

ВЛИЯНИЕ ПИЩЕВОЙ ДЕПРИВАЦИИ НА УГЛЕВОДНЫЙ МЕТАБОЛИЗМ В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ КРЫС

© 2001 г. Т.А. Косматых, М.Ю. Шевченко, В.Н. Попов, А.Т. Епринцев

Воронежский государственный университет

Показано, что при пищевой депривации происходит смена использования глюкозы как главного источника энергии на жирные кислоты и кетоновые тела, интенсивно мобилизуемые из триацилглицеролов жировой ткани организма крыс. На фоне снижения активности ферментов гликолиза и пентозофосфатного пути наблюдается интенсификация аэробной фазы дыхательного метаболизма и индукция глиоксилатного цикла во всех исследуемых органах крыс. Предлагается гипотетический механизм адаптации метаболизма на ранних стадиях голодания путем использования аминокислот, как потенциального источника энергии, в результате работы аминотрансфераз.

ВВЕДЕНИЕ

Реакция животного организма на действие пищевой депривации в значительной мере зависит от степени включенности различных метаболических процессов, в частности, мобилизации запасного пула гликогена в условиях, когда стратегия метаболизма направлена на поддержание достаточно высокой концентрации глюкозы в тканях и органах, которые полностью зависят от этого источника энергии. Одним из биохимических механизмов адаптации метаболизма крыс при голодании является трансформация в гликоген жирных кислот. Так, в ультраструктурных исследованиях голодающих крыс было выявлено снижение количества жировых капель и активация карнитинацилтрансферазы, обеспечивающей перенос ацильных остатков [1]. Кроме того известно, что пищевая депривация сначала вызывает снижение содержания гликогена, а затем наблюдается вновь его ресинтез [2].

Неизбежные изменения в функционировании органов и тканей при голодании вызывают адекватную перестройку метаболизма клетки. Имеющийся фактический материал свидетельствует о значительной роли глиоксилатного цикла, индуцирующегося при воздействии экстремальных факторов, в поддержании необходимого уровня глюкозы в организме крыс [10].

Поскольку изменения в пищевом статусе требуют относительно быстрой адаптации метаболизма к смене глюкозы как главного источника энергии на альтернативное топливо – липиды и аминокислоты, целью настоящей работы является изучение особенностей перестройки углеводного метаболизма на тестируемое воздействие голоданием в различных органах и тканях крыс. Важно оценить формирование адаптивного ответа на энзиматическом уровне, включая изменение регуляторных механизмов метаболи-

ческих путей, ведущих к изменению изоферментного спектра, специфичного для каждого органа, либо каталитических свойств существующих ферментов.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена с использованием в качестве объектов лабораторных белых крыс-самцов в возрасте 3-4 месяцев массой 180-200 гр., которых выращивали в виварии при обычном питании, а затем помещали в условия пищевой депривации на срок до пяти суток при свободном доступе к воде.

Для получения материалов различных органов и тканей животных усыпляли этиловым эфиром. По одному грамму печени, почек, сердца, мышц, мозга гомогенизировали в среде следующего состава: 0,05 моль/л трис-НСl-буфер (рН 7,8), 2 ммоль/л ДТТ, 1 ммоль/л ЭДТА, 2 ммоль/л MgCl₂.

Определение активности исследуемых ферментов проводили спектрофотометрически на СФ-26. Измерение активности аспаргатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы осуществляли с использованием стандартных наборов реактивов. За единицу ферментативной активности принимали количество фермента, катализирующего образование 1 мкм продукта за единицу времени в стандартных условиях. Содержание белка в пробе определяли методом Лоури [5]. Опыты проводили в 3-4-кратной биологической повторности, аналитические определения в каждой пробе – в 2-х повторностях. Для определения достоверности результатов применяли метод вариационной статистики [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Адекватное обеспечение животного сбалансированным кормом является обязательным и необходимым условием для поддержания физиологических

Динамика содержания углеводов в организме голодающих крыс

Показатель	Контроль	Время голодания, ч.				
		24	48	72	96	120
Гликоген, Мкмоль в расчете на глюкозу	274 ± 4,6	36,1 ± 1,9	16,4 ± 0,6	0	0	0
Глюкоза, мкмоль	6,86 ± 0,1	6,22 ± 0,1	6,1 ± 0,2	6,43 ± 0,5	6,19 ± 0,1	6,22 ± 0,1
ФЕП, нмоль	98 ± 6	66 ± 5	66 ± 4	78 ± 6	72 ± 4	78 ± 6
Пируват, моль	144 ± 8	63 ± 4	60 ± 9	88 ± 10	60 ± 9	117 ± 4
Лактат, кмоль	1,49 ± 0,6	1,18 ± 0,1	1,08 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,02 ± 0,1	1,12 ± 0,1
Ацетоацетат, мкмоль	0,78 ± 0,2	0,72 ± 0,1	0,75 ± 0,1	0,78 ± 0,2	0,93 ± 0,1	0,98 ± 0,1

Таблица 2

Изменение активности ферментов ЦТК, пентозофосфатного пути, гликолиза, глиоксилатного цикла в организме интактных и голодающих крыс

Ферменты, ФЕ/г.с.м	печень		почки		сердце		мозг		мышцы	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
Малатдегидрогеназа	26,6±0,5	81,3±0,5	31,5±0,5	93,7±1,0	38,7±0,5	172,9±8,0	19,01±0,5	44,7±0,5	22,2±0,5	34,9±0,5
Сукцинатдегидрогеназа	1,1±0,1	1,8±0,1	0,8±0,05	0,58±0,03	0,9±0,05	1,2±0,05	0,05±0,01	0,28±0,01	0,07±0,01	0,25±0,01
Глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназа	2,0±0,1	0,23±0,05	0,2±0,05	0,18±0,01	0,3±0,01	0,05±0,01	0,2±0,05	0,15±0,01	0,03±0,01	0,02±0,009
Альдолаза	3,49±0,2	1,93±0,1	3,55±0,1	2,17±0,1	3,97±0,1	2,88±0,1	1,39±0,1	0,78±0,02	2,06±0,1	1,79±0,1
Изоцитратлиаза	–	0,7±0,05	–	0,6±0,05	–	0,6±0,05	–	0,16±0,01	–	0,06±0,01

функций и протекания биохимических процессов. Наиболее ранний ответ организма голодающего животного – мобилизация печеночного гликогена, как результат снижения гликемии и отношения инсулин/глюкагон [8]. Продолжительное голодание приводит к некоторому снижению содержания глюкозы и таких гликолитических интермедиатов, как фосфоенолпируват, пируват, лактат (табл. 1). Содержание гликогена к 72 часам голодания полностью иссякает. Гомеостаз глюкозы практически сохраняется, что достигается как ограничение ее утилизации, так и активации процессов глюконеогенеза. Этому способствует снижение активности исследованных ферментов гликолиза и пентозофосфатного пути, альдолазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, соответственно (табл. 2). В условиях пищевой депривации превращение в гликоген аминокислот, необходимых для обновления белков и полипептидов, организму не выгодно, особенно в тех случаях, когда они поступают извне, что исключается при голодании. Поэтому снижение активности аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы на 3-4 сутки голодания во всех органах контрольных и испытуемых крыс объясняется переключением метаболизма на использование жирных кислот (рис. 1, 2).

Через трое суток голодания синтез кетоновых тел из ацетил-КоА существенно увеличивается, поскольку ЦТК не способен окислить все ацетильные группы,

образующиеся при расщеплении жирных кислот. Кетоновые тела выделяются в кровь и переносятся к мозгу, мышцам, сердцу, где они интенсивно используются для удовлетворения энергетических потребностей.

β-окисление жирных кислот в мышцах останавливает превращение пирувата в ацетил-КоА. В результате пируват, лактат и аланин переносятся в печень, где они превращаются в глюкозу.

На четвертые сутки голодания показана интенсификация аэробной стадии дыхательного метаболизма; активация ЦТК. Так, увеличение активности малатдегидрогеназы наблюдается во всех органах крыс, особенно в сердце, более чем в 3 раза. Активность сукцинатдегидрогеназы возрастает в 1,6 раза, аконитатгидратаза активируется более чем в 3 раза (табл. 2). Особенность «сердечного» метаболизма состоит в его постоянно идущем полностью аэробном обмене. В сердечной мышце по сравнению со скелетной намного больше митохондрий: они занимают почти 1/2 объема клетки. Увеличение активности дыхательного метаболизма в почках объясняется тем, что при длительном (более 2-3 суток) голодании в них образуется половина общего количества глюкозы. Наблюдалось индукция ключевого фермента глиоксилатного цикла, изоцитратлиазы, которая в норме отсутствовала, а в условиях пищевой депривации была максимальной в печени. Проведенные ранее нашей группой экспе-

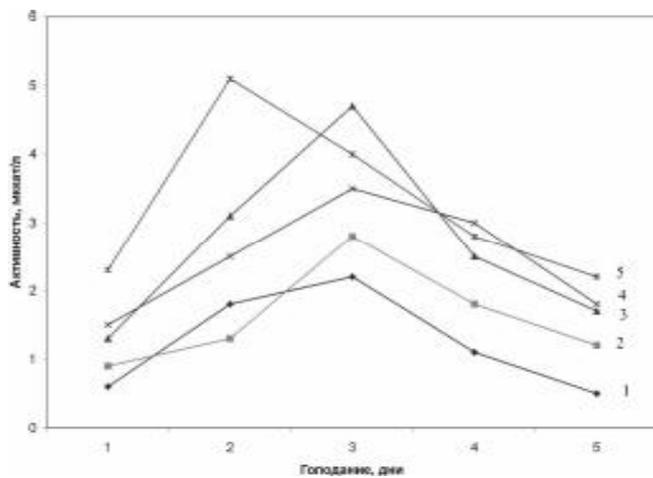


Рис. 1. Динамика активности аспартатаминотрансферазы у крыс в условиях пищевой депривации.

1. Почки. 2. Мышцы. 3. Печень. 4. Мозг. 5. Сердце.

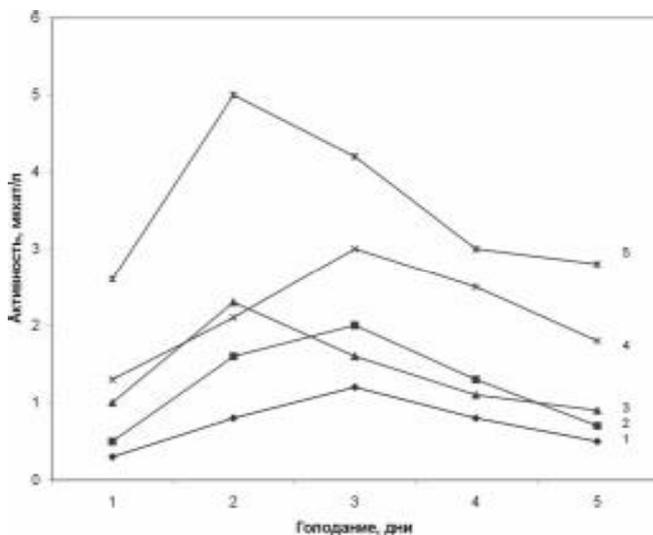


Рис. 2. Динамика активности аланинаминотрансферазы у крыс в условиях пищевой депривации.

1. Мозг. 2. Почки. 3. Сердце. 4. Мышцы. 5. Печень.

рименты показали, что пищевая депривация является эффективным фактором индукции глиоксилатного цикла в печени крыс [9,10]. Печень играет главную роль в регуляции липидного метаболизма, а также поддерживает работу других органов путем интенсификации глюконеогенеза и окисления жирных кислот.

Таким образом, в условиях стресса перед организмом возникают новые метаболические потребности, для удовлетворения которых необходимы количественная и качественная перестройки ферментной системы организма. Адаптивные изменения вызывают перестройку регуляторных механизмов метаболических путей, что ведет к изменению изоферментного спектра, например, малатдегидрогеназы в гепатоцитах голодающих крыс [9], или кинетических свойств существующих ферментов. При этом индуцируются пути, которые в норме функционируют незначительно или вовсе отсутствуют. Но главной задачей метаболизма при голодании остается поддержание достаточно высокой концентрации глюкозы в тканях организма, в первую очередь в мозге и сердце, что достигается переключением метаболизма на такие доминирующие процессы при пищевой депривации, как мобилизация жирных кислот и глюконеогенез в печени.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лебкова Н.П., Бондаренко М.Ф. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1980. N5. С.614-617.
2. Лебкова Н.П. // Архив патологии. 1981. N2. С.72-77.
3. Панин Л.Е. Энергетические аспекты адаптации. М.: Мир. 1987. 225с.
4. Лебкова Н.П. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 1983. N7. С.32-35.
5. Lowry O. et al. // J. Biol. Chem. 1951. -V.194. -P.265-275.
6. Землянухин А.А., Землянухин Л.А., Епринцев А.Т. Глиоксилатный цикл. Воронеж.: Изд-во ВГУ. 1986. 131с.
7. Davis W.L., Goodman D.B. // Source Anatomical Record. 1992. V.234. N4. P.461-468.
8. Горбач З.В., Коноваленко О.В. // Вопрос питания. 1993. N3. С.36-39.
9. Попов В.Н., Волвенкин С.В., Косматых Т.А., Алеид Суад, Епринцев А.Т. // Биохимия. 2001. Т.66. Вып.5. С.617-623.
10. Попов В.Н., Игамбердиев А.У., Волвенкин С.В. // Биохимия. 1996. Т.61. Вып.10. С.1902-1907.
11. Ллойд Э., Ледерман У. Справочник по прикладной статистике. М.: Финансы и статистика. 1990. С.493-513.