

УДК 577.150.3 + 612.8.015/391
©Б.Ф. Керимов

ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕНТОЗОФОСФАТНОГО ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА УГЛЕВОДОВ В РАЗНЫХ ОТДЕЛАХ МОЗГА НОРМАЛЬНЫХ И ГОЛОДАВШИХ ЖИВОТНЫХ.

Б.Ф. Керимов

Институт физиологии им. А.И. Караева АН Азербайджанской Республики
370100 Баку, ул. Шариф-заде, 2, эл. почта: inphys@dcacs.ab.az

Изучена активность ключевых ферментов пентозофосфатного пути метаболизма углеводов - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6ФД) и 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-ФГД) в цитоплазматической фракции подкорковых (гипоталамус, подкорковый и средний мозг) и корковых структур мозга (лимбическая, орбитальная и сенсомоторная кора) в норме и при различных сроках голодания (1, 2, 3, 5 и 7 суток).

При кратковременном голодании (1-3-и сутки) происходит повышение активности Г-6ФД и 6-ФГД как в корковых, так и в подкорковых структурах мозга, которое, по всей вероятности, направлено на адаптационную мобилизацию глутатионовой защитной системы клеток мозга. При длительном голодании (5-7 суток) активность пентозофосфатного пути метаболизма углеводов подавляется во всех изученных структурах мозга.

Предполагается, что в мозге ферменты пентозного цикла метаболически и функционально связаны с глутатионовой системой и косвенным образом участвуют в регуляции перекисного окисления липидов при голодании.

Ключевые слова: голодание, ключевые ферменты пентозного цикла, гипоталамус, кора и ствол мозга.

ВВЕДЕНИЕ. В нервной ткани основная часть глюкозы вовлекается в процесс гликолиза и дыхания, а незначительная доля (около 2,3 %) подвергается расщеплению по пентозофосфатному пути превращения углеводов [1]. Этот путь включает в себя две окислительные реакции. Первой из них является ферментативное дегидрирование глюкозо-6-фосфата, катализируемое глюкозо-6-фосфатдегидрогеназой (Д-глюкозо-6-фосфат: NADP⁺, оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.49; Г-6ФД), во второй реакции 6-фосфоглюконат подвергается окислительному декарбоксилированию под действием 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (6-фосфо-Д-глюконат: NADP⁺, оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.44; 6-ФГД). Одной из основных функций пентозофосфатного пути метаболизма углеводов в мозге является снабжение важных структур нервных клеток восстановительными эквивалентами в форме NADPH, необходимого в продукции энергии, биосинтезе жирных кислот и стероидов, восстановлении окисленного глутатиона [2, 3].

Согласно имеющимся данным [4], голодание у животных способствует переключению режима работы нейрогуморальных и нейрорегуляторных систем энергетического и пластического процессов к эндогенному типу питания. При

ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ В МОЗГЕ ПРИ ГОЛОДАНИИ

физиологических условиях в отдельных метаболических путях механизма обеспечения этих процессов в различных тканях и, в частности, в нервных образованиях генерируются высокореакционноспособные свободные радикалы [5, 6], перекисные и гидроперекисные соединения [5]. Экспериментально установлено, что в зависимости от сроков голодания и насыщения в различных структурах головного мозга происходят сложные фазные изменения уровня биогенных аминов (адреналина, норадреналина, дофамина, ДОФА и серотонина) [7]. В результате окисления биогенных аминов моноаминоксидазой или же неферментативным путем в нервных тканях также накапливаются H_2O_2 и аминокальдегидные соединения [8]. Являясь сильными цитотоксинами, эти соединения, а также различные продукты перекисного окисления липидов метаболизируются и обезвреживаются с помощью глутатионовой защитной системы, функционально связанной с ферментами пентозофосфатного пути метаболизма углеводов [9].

В свете вышеизложенного, в настоящей работе преследовалась цель изучить активность ключевых ферментов пентозного цикла - Г-6ФД и 6-ФГД в корковых (лимбическая, орбитальная и сенсомоторная область коры) и подкорковых (гипоталамус, продолговатый и средний мозг) структурах мозга животных при различных сроках голодания.

МЕТОДИКА. Опыты проводили в осенне-зимнем сезоне на 180 беспородных крысах - самцах, массой 180 ± 20 г, разделенных на 6 групп. Животные I-ой группы - контрольные, II, III, IV, V и VI группы голодали соответственно в течение 1, 2, 3, 5 и 7 суток при свободном доступе к воде. После декапитации контрольных и опытных крыс, головной мозг извлекали, удаляли продолговатый, средний мозг, гипоталамус, лимбическую, орбитальную и сенсомоторную области коры. В цитоплазматической фракции выделенных отделов мозга, полученной путем центрифугирования 20%-ного гомогената при 20000 g в течение 60 мин, определяли активность Г-6ФД и 6-ФГД по [10]. Активность ферментов выражали в нмоль NADPH за 1 мин на 1 мг белка. Содержание белка определяли по методу Лоури [11]. Результаты исследований оценивали статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Как видно из табл. 1, активность Г-6ФД цитазольной фракции в различных отделах головного мозга приблизительно одинакова и в среднем составляет $9,3 \pm 0,55$ нмоль NADPH /в 1 мин на 1 мг белка. Однако 6-ФГД-ная активность в исследуемых образованиях варьирует в широких пределах. Так, в стволе мозга её активность ($7,0 \pm 0,48$ нмоль/мин на 1 мг белка) на 63% ($p < 0,001$) выше, чем в коре мозга ($4,3 \pm 0,31$ нмоль/мин на 1 мг белка). Следует отметить, что как в корковых, так и подкорковых структурах Г-6ФД-ная активность превышает 6-ФГД-ную активность, что, видимо, связано, с различной тканевой концентрацией глюкозо-6-фосфата и 6-фосфоглюконата.

При различных сроках голодания, происходят сложные изменения в активности ключевых ферментов пентозного цикла. Как видно из рис.1, 24-х часовое голодание не влияет на активность Г-6ФД в продолговатом и среднем мозге, а в гипоталамусе и корковых образованиях приводит к увеличению активности соответственно на 80 % ($p < 0,001$) и 73 % ($p < 0,001$), причем увеличение активности этого фермента в сенсомоторной коре выражена более сильное, чем в лимбической области коры. В это же время, во всех исследованных образованиях головного мозга (рис.2) имеет место повышение активности другого фермента пентозного цикла-6-ФГД, причем в корковых образованиях оно выражено сильнее, чем в гипоталамусе и стволе мозга.

Через 2 и 3 суток голодания активность обоих ферментов повышена как в корковых, так и подкорковых образованиях мозга. На 5-й день голодания активность Г-6ФД и 6-ФГД в продолговатом и среднем мозге, а также лимбической области коры снижалась до исходного уровня. В это же время в гипоталамусе и сенсомоторной коре наблюдалось снижение активности Г-6ФД (соответственно на 38% и 31,5%) и 6-ФГД (соответственно на 42% и 25,4%). Наконец, 7-ми суточное голодание способствует значительному снижению активности как Г-6ФД, так и 6-ФГД во всех исследованных образованиях головного мозга.

Таблица. Активность ключевых ферментов пентозного цикла в различных структурах головного мозга животных.

Исследуемые структуры	Глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа	6-фосфоглюконатдегидрогеназа
Продолговатый мозг	9,78±0,63 (5)	7,23±0,42 (5)
Средний мозг	10,2±0,61 (4)	6,13±0,46 (4)
Гипоталамус	9,42±0,54 (6)	6,13±0,46 (6)
Лимбическая кора	8,85±0,57 (4)	4,25±0,33 (4)
Сенсомоторная кора	9,11±0,46 (5)	4,06±0,25 (5)
Орбитальная кора	8,67±0,48 (5)	4,47±0,31 (4)

Примечание: Активность выражена в нмоль NADPH/мин на 1 мг белка. В скобках - количество животных в каждой серии.

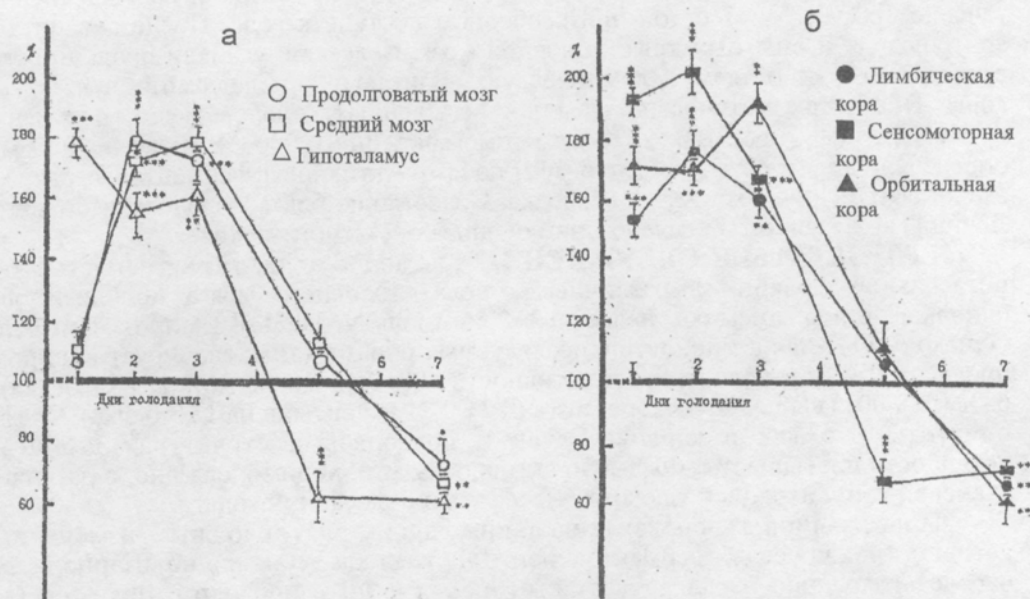


Рисунок 1.

Активность Г-6ФД (в % от контроля) в подкорковых (а) и корковых (б) структурах мозга при различных сроках голодания. Различия с контролем: * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$.

Таким образом, в результате проведенных исследований выявлено фазовое изменение активности ключевых ферментов пентозофосфатного цикла в различных структурах мозга при голодании. При кратковременном голодании (1-3 суток) интенсифицируется пентозофосфатный путь метаболизма углеводов, а при длительном голодании (5-7-е сутки) имеет место подавление активности как Г-ФГД, так и 6-ФГД. Характер изменения активности этих ферментов свидетельствует о том, что в различных корковых и подкорковых структурах мозга голодание не имеет специфического эффекта на интенсивность превращения глюкозы по пентозофосфатному пути.

В последние годы широко обсуждается взаимосвязь пентозофосфатного пути метаболизма углеводов с глутатионовой защитной системой [3,9,12-14].

ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ В МОЗГЕ ПРИ ГОЛОДАНИИ

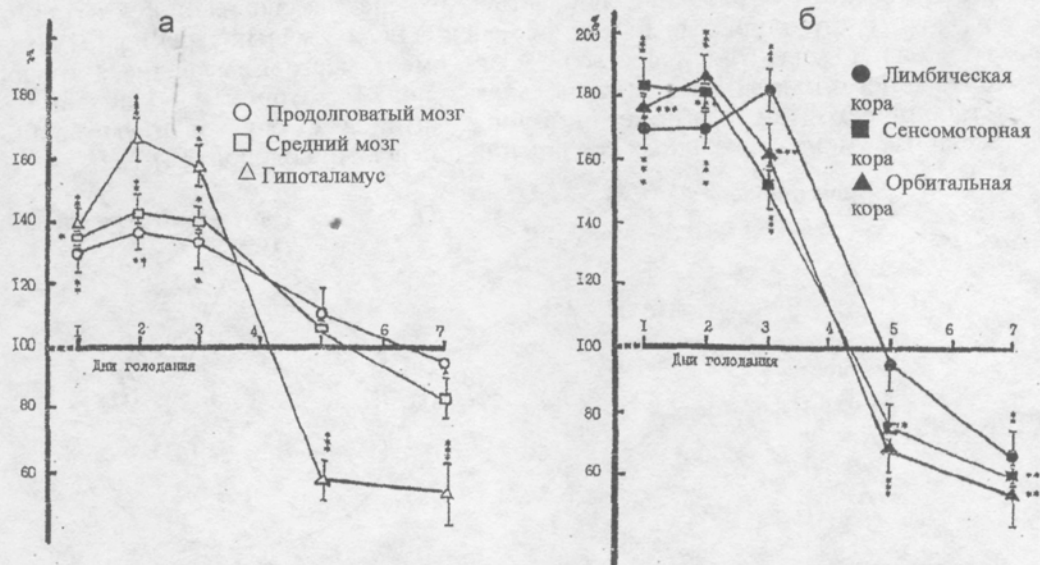


Рисунок 2.

Активность 6-ФГД (в % от контроля) в подкорковых (а) и корковых (б) структурах мозга при различных сроках голодания. Различия с контролем: * $p<0,05$ ** $p<0,01$ *** $p<0,001$.

Большинство исследований, проведенных нами [15-17], свидетельствует, что глутатионовая система выполняет роль "авангардного звена" в общем механизме защиты нервных клеток от повреждающего действия ксенобиотиков эндогенного и экзогенного происхождения, обеспечивающего метаболически адаптационный процесс путем регуляции перекисного окисления липидов и тиол-дисульфидным обменом. Для функционирования основных компонентов глутатионовой системы требуется восстановительные эквиваленты в виде NADPH вне митохондриального происхождения. В качестве источника цитоплазматического NADPH может служить пентозофосфатный путь превращения глюкозы. С другой стороны, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза, образующая редокс-системы глутатиона, оказывают влияние на активность дегидрогеназ пентозофосфатного цикла, которые контролируются величиной соотношения $NADPH/NADP^+$ [18]. В свою очередь активность ключевых ферментов окислительной стадии пентозного цикла (Г-6ФД, 6-ФГД) эффективно регулируется внутриклеточной концентрацией окисленного и восстановленного глутатиона [12, 18].

Не исключено, что активация ферментов окислительной ветви при повышенной доступности GSSG- относится к одному из основных механизмов срочной и эффективной регуляции дегидрогеназ пентозного цикла. Полагают, что оксидоредуктазы вообще и дегидрогеназы пентозного цикла, в частности, относятся к группе ферментных белков, мало изменившихся в эволюционном отношении, что придает им высокую степень функциональной мобильности у различных представителей животного мира [2]. Высокая изменчивость активности указанных ферментов и их функциональная оперативность при голодании, по всей видимости, связана с потребностью в больших количествах восстановительных эквивалентов и фосфорных эфиров различных углеводов для биосинтетического и биоэнергетического обеспечения клеток головного мозга.

Функциональная и метаболическая варибельность также была выявлена при избыточном поступлении углеводов с пищей после непродолжительного голодания животных, что выражается в многократном повышении активности дегидрогеназ пентозного цикла в печени [19]. Эти изменения рассматривают как грубый адаптивный контроль за скоростью окислительных реакций пентозного цикла, тогда как в основе тонкой регуляции лежит метаболический контроль и аллостерические механизмы.

Известно, что голодание способствует изменению уровня биогенных аминов в различных структурах мозга и эти изменения носят фазный характер [7]. Вместе с тем, как в коре, так и в стволе мозга имеет место повышение активности моноаминоксидазы, функциональная роль которой заключается в метаболической переработке биогенных аминов с образованием наиболее токсичных аминокальдегидных соединений и перекиси водорода [8].

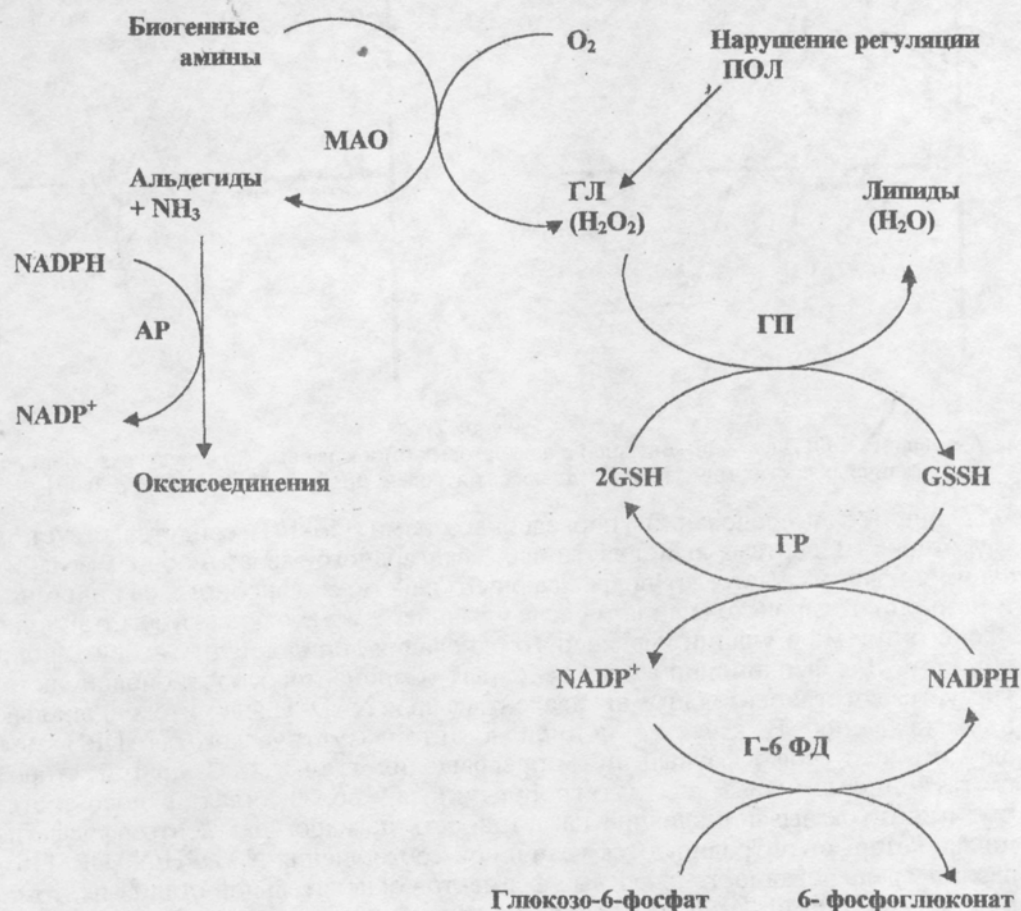


Схема
Роль окислительной стадии пентозофосфатного пути метаболизма углеводов и глутатионового окислительно-восстановительного цикла в механизме детоксикации цитотоксинов
MAO - моноаминоксидаза; ГП - глутатионпероксидаза; ГР - глутатионредуктаза;
AP - альдегидредуктаза; Г-6ФД - глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа; ГЛ - гидроперекиси липидов

Таким образом, резюмируя литературные и собственные экспериментальные данные, можно предположить возможность участия пентозофосфатного пути метаболизма углеводов в поддержании окислительно-восстановительного процесса на стационарном уровне и, тем самым, в защите структурных и функциональных компонентов нервных клеток от повреждающего действия токсических веществ. При голодании в тканях различных отделов мозга нарушается баланс содержания нейромедиаторов, а также регуляция перекисного окисления липидов плазматических мембран, в результате чего в нервной ткани накапливаются в избыточном количестве гидроперекисные и перекисные соединения [15, 17]. Эти, а также другие токсические вещества, вызывают серьезные изменения в структурной и функциональной целостности клеточных

ПЕНТОЗОФОСФАТНЫЙ ПУТЬ В МОЗГЕ ПРИ ГОЛОДАНИИ

компонентов, окисляют SH-группы белков и низкомолекулярных соединений [5, 6, 20], что вызывает смещение $GSH \leftrightarrow GSSG$ в сторону окисленной формы [16]. Для предотвращения возможных повреждений метаболические факторы (такие как GSSG или $NADP^+$), стимулируют пентозофосфатный путь превращения глюкозы, который генерирует NADPH и в результате усиливается активность глутатионового цикла. Однако при длительном голодании (по-видимому, из-за нехватки питательных веществ и, в частности, глюкозы) происходит срыв в механизме обеспечения метаболически адаптационного процесса и, поэтому, имеют место серьезные повреждения молекулярных компонентов нервных клеток, о чем свидетельствует снижение содержания поверхностно-расположенных и структурно-замаскированных белковых SH групп [21].

На основании результатов собственных исследований и литературных данных предложена схема взаимосвязи между различными регуляторными системами в нервных тканях.

Таким образом, в нервных тканях ферменты пентозного цикла метаболически и функционально связаны с глутатионовой системой и, по-видимому, косвенным образом участвуют в регуляции перекисного окисления липидов при голодании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Gaitonde M.K., Evison E., Evans G.M. (1983) J. Neurochem., **41**, 1253-1260.
2. Горбач З.В. (1988) Усп. соврем. биол., **105**, 35-49.
3. Bautista J.M., Smith M.A., Perry G. (1999) Arch. Biochem. Biophys., **370**, 236-240.
4. Norwin D., Wyrwika-Bray G.A. (1976) Hunger: Basic mechanisms and clinical implications. New-York.
5. Feher J., Csomos G., Vereckei A. (1987) Free radical reactions in medicine. Berlin, Springer-Verlag.
6. Forman H.J., Boveris A. (1985) Superoxide radicals and hydrogen peroxide in mitochondria. New York. Acad. Press, pp. 65-90.
7. Кравец С.В. (1985) Физиол. журн., **31**, 468-472.
8. Sandri G., Panfili E., Ernster L. Brochem. et (1990) Biochim. Biophys. Acta., **1035**, 300-305.
9. Hothersall J., Elhassan A., Meister A. (1981) Enzymes, **26**, 271-276.
10. Baquer N.Z., Me Lean, Greenbaum A.L. (1975) In. Normal and pathological development of energy metabolism. (Ed Hommes F.A.) London, pp. 109-132.
11. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. (1951) J. Biol. Chem., **193**, 265-275.
12. Атауллаханов Ф.Б., Жаботинский А.М., Пичугин А.В., Толокнова Н.Ф. (1981) Биохимия, **45**, 530-541.
13. Brigelius R. (1983) Physiol. Chem., **364**, 989-996.
14. Nogel R., Wiesinger H., Hamprecht B., Dringen R. (1999) Neurosci. Lett., **275**, 907-101.
15. Керимов Б.Ф. (1992) Мат. симп. "Макро- и микроуровни организации мозга", М., с. 74.
16. Керимов Б.Ф. (1994) Мат. I съезда общества физиологов Азербайджана. Баку, с. 211-213.
17. Эфендиев А.М., Керимов Б.Ф. (1994) Вопр. мед. химии, **40**, 34-37.
18. Eggleston L.V., Krebs H.A. (1974) Brochem. J., **138**, 425-435.
19. Fitch W.M., Chaikoff I.L. (1960) J. Biol. Chem., **235**, 554-563.
20. Halliwell B., Gutteridge M.C. (1985) Trend. Neurosci., **8**, 22-26.

21. Аскеров Ф.Б., Керимов Б.Ф., Алиев С.А., Гасанова М.А. (1988) Изв. АН Азерб. ССР, сер. биол. наук, 93-98.

Поступила 28.05.01.

**PENTOSE PHOSPHATE PATHWAY CARBOHYDRATE
METABOLISM INTENSIVITY IN VARIOUS BRAIN AREAS
UNDER NORMAL AND STARVED ANIMALS.**

B.F. Kerimov

Karayev Institute of Physiology Azerbaijan Republic
370100. Baku, Sharifzade st., 2, e. mail: inphys@deacs.ab.az

The activities of key enzymes of pentose phosphate pathway, glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6 PD) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD), were studied in cytoplasmatic fractions of brain cortical (limbic, orbital, sensorimotor cortex) and subcortical (myelencefalon, mesencefalon, hypothalamus) structures of rats subjected to starvation for 1, 2, 3, 5 and 7 days.

Short-term starvation (1-3 days) caused activation of 6-GPD and 6-PGD both in cortical and subcortical structures. Long-term starvation for 5-7 days caused a decrease of activities of the pentose phosphate pathway enzymes in all studied structures.

It is suggested that enzymes of pentose phosphate pathway in nervous tissues are functionally and metabolically related to glutathione system and during starvation they indirectly participate in the regulation lipid peroxidation processes.

Key words: starvation, key enzymes of pentose phosphate pathway, brain cortex and stem