГФаза	165,0±1,1*	+65	151,0±1,3*	+51,0	140,0±1,5*	+40,0	129,0±1,3*	+29,0	117,0±1,1*	+17,0
ФПФаза	75,0±2,1*	-25	81,0±1,9*	-19,0	87,0±2,0*	-13,0	93,0±1,7**	-7,0	97,0±1,9***	-3,0
ГКаза	77,0±1,7*	-23	86,0±1,5**	14,0	89,0±1,6**	-11,0	91,0±1,4***	-9,0	99,0±1,5***	-1,0
<b>Печень</b>										
ГФаза	51,0±1,1*	-49	57,0±1,3*	-43,0	63,0±1,7*	-37,0	82,0±1,7**	-18,0	91,0±1,3*	-9,0
ФПФаза	8,0±1,4*	-32	73,0±1,9*	-27,0	79,0±1,5*	-21,0	88,0±1,5**	-12,0	96,0±1,9***	-4,0
ГКаза	61,0±1,3*	-39	76,0±1,6*	-24,0	81,0±1,6*	-19,0	89,0±1,6***	-11,0	93,0±1,5***	-7,0
<b>Миокард</b>										
ГФаза	177,0±1,3*	+77,0	169,0±1,5*	+69,0	158,0±1,6*	+58,0	141,0±1,8*	+41,0	129,0±1,3*	+29,0
ФПФаза	59,0±1,9*	-41,0	68,0±1,9*	-32,0	79,0±1,9*	-21,0	87,0±1,5**	-13,0	94,0±1,9***	-6,0
ГКаза	52,0±1,8*	-48,0	71,0±1,7*	-29,0	82,0±1,7**	-18,0	89,0±1,6***	-11,0	97,0±1,7***	-3,0
<b>Почки</b>										
ГФаза	69,0±1,1*	-31,0	73,0±1,6*	-27,0	83,0±1,6*	-17,0	93,0±1,7***	-7,0	97,0±1,6***	-3,0
ФПФаза	61,0±1,4*	-39,0	69,0±1,7*	-31,0	81,0±1,7*	-19,0	89,0±1,6***	-11,0	93,0±1,6***	-7,0
ГКаза	65,0±1,6*	-35,0	73,0±1,6*	-27,0	86,0±1,6**	-14,0	91,0±1,5***	-9,0	98,0±1,7***	-2,0
<b>Цельная кровь</b>										
ГФаза	130,0±1,2*	+30,0	121,0±1,4*	+21,0	117,0±1,4*	+17,0	109,0±1,2**	+9,0	104,0±1,3***	+4,0
ФПФаза	69,0±2,04*	-31,0	73,0±1,6*	-27,0	81,0±1,9**	-19,0	93,0±1,8***	-7,0	98,0±1,6***	-2,0
ГКаза	65,0±1,5	-35,0	77,0±1,7*	-23,0	83,0±1,7*	-17,0	95,0±1,6***	-5,0	97,0±1,7***	-3,0
<b>Мембраны эритроцитов</b>										
ГФаза	179,0±1,3*	+79,0	170,0±1,5*	+70,0	150,0±1,7*	+50,0	143,0±1,3*	+13,0	134,0±1,4*	+34,0
ФПФаза	61,0±1,9*	-39,0	69,0±1,7*	-31,0	74,0±1,9*	-26,0	79,0±1,8**	-21,0	85,0±1,9***	-15,0
ГКаза	67,0±1,6*	-33,0	74,0±1,5*	-26,0	83,0±1,6*	-19,0	85,0±1,6**	-15,0	87,0±1,7***	-14,0

\* $p < 0,001$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p > 0,5$ ;  $n = 80$

тально, что цианиды как ингибиторы многочисленных ферментативных реакций, катализирующие жизненно важные физиологические функции организма, приводят к их необратимому спаду, завершающемуся летальным исходом. Молекулярный механизм токсического действия цианидов состоит в их взаимодействии с  $Fe^{3+}$ -цитохромоксидазой, сопровождающемся образованием комплексных соединений, лишенных способности транспортировать электроны с восстановленного цитохрома С на  $O_2$  и характеризующемся блокированием синтеза АТФ с вытекающими отсюда расстройствами энергогенерирующей и энерготранспортирующей функций организма. Отмеченное свойство цианидов успешно практикуется как эффективное антитоксическое мероприятие при цианистых отравлениях, при которых внутривенное введение определенных концентраций азотнокислого натрия способствует образованию значительных количеств  $Fe^{3+}$ -метгемоглобина в крови. Согласно принципам конкурентного торможения, образование последнего способствует переключению цианидов из их  $Fe^{3+}$ -цитохромоксидазных комплексов на  $Fe^{3+}$ -метгемоглобин с образованием аналогичного комплекса и освобождением  $Fe^{3+}$ -цитохромоксидазы, в чем и заключается исключительно высокая степень терапевтической эффективности описанного механизма.

Основываясь на результатах многочисленных конкурентных исследований, касающихся высокопродуктивного действия сверхнизких доз факторов химической и физической природы, а также на данных наших исследований, свидетельствующих об исключительно высокой терапевтической эффективности ТСН [1–11, 18–24], мы задались целью проследить за особенностями дозо- и время-зависимости этого физиологически активного соединения при изменениях динамики активности исследованных нами ферментных систем углеводного метаболизма.

Результаты последующих исследований, направленных на выявление особенностей нормализующего действия сверхнизких доз ТСН (5–20 дней) на фоне

ярко выраженного диабетического синдрома, свидетельствуют об отчетливо проявляющейся тенденции к упорядочению установленных расстройств в динамике активности изученных ферментов уже на фоне 5-дневного действия указанного активного начала. Удлинение продолжительности его экспозиции до 10 дней характеризуется однотипностью установленных закономерностей в отношении активностей ГФазы и ФПФазы. Вместе с тем сдвиги активности ГФазы в скелетной мышце, миокарде, почках и цельной крови демонстрируют слабовыраженные, но статистически достоверные отклонения от величины одноименных показателей в контроле. Дальнейшее пролонгирование времени экспозиции ТСН до 15 дней, характеризуется проявлением переломных сдвигов в динамике активности всех исследованных ферментных систем в виде отчетливой тенденции к упорядочению их статуса, а в ряде случаев и картиной полного восстановления до уровней их контрольных показателей. Наконец, как показала финальная серия проведенного исследования, продление периода применения ТСН до 20 дней привело к окончательному упорядочению активности ГФазы в почках и цельной крови, в то время как во всех остальных случаях уровень активности этого фермента продолжал оставаться статистически достоверно доминирующим над его контрольными нормами. Показатели активностей ФПФазы и ГКазы на данной стадии исследования оказались полностью восстановленными.

Таким образом, и в данной серии выполненных нами исследований стал очевидным факт нормализующего действия ТСН на расстроенные стороны углеводного метаболизма, катализируемого ГФазой, ФПФазой и ГКазой, свидетельствуя тем самым о биологически обусловленной взаимосвязи и взаимообусловленности молекулярных механизмов, ответственных вкуче за реализацию единого феномена общеприродного значения как в норме, так и в условиях отклонений от нее.

Поступила 23.12.05

## Սպիրակ առնելների մոդ արքսանով մոդելավորած շաքարախտի պայմաններում գլիկոզեմի մեդարոլիզմի ֆերմենտների ֆունկցիոնալ ակտիվության առանձնահատկությունները սպիրակ առնելների կենսաբանական համակարգերում

Կ.Գ. Ղարաբյոզյան, Օ.Կ. Բոդյան, Ա.Վ. Ղազարյան, Ս.Ս. Նովակիմյան

Գլիկոզեմի մեդարոլիզմի ֆերմենտային համակարգերի կարգավորման մեխանիզմների ուսումնասիրությունը շաքարային դիաբետի և տարբեր աստիճանի ինսուլինային հիպոգլիկեմիայի ժամանակ արժանի են մեծ ուշադրության: Այս տեսանկյունից առավել ուշագրավ են գլիկոզեմիաֆորիլազի, ֆոս-

ֆոսֆոտեին-ֆոսֆատազի և հեկսոկինազի ակտիվության փոփոխությունները կմարային մկաններում, սրտամկանի, լյարդի, երիկամների հյուսվածքներում, ինչպես նաև ամբողջական արյան և էրիթրոցիտների թաղանթներում: Ուսումնասիրվել է նաև վերահիշյալ հյուսվածքներում նշված ֆերմենտների ֆունկցիոնալ

կարգավորման մեջ նատրիումի թիոսուլֆատի գերցածր քանակների ազդեցությունը և հստակ նշանակել են ֆունկցիոնալ հատկությունների կարգավորման մոտեցումները սկսած արդեն 5-րդ օրվանից, որոնց ազդեցության ներքո հետագայում (15 օր) դիտվում են շրջադարձային փոփոխություններ ուսումնասիրված

գրեթե բոլոր ֆերմենտային համակարգերում: Նատրիումի թիոսուլֆատի օգտագործման ժամկետի երկարացումը մինչև 20 օր ցույց տվեց դիտարկված ֆերմենտային համակարգերի ակտիվության գրեթե ամբողջական վերականգնում:

### Characteristics of the glycogene metabolism enzymes functional activity in the biological systems of white rats with diabetes modeled by alloxan

K.G. Karageuzyan, O.K. Bdoyan, A.V. Ghazaryan, S.S. Hovakimyan

The study of regulatory mechanisms of glycogene metabolism enzymes systems is worth of a great attention during diabetes and at different levels of insulin hypoglycemia. In these conditions the most important role belongs to the changes in glycogene phosphorilase, phosphoprotein phosphatase and hexokinase activities of skeletal muscles, myocardium, liver, renal tissues, as well as in the whole blood and erythrocyte membranes. Some researches have also been carried out regarding the effect of superlow

quantities of sodium thiosulphate in the functional regulation of the mentioned enzymes in the systems studied. It has been noticed a functional recovery of the mentioned enzymes conditioned by sodium thiosulphate by the 5th day until the 15th day, when the activity of all enzymes studied demonstrate a tendency to the recovery. Using sodium thiosulphate up to 20 days showed an entire restoration of the studied enzyme system.

#### Литература

1. *Едоян Л.В., Карян Ш.С., Едоян А.Р., Карагезян К.Г.* Информационные технологии и управление. Ереван, 2003, т.2, с.212–218.
2. *Едоян Л.В., Карян Ш.С., Амирханян О.М., Джанполадян Е.Г., Поладян А.А., Арутюнян В.М., Едоян А.Р., Карагезян К.Г.* International Journal on Immunorehabilitation, 2003, v.5, 1, p.87. Abstr. N 121.
3. *Едоян А.Р., Овакимян С.С., Амирханян Л.Т., Василян А.В., Овсепян Л.М., Карян Ш.С., Едоян Л.В., Карагезян К.Г.* International Journal on Immunorehabilitation, 2003, v.5, 1, p.87. Abstr. N 123.
4. *Едоян А.Р., Карян Ш.С., Едоян Л.А., Арутюнян В.М., Акопян Г.С., Карагезян К.Г.* Современные вопросы сахарного диабета. Материалы VII ежегодной научной сессии. Ереван, 2003, с.62–63.
5. *Едоян А.Р., Овакимян С.С., Амирханян Л.Т., Василян А.В., Овсепян Л.М., Карян Ш.С., Едоян Л.В., Карагезян К.Г.* I Всероссийская конференция по иммунотерапии. Сочи, 2003, т.5, 1, с.87.
6. *Едоян Л.В., Карян Ш.С., Амирханян О.М., Джанполадян Е.Г., Поладян А.А., Арутюнян В.М., Едоян А.Р., Карагезян К.Г.* I Всероссийская конференция по иммунотерапии. Сочи, 2003, т.5, 1, с.97.
7. *Едоян А.Р., Карагезян М.К., Бояджян А.С., Осипян Л.Л., Овсепян Л.М.* II Международная конференция по химии органических и элементоорганических пероксидов. Пероксиды. Тезисы докл. 2003, т. 37, с.183.
8. *Карагезян К.Г., Едоян А.Р., Едоян Л.В., Овсепян Л.М.* Докл. НАН РА, 2003, т.103, 3, с.251–256.
9. *Карагезян К.Г., Едоян А.Р., Карян Ш.С., Едоян Л.В.* Докл. НАН РА. 2003, т.103, 4, с.336–341.
10. *Карагезян К.Г., Едоян А.Р., Овсепян Л.М., Едоян Л.В., Аганянц М.А., Карян Ш.С., Мартиросян Э.А.* Международная Академия наук экологии и безопасности жизнедеятельности. Вестник, СПб., 2003, т.8, 4, с.194–196.
11. *Карян Ш.С., Едоян Л.В., Едоян А.Р., Овсепян Л.М., Карагезян К.Г.* Информационные технологии и управление. Ереван, 2003, т.2, с. 112–118.
12. *Матинян Г.В.* Изв. АН Арм ССР, 1959, т.12, 6, с. 33–42.
13. *Матинян Г.В.* Биол. журн. Армении, 1968, т.21, 9, с. 22–29.
14. *Матинян Г.В.* Биол. журн. Армении, 1968, т. 21, 10, с. 16–23.
15. *Матинян Г.В.* Биол. журн. Армении, 1969, т.22, 9, с.21–27.
16. *Матинян Г.В.* Изменение ферментных систем белкового обмена и функции некоторых органов при хлоропроеном отравлении и антихлоропроеновое действие тиосульфата натрия. Дисс.... докт.биол. наук. Ереван, 1970, 205с.
17. *Парсаданян Г.К., Тер-Тадевосян Л.П., Мартикян А.Р., Вартамян Г.С., Карагезян К.Г.* Биол. журн. Армении, 1983, т. 36, 6, с.519–521.

18. *Karageuzyan K.G., Aganyants M.A., Martirosyan M.A., Hovsepyan L.M., Poladyan A.A., Edoyan A.R., Hovakimyan S.S.* Journal of Neurochemistry, 2003, 85. suppl. 1, abstr. N CP-01-02, p.68.
19. *Edoyan A.R., Karageuzyan K.G. Hovsepyan L.M.* Journal of Neurochemistry, 2003, v.85, suppl.1, abstr. N CP01-10, p.70
20. *Karageuzyan K.G., Elbakyan G.V., Hovakimyan S.S., Edoyan A.R., Harutyunyan V.M., Hakobyan G.S., Hovsepyan L.M.* International Congress on "Molecular Mechanisms of Neurodegeneration", Abstracts book, Milan, Italy, 2003, abstr. N P23.
21. *Edoyan A.R., Edoyan L.V., Karyan Sh.S., Hovsepyan L.M., Karageuzyan K.G.* International Congress on "Molecular Mechanisms of Neurodegeneration", Abstracts book, Milan, Italy, 2003, abstr. N P24.
22. *Aganyantz M.A., Edoyan L.V., Karyan Sh.S., Edoyan A.R., Hovsepyan L.M., Karageuzyan K.G.* IST International Society for Neurochemistry and the APSN Asian-Pacific Society for Neurochemistry, Hong Kong, 2003, abstr. N 10285.
23. *Khachatryan A.R., Aganyantz M.A., Martirosyan H.A., Poladyan A.A., Edoyan A.R., Hovakimyan S.S., Karageuzyan K.G.* First International Medical Congress of Armenia, 2003, p. 28.
24. *Karageuzyan K.G., Edoyan A.R., Hovsepyan L.M., Aganyantz M.A., Edoyan L.V., Martirosyan H.A., Karyan Sh.S.* First International Medical Congress of Armenia, 2003, p. 37.