

КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 616.153.455.04:577.11+616.12

©Коллектив авторов

ИЗМЕНЕНИЯ НЕКОТОРЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО ОБМЕНА В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ ИНСУЛИНОВОЙ ГИПОГЛИКЕМИИ

П.П. Потапов, А.Ю. Стельмах, П.К. Телушкин, Н.Б. Медведева

Ярославская государственная медицинская академия,
150000, Ярославль, ул., Революционная, д. 5; тел.: (4852) 73-86-30;
факс (0852) 72-91-42, 30-50-13; эл. почта: pppotapov@nm.ru

В миокарде крыс, находящихся в состоянии гипогликемической комы, увеличивается скорость гликолиза и гликогенолиза, активность лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, повышается концентрация гликогена, снижается содержание триацилглицеролов. На 15-е сутки аллоксанового диабета у крыс снижается скорость дихотомического распада углеводов, содержание гликогена и триацилглицеролов. У животных-диабетиков, находящихся в состоянии гипогликемической комы, вызванной введением большой дозы инсулина, кроме увеличения скорости гликолиза и гликогенолиза и активности лактатдегидрогеназы, обнаруживается заметное увеличение активности аспарагиновой аминотрансферазы и глутаматдегидрогеназы. Полученные данные свидетельствуют об увеличении использования аминокислот для энергообеспечения миокарда при гипогликемии, развивающейся на фоне сахарного диабета.

Ключевые слова: сердце, инсулиновая гипогликемия, аллоксановый диабет, гликолиз, окислительные ферменты, аминотрансферазы.

ВВЕДЕНИЕ. Периодическая глубокая гипогликемия наблюдается при многих заболеваниях [1-3]; она является частым следствием неадекватной инсулинотерапии больных сахарным диабетом [4]. Гипогликемия может оказывать серьезное повреждающее воздействие, вызывая изменения субстратного обеспечения и ферментативной активности в различных тканях [5-7], нарушения могут быть особенно опасными, если они развиваются при сахарном диабете, когда в организме уже имеются серьезные неблагоприятные изменения энергообмена. При сахарном диабете увеличивается доля жирных кислот в энергообеспечении миокарда и тормозится распад глюкозы [8-10]. В сердце нарушается синтез сократительных, рецепторных белков и коллагена, изменяется активность протеиназ, что в конечном итоге приводит к развитию диабетической кардиомиопатии [11-14]. Настоящее исследование посвящено изучению некоторых энергообеспечивающих систем в миокарде при инсулиновой гипогликемии у крыс с экспериментальным сахарным диабетом.

МЕТОДИКА. Опыты выполнены на 48 белых беспородных крысах самцах массой 200-240 г. Проведено 3 серии исследований: 1-я серия – животные, обследованные на 14-15 день после введения аллоксана; 2-я серия – крысы, находящиеся в состоянии гипогликемической комы (ГГК); 3-я серия – животные с 15-дневным аллоксановым диабетом в состоянии ГГК. Одновременно с подопытными крысами в каждой серии опытов забивали и обследовали

ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН ПРИ ГИПОГЛИКЕМИИ

контрольных животных. Все животные содержались на стандартном пищевом рационе и перед каждым забоем были лишены пищи в течение 18-24 часов; воду получали без ограничения. Аллоксан (125 мг на кг массы тела) вводили внутривенно однократно. Гипогликемическую кому (развитие судорожного синдрома, утрата постуральных рефлексов) вызывали внутримышечной инъекцией инсулина в дозе 40 Ед на кг массы.

Непосредственным объектом исследования служили миокард (оба желудочка) и кровь экспериментальных животных. Интенсивность гликолиза и гликогенолиза определяли по скорости накопления лактата в инкубационной среде, используя в качестве субстратов глюкозу, глюкозо-6-фосфат (Г6Ф) и гликоген [15]. Активность NAD-зависимой изоцитратдегидрогеназы (NAD-ИЦДГ, КФ 1.1.1.41), глутаматдегидрогеназы (ГДГ, КФ 1.4.1.3) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ, КФ 1.1.1.27) оценивали спектрофотометрически [16]. Скорость сукцинатдегидрогеназной реакции (СДГ, КФ 1.3.99.1) определяли с дихлорфенолиндофенолом в присутствии феназинметасульфата [17]. Активность аланинаминотрансферазы (АлАТ, КФ 2.6.1.2) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ, КФ 2.6.1.1) определяли колориметрическим методом [16]. Активности NAD-ИЦДГ, ГДГ, СДГ и аминотрансфераз исследовали в 10% гомогенате ткани; интенсивность накопления лактата и активность ЛДГ – в супернатанте, полученном центрифугированием 10% гомогената при 14000 g в течение 15 мин. У экспериментальных животных определяли в крови концентрацию глюкозы, а в сердце содержание гликогена [16] и триацилглицеролов (ТАГ) энзиматическим методом. Количество белка определяли по Лоури. Статистическую обработку проводили с применением t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Содержание гликогена в миокарде у крыс с аллоксановым диабетом было ниже, чем в норме на 49% ($p<0,01$), в условиях ГГК концентрация этого полисахарида была повышена у исходно здоровых животных на 82% ($p<0,01$), а у крыс с диабетом – на 65% ($p<0,02$) по сравнению с контролем (табл. 1). Концентрация ТАГ в миокарде была снижена в сравнении с нормой у животных всех групп, у крыс 3-ей группы изменения были самыми значительными (-59%, $p<0,01$).

Таблица 1. Концентрация глюкозы в крови, гликогена и триацилглицеролов в сердце при аллоксановом диабете и инсулиновой гипогликемии.

Показатель	Группа	1 серия	2 серия	3 серия
Глюкоза, ммоль/л	Контроль	5,36±0,16	5,90±0,33	5,00±0,11
	Опыт	7,89±0,67***	1,71±0,12***	2,11±0,17***
Гликоген, мг/г	Контроль	3,91±0,29	2,37±0,11	2,23±0,19
	Опыт	2,01±0,36***	4,31±0,59***	3,68±0,52**
ТАГ, ммоль/г	Контроль	6,78±0,90	9,80±0,30	6,78±0,90
	Опыт	4,22±0,46*	7,75±0,50**	2,77±0,36***

Примечание: Здесь и далее приведены средние значения ± ошибка средней. В каждой группе по 6-8 животных; статистически достоверные по сравнению с контролем изменения обозначены: * - $p<0,05$, ** - $p<0,02$, *** - $p<0,01$.

У крыс с аллоксановым диабетом (1-я серия) скорость образования лактата (табл. 2) снижалась почти в 2 раза при использовании всех трех субстратов ($p<0,01$). Активность исследованных окислительных ферментов и аминотрансфераз не изменялась (табл. 3). Снижение дихотомического распада углеводов в миокарде при аллоксановом диабете является следствием дефицита инсулиновых эффектов [9, 18]. Уменьшение скорости гликогенолиза, по-видимому, связано с низкой активностью фосфофруктокиназы.

Таблица 2. Скорость накопления лактата (нмоль•мин⁻¹•мг белка⁻¹), в миокарде крыс при аллоксановом диабете и инсулиновой гипогликемии.

Субстрат	Группа	1 серия	2 серия	3 серия
Глюкоза	Контроль	11,4±1,2	11,9±0,8	10,4±0,7
	Опыт	6,3±1,2***	19,9±1,2 ***	12,4±1,7
Глюкозо-6-фосфат	Контроль	24,6±3,1	32,9±1,3	32,6±2,5
	Опыт	12,4±2,1***	36,5±1,7	29,6±2,7
Гликоген	Контроль	22,8±3,4	19,0±2,0	23,3±2,8
	Опыт	12,7±2,6*	26,7±0,9 ***	23,4±3,6

Таблица 3. Активность лактатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, глутаматдегидрогеназы и аминотрансфераз в миокарде крыс при аллоксановом диабете и инсулиновой гипогликемии.

Показатель	Группа	1 серия	2 серия	3 серия
ЛДГ	Контроль	20,7±0,49	12,5±0,7	11,8±1,1
	Опыт	20,6±0,48	16,0±0,7***	17,6±1,5***
NAD-ИЦДГ	Контроль	1,77±0,07	2,26±0,15	1,41±0,06
	Опыт	1,59±0,08	2,86±0,13 ***	1,54±0,06
СДГ	Контроль	6,81±0,52	3,51±0,21	5,31±0,19
	Опыт	5,80±0,20	4,41±0,18*	5,57±0,18
ГДГ	Контроль	469±34	570±40	689±84
	Опыт	449±27	647±38	1610±66***
АлАТ	Контроль	1,11±0,09	1,15±0,07	1,25±0,12
	Опыт	1,11±0,07	1,30±0,06	1,12±0,09
АсАТ	Контроль	7,98±0,28	11,36±0,37	7,98±0,28
	Опыт	8,79±0,46	10,72±0,47	9,34±0,32***

Примечание: Активность ЛДГ, NAD-ИЦДГ, СДГ и аминотрансфераз представлена в мкмоль•мин⁻¹•г ткани⁻¹, активность ГДГ – в нмоль•мин⁻¹•г ткани⁻¹.

У животных 2-ой экспериментальной серии скорость образования лактата в миокарде при использовании в качестве исходных субстратов глюкозы и гликогена увеличивалась по сравнению с контролем на 50% (p<0,01) и 40% (p<0,01), активность ЛДГ, СДГ и NAD-ИЦДГ возрастала соответственно на 28% (p<0,01), 19% (p<0,01) и 27% (p<0,01). Активность ГДГ и аминотрансфераз сохранялась в пределах нормы. У крыс 3-ей экспериментальной серии интенсивность дихотомического распада углеводов приближалась к нормальным значениям, т.е. была существенно повышена в сравнении с подопытными животными 1 серии. Активность АсАТ увеличивалась на 17% (p<0,01), активность ЛДГ - в 1,5 раза (p<0,01), а активность ГДГ – более чем в 2 раза (p<0,01) по сравнению с контролем.

Таким образом, у интактных крыс и крыс с аллоксановым диабетом при действии высоких доз инсулина, вызывающих глубокую гипогликемию, изменения исследованных показателей углеводного обмена (скорость гликолиза и гликогенолиза, активность ЛДГ и концентрация гликогена) в сравнении с исходным состоянием имеют одинаковую направленность.

Гипогликемия (в том числе инсулиновая) во всех случаях вызывает повышенную секрецию глюкокортикоидов и катехоламинов, а метаболические изменения, наблюдаемые у животных, находящихся в состоянии инсулиновой комы, являются результатом противоположно направленных гормональных влияний [1, 2, 19,].

Повышение скорости образования лактата при использовании глюкозы и гликогена в качестве субстратов отражает активацию гексокиназы и фосфорилазы [20]. Эти изменения могут способствовать увеличению образования фосфогексоз, не приводя к реальному увеличению использования углеводов в энергообмене *in vivo*. Не было обнаружено существенного нарастания скорости гликолиза при использовании Г6Ф в качестве субстрата. То есть, в сердце активность ключевого фермента дихотомического распада углеводов – фосфофруктокиназы, по-видимому, не увеличивалась. К числу ферментов, стимулируемых инсулином, относится гликогенсинтаза [21]. Поэтому можно предположить, что под действием высокой дозы гормона, вызывающей в конечном итоге (через 3-4 часа после инъекции) глубокую гипогликемию, повышенное образование фосфогексоз в миокарде способствует увеличению синтеза гликогена, в результате чего концентрация полисахарида значительно возрастает (животные 2-ой и 3-ей серии). Возможно, в начальный период после введения инсулина увеличивается кругооборот гексоз в системе “Г6Ф – гликоген” с некоторым преобладанием синтеза гликогена. В условиях уже развившейся инсулиновой гипогликемии потенциально высокая скорость усвоения глюкозы крови мало влияет на энергообеспечение миокарда.

На высоте гипогликемической комы в крови уменьшается не только концентрация глюкозы, но и содержание СЖК и кетоновых тел [7], т.е. снижается обеспечение миокарда исходными субстратами для окисления. По-видимому, увеличивается распад эндогенных ТАГ сердца, в особенности в том случае, когда инсулиновая гипогликемия развивается на фоне сахарного диабета. Однако, инсулин угнетает окисление высших жирных кислот в миокарде [9, 22]. В таких условиях увеличение активности ЛДГ, NAD-ИЦДГ и СДГ, которое, возможно, носит компенсаторный характер, оказывается неэффективным. У животных с гипогликемией, вызванной на фоне сахарного диабета, увеличение активности ГДГ и АсАТ свидетельствует о повышении процессов дезаминирования, окисления и включения аминокислот в энергообмен в миокарде. Подобных изменений не наблюдалось при раздельном воздействии двух факторов.

Таким образом, при инсулиновой гипогликемии имеет место снижение энергообеспечения миокарда, что может обуславливать уменьшение его функциональных возможностей. Инсулиновая гипогликемия, развивающаяся на фоне сахарного диабета, приводит к увеличению использования аминокислот для покрытия энергозатрат. В конечном итоге это может приводить к нарушению субстратного обеспечения протеиносинтеза и усугублять нарушения белкового обмена в сердце.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лукьянчиков В.С., Балаболкин М.И. (1987) Гипогликемический синдром (Этиология, патогенез, диагностика, лечение). М.
2. Amiel S.A. (1996) *Horm. Res.*, **45**, 285-290.
3. Marks V., Teale J.D. (1999) *Endocrinol. Metab. Clin.*, **28**, 579-601.
4. Дедов И.И., Сунцов Ю.И., Кудрякова С.В., Рыжкова С.Г. (1995) *Пробл. эндокринол.*, **41**(3), 4-7.
5. Балаболкин М.И. (2000) *Диабетология*.
6. Телушкин П.К., Ноздрачев А.Д. (1999) *Успехи физиол. наук*, **30**(4), 14-27.

7. Телушкин П.К., Ноздрачев А.Д., Потапов П.П., Лучкин А.А. (2004) Вестн. С-Петерб. универс., Серия 3, Вып. 3, 50-54.
8. Belke D.D., Larsen T.S., Lopaschuk G.D., Severson D.L. (1999) Am. J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol., **277**, 1210-1217.
9. Belke D.D., Betuing S., Tuttle M.J., Graveleau C. et al. (2002) J. Clin. Invest., **109**, 629-639.
10. O'Donnel J.M., Alpert N.M., White L.T., Lewandowski E.D. (2002) Biophysical J., **82**(1), 11-18.
11. Соколов Е.И., Зайчикова О.С. (1996) Пробл. эндокринолог., **42**(6), 20-26.
12. Candido R., Forbes J.M., Thomas M.C., Thallas V. et al. (2003) Circul. Res., **92**(7), 785-791.
13. Finck B.N., Lehman J.J., Leone T.S., Welch M.J. et al. (2002) J. Clin. Invest., **109**, 121-130.
14. Guo M., Wu M.H., Korompai F., Yuan S. (2003) Physiol. Genomics, **12**(1), 139-146.
15. Панин Л.Е., Третьякова Т.А., Русских Г.С., Войцеховская Е.Э. (1982) Вопр. мед. химии, **28**(2), 26-30.
16. Прохорова М.И. (ред.) (1982) Методы биохимических исследований: Липидный и энергетический обмен. Л.
17. Орехович В.Н. (ред.) (1977) Современные методы в биохимии. М.
18. Kashiwaya Y., Sato K., Tsuchiya N., Thomas S., Fell D.A., Veech R.L., Passonneau J.V. (1994) J. Biol. Chem., **269**, 25502-25514.
19. Bolli G.B., Fanelli C.G. (1999) Endocrinol. Metab. Clin., **28**, 467-493.
20. Depre C., Vanoverschelde J-L. J., Taegtmeyer H. (1999) Circulation, **99**, 578-588.
21. Laughlin M.R., Taylor J.F., Chesnick A.S., Balaban R.S. (1992) Am. J. Physiol., **262**, E.875-E883.
22. Awan M.M., Saggerson E.D. (1993) Biochem. J., **295**, 61-66.

Поступила: 05. 06. 2006.

CHANGES OF SOME ENERGY EXCHANGE PARAMETERS IN THE RAT HEART UNDER INSULIN HYPOGLYCEMIA

P.P. Potapov, A.Yu. Stelmach, P.K. Telushkin, N.B. Medvedeva

Yaroslavl State Medical Academy, Revolutionsnaya ul., 5, Yaroslavl 150000, Russia;
tel.: (0852) 73-86-30; fax: (0852) 72-91-42, 30-50-13; e-mail: pppotapov@nm.ru

Hypoglycemic coma induced by administration of a large dose of insulin, was accompanied by the increased rates of glycolysis, glycogenolysis, activity of lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase, and increased concentration of glycogen. Under these conditions triacylglycerol content decreased administration of the large dose of insulin to rats with alloxan diabetes increased not only rates of glycolysis, glycogenolysis and lactate dehydrogenase activity and also activities of aspartate transaminase and glutamate dehydrogenase. Data obtained suggest the increased utilization of amino acids for energy supply of myocardium under conditions of hypoglycemia induced by insulin administration to diabetic animals.

Key words: heart, insulin hypoglycemia, alloxan diabetes, glycolysis, energy metabolism, oxidative enzymes, aminotransferases.