

УДК 616.876.616-055.6:577.122:616-092.4

О. О. Мардашко, д-р. біол. наук, проф.,
Г. Ф. Степанов, канд. мед. наук, доц.

АЛЬТЕРНАТИВНІ ШЛЯХИ МЕТАБОЛІЗМУ ВУГЛЕВОДІВ У М'ЯЗОВІЙ ТКАНИНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Одеський національний медичний університет

Значна кількість енергії, необхідної для м'язового скорочення, отримується у результаті аеробного або анаеробного окиснення вуглеводів, причому переважна роль кожного з них залежить від виду м'язової тканини й умов, у яких перебуває організм. Особливий інтерес викликають місце гліколітичного субстратного фосфорилування в енергозабезпеченні міокарда та скелетних м'язів, взаємозв'язки термінальної ділянки гліколізу і завершального етапу циклу трикарбонових кислот (ЦТК), ролі їх метаболітів і конкуренції ферментів за цитоплазматичний НАДН+Н⁺ і у транспорті відновлених еквівалентів із саркоплазми в мітохондрії.

Установлено, що лише близько 10 % лактату, що утворився в м'язах, виводиться течією крові, а видалення лактату з м'язів відбувається, головним чином, за рахунок ресинтезу глікогену з лактату [1; 2]. Оскільки піруваткіназна реакція є необоротною, то участь лактату й пірувату в ресинтезі вуглеводів здійснюється через низку додаткових реакцій, і в м'язовій тканині такими реакціями можуть бути НАДФ-залежна малатде-

гідрогеназа, що каталізує взаємоперехід пірувату в малат, і фосфоенолпіруваткарбоксікіназа (ФЕПМК), що забезпечує синтез початкового продукту глюконеогенезу фосфоенолпірувату з оксалоацетату [3]. Гліколіз і глюконеогенез тісно взаємозалежні, тому що продукти реакцій одного процесу є субстратами для іншого і регуляція зв'язку між гліколізом і глюконеогенезом може здійснюватися шляхом оборотного перемикання потоку проміжних продуктів з одного шляху на інший [4]. Однак не з'ясовано, у чому полягають особливості взаємозв'язку термінальної ділянки гліколізу, завершального етапу ЦТК і початкової ланки глюконеогенезу в міокарді й скелетних м'язах експериментальних тварин, оскільки катаплеротичні й анаплеротичні реакції в м'язовій тканині впливають на енергетичний обмін усього організму.

Матеріали та методи дослідження

Для визначення біохімічних показників серце і передню групу м'язів стегна білих шурів гомогенізували і піддавали диференційованому центрифугуван-

ню [5]. Для ензиматичних досліджень використовували мітохондрії та мітохондріальний супернатант. Для виявлення вмісту біосубстратів у тканинах їх занурювали у рідкий азот, депротейнували 0,6 н хлорною кислотою. Осад білка відокремлювали центрифугуванням протягом 15 хв при 3000 g. Загальну кількість білка у м'язах, печінці та крові визначали спектрофотометричним біуретовим методом [5].

Активність піруваткінази (ПК), лактатдегідрогенази (ЛДГ) і ФЕПМК визначали спектрофотометричним методом [4]. Ізоферментний спектр ЛДГ виявляли за допомогою електрофорезу у поліакриламідному гелі [6] та денситометрували.

Визначення активності НАД-залежної малатдегідрогенази (НАД-МДГ). Оскільки НАД-МДГ каталізує взаємоперетворення малату в оксалоацетат, то вивчали активність як у напрямку малат-оксалоацетат (пряма реакція), так і у напрямку оксалоацетат-малат (зворотна реакція).

Виявлення активності НАДФ-залежної малатдегідрогенази (НАДФ-МДГ). НАДФ-МДГ каталізує взаємоперетворення ма-

Активність ферментів гліколізу і глюконеогенезу та вміст метаболітів у тканинах тварин, n=10

Ферменти і метаболіти	Стат. показ.	Міокард	Скелетний м'яз
Піруваткіназа, нмоль/(мг білка·хв)	M±m	97,0±5,0	282,0±15,0*
Лактатдегідрогеназа, нмоль/(мг білка·хв)	M±m	1542,0±76,0	2060,0±94,0*
Фосфоенілпіруваткарбоксікіназа, нмоль/(мг білка·хв)	M±m	17,73±1,15	56,54±1,98*
Лактат, нмоль/г тканини	M±m	2768,0±191,0	3327,0±165,0*
Піруват, нмоль/г тканини	M±m Л/П	310,0±15,0 8,93	332,0±18,0 10,02

Примітка. * — p<0,05 порівняно з міокардом.

лату у піруват, тому вивчали активність ферменту як у напрямку малат-піруват (пряма реакція), так і у напрямку піруват-малат (зворотна реакція).

Вміст лактату, пірувату, малату, оксалоацетату визначали ензиматичним методом. Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням комп'ютерних програм [5].

Результати дослідження та їх обговорення

Скелетний м'яз вирізняється високою активністю гліколітичних процесів. Піруваткіназа майже в 2,9 разу активніша у скелетній мускулатурі, ніж у міокарді (табл. 1). Це є причиною відмінності в активності ЛДГ. У скелетних м'язах її активність майже в 1,3 разу вища, ніж у серцевому м'язі. Ізоферментний спектр ЛДГ міокарда характеризується високим вмістом швидкомігруючих ЛДГ₁ і ЛДГ₂, частка яких досягає 75 % активності ферменту. Значно менше міститься ЛДГ₃, а кількість ЛДГ₄ і, особливо, ЛДГ₅ у край мала. Ізоферментний спектр ЛДГ скелетних м'язів представлений, головним чином, ЛДГ₅. Його активність більш ніж у 5 разів перевищує ЛДГ₄ і у 7 разів — ЛДГ₃. Вміст ЛДГ₂ і ЛДГ₁ становить майже 3 і 1 % відповідно від загальної активності ферменту.

Враховуючи, що ПК-реакція, продуктом якої є піруват, і активність ЛДГ у скелетних м'язах значно вищі, ніж у серцевому, і майже однакові концентрації пірувату в обох тканинах, стає зрозумілим переважне нагромадження лактату в скелетній мускулатурі, внаслідок чого відношення лактат/піруват у серцевому м'язі становить 8,93, а у скелетному сягає 10,02. Отже, якщо більша час-

тина пірувату в скелетних м'язах витрачається на утворення лактату, то в міокарді піруват піддається окисному декарбоксілуванню. Цим підтверджується, що субстратне гліколітичне фосфорилування відіграє значну роль у забезпеченні скелетної мускулатури макроергічними сполуками.

Стан ЦТК, оцінюваний за НАД-МДГ і вмістом метаболітів цієї реакції, також відрізня-

ється в міокарді та скелетних м'язах (табл. 2). На відміну від скелетних м'язів, активність ферментів ЦТК, зокрема НАД-МДГ, вища в мітохондріях міокарда. Про це ж свідчить більш високий вміст метаболітів ЦТК — малату й оксалоацетату, а також активність НАДФ-МДГ, що виконує сполучну роль між гліколізом і ЦТК у забезпеченні їх метаболітами й перенесенні протонів від НАДН+Н⁺ до

Таблиця 2

Активність НАД- і НАДФ-залежних малатдегідрогеназ і вміст їх метаболітів у тканинах тварин, n=10

Ферменти і метаболіти	Стат. показ.	Міокард		Скелетний м'яз	
		Цитоплазма	Мітохондрії	Цитоплазма	Мітохондрії
НАД-МДГ (пр), нмоль/(мг білка·хв)	M±m	181,3± ±8,6	603,0± ±14,5*	193,70± ±4,60	148,0± ±7,5**
НАД-МДГ (зв), нмоль/(мг білка·хв)	M±m пр/зв	2146,0± ±125,0 0,08	210,0± ±13,0* 2,87	1352,0± ±95,0# 0,14	65,88± ±2,80** 2,25
НАДФ-МДГ (пр), нмоль/(мг білка·хв)	M±m	13,43± ±0,62	—	6,299± ±0,755#	—
НАДФ-МДГ (зв), нмоль/(мг білка·хв)	M±m пр/зв	11,41± ±1,19 1,18	—	21,94± ±1,57# 0,29	—
Малат, нмоль/г тканини	M±m	405,0±23,0		318,0±28,0#	
Оксалоацетат, нмоль/г тканини	M±m м/окс	43,90±1,96 9,22		30,94±1,73# 10,28	

Примітка. * — p<0,05 порівняно з цитоплазмою тієї ж тканини; # — p<0,05 порівняно з міокардом.

НАДФ [5]. Перетворення цитоплазматичного оксалоацетату у фосфоенолпіруват каталізує ФЕПКК, і вона активніша майже в 3,2 рази в скелетних м'язах, де активність ферментів ЦТК нижча, а ферментів гліколізу — вища, ніж у міокарді. Звідси можна припустити, що початковий етап глюконеогенезу, який включає НАДФ-МДГ, цитоплазматичну НАД-МДГ і ФЕПКК, активніше перебігає в тканинах з досить високою активністю гліколізу.

У конкуренції за гліколітичний НАДН+Н⁺, що утворюється у гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції, важливе значення має співвідношення між цитоплазматичною НАД-МДГ і ЛДГ. При високому показнику відношення МДГ/ЛДГ, як це спостерігається в міокарді, розвинена шунтуюча функція МДГ, при низькому — НАДН+Н⁺ використовується переважно в лактатдегідрогеназній реакції для відновлення пірувату в лактат. Відношення

лактат/піруват і малат/оксалоацетат, які характеризують редокс-потенціал нікотинамідних коферментів у цитоплазмі м'язової тканини та можуть служити показником оксигенації тканин, свідчать про те, що окисненість системи НАД/НАДН вища в міокарді.

Проводячи порівняльну характеристику метаболізму вуглеводів у міокарді та скелетних м'язах експериментальних тварин (рис. 1), слід зазначити, що в серцевому м'язі активно протікає заключна реакція ЦТК з утворенням оксалоацетату. Постачальником другого інтермедіата ЦТК — ацетил-КоА — є піруват, що утворюється у цитоплазмі, дифундує в мітохондрії та піддається окисному декарбоксілюванню. Оскільки лактат у серцевому м'язі не нагромаджується, то гліколітичний НАДН+Н⁺, що утворюється в гліцеральдегідфосфатдегідрогеназній реакції, не використовується ЛДГ, а забезпечує активність цитоплазматичної

зворотної НАД-МДГ, що перетворює оксалоацетат у малат, який під дією прямої НАДФ-МДГ декарбоксілюється в піруват з утворенням НАДФН+Н⁺, необхідного для біосинтетичних процесів, і дифундує в мітохондрії, поповнюючи метаболітний пул ЦТК.

У цитоплазмі скелетного м'яза піруват гліколітичного походження перетворюється в лактат під дією ЛДГ і в малат під дією зворотної НАДФ-МДГ. Малат у цитоплазмі окиснюється в оксалоацетат під дією прямої НАД-МДГ або дифундує в мітохондрії, поповнюючи пул метаболітів ЦТК. Оксалоацетат у цитоплазмі скелетних м'язів під дією ФЕПКК перетворюється у фосфоенолпіруват, який за участі ПК перетворюється в піруват з утворенням АТФ. Цитоплазматичний НАДН+Н⁺ із гліцеральдегідфосфатдегідрогеназної реакції й прямої НАД-МДГ забезпечує високу активність ЛДГ, що призводить до нагромадження лактату.

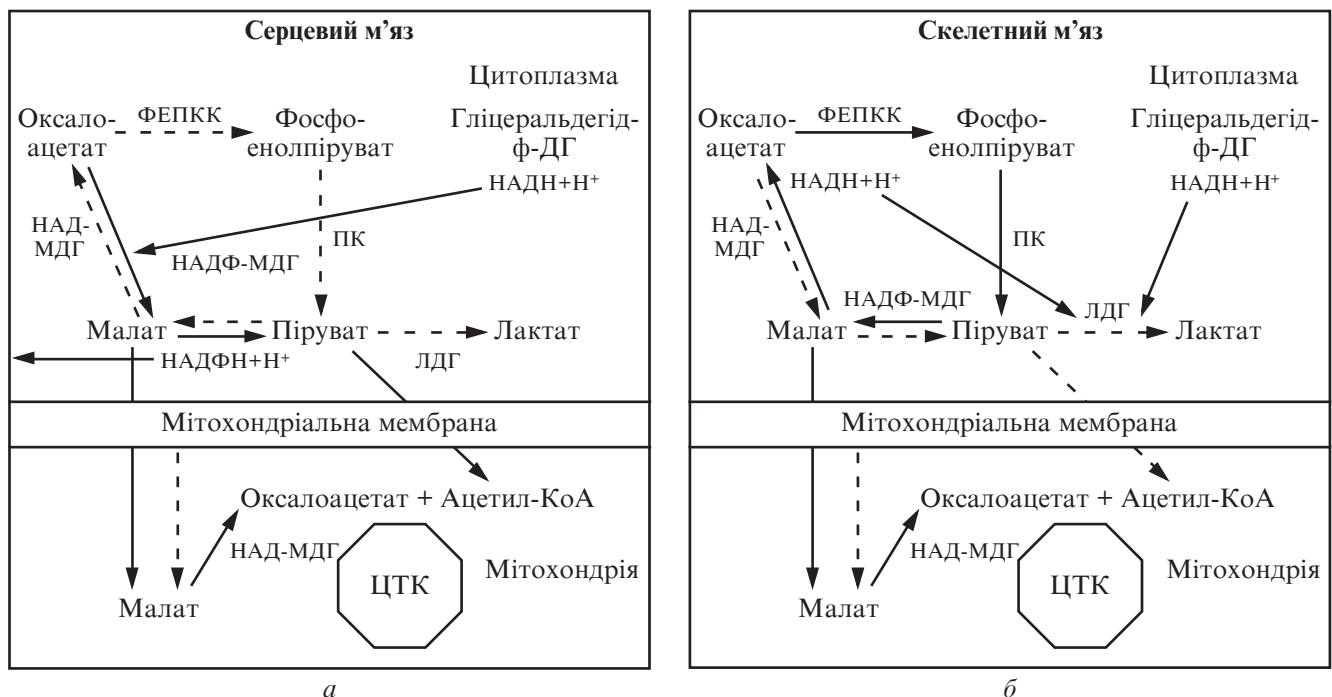


Рис. 1. Порівняльна характеристика метаболізму вуглеводів у міокарді (а) та скелетних м'язах (б) експериментальних тварин (суцільною стрілкою показана переважна спрямованість реакції)

Усе вищевикладене створює умови для інтенсивного перебігу гліколізу й початкового етапу глюконеогенезу в скелетних м'язах і високої активності ЦТК у міокарді експериментальних тварин, що підтверджується найбільш високою активністю НАД-МДГ у мітохондріях міокарда серед інших тканин.

ЛІТЕРАТУРА

1. Batty R. Restoration of glycogen from lactic acid in the anaerobic swim-

ming muscle of plaice, *Pleuronectes platessa* L. / R. Batty, C. Wardle // J. Fish. Biol. – 1979. – Vol. 15, N 5. – P. 509–519.

2. Hermansen L. Glyconeogenesis from lactate in skeletal muscle / L. Hermansen, O. Vaage // Acta physiol. Pol. – 1979. – Vol. 30, N 18. – P. 63–79.

3. Мардашко А. А. Метаболические особенности мышечной ткани сердца и бедра крыс / А. А. Мардашко, Р. Ф. Макулькин, Г. С. Попик // Физиологический журнал. – 1989. – Т. 35, № 3. – С. 21–26.

4. Мардашко О. О. Глюконеогенез у тканинах після променевого уражен-

ня / О. О. Мардашко // Одеський медичний журнал. – 1997. – № 1. – С. 8–10.

5. Човникова функція малатдегідрогеназу у м'язах експериментальних тварин / О. О. Мардашко, А. А. Дімова, Г. Ф. Степанов, Р. Ф. Макулькин // Одеський медичний журнал. – 2011. – № 2 (124). – С. 9–13.

6. Мардашко А. А. Способ получения электрофоретических белковых веществ. Авторское свидетельство № 1196771 / А. А. Мардашко, Г. С. Попик // Бюллетень Изобретения и открытия. – 1985. – № 45. – С. 174.

УДК 616.876.616-055.6:577.122:616-092.4

О. О. Мардашко, Г. Ф. Степанов

АЛЬТЕРНАТИВНІ ШЛЯХИ МЕТАБОЛІЗМУ ВУГЛЕВОДІВ У М'ЯЗОВІЙ ТКАНИНІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Вивчено особливості взаємозв'язку термінальної ділянки гліколізу, завершального етапу циклу трикарбонових кислот і початкової ланки глюконеогенезу в міокарді та скелетних м'язах експериментальних тварин. Скелетний м'яз вирізняється високою активністю гліколітичних процесів. На відміну від скелетних м'язів, активність ферментів ЦТК, зокрема НАД-МДГ, вища в мітохондріях міокарда, більш високий вміст метаболітів ЦТК — малату й оксалоацетату, а також активність НАДФ-МДГ, що виконує сполучну роль між гліколізом і ЦТК. Перетворення цитоплазматичного оксалоацетату у фосфоенолпіруват каталізує ФЕПКС активніше у скелетних м'язах, де активність ферментів ЦТК нижча, а ферментів гліколізу — вища, ніж у міокарді. Тому можна припустити, що початковий етап глюконеогенезу, що включає НАДФ-МДГ, цитоплазматичну НАД-МДГ і ФЕПКС, інтенсивніше перебігає в тканинах з досить високою активністю гліколізу.

Ключові слова: міокард, скелетний м'яз, ферменти, гліколіз, глюконеогенез.

UDC 616.876.616-055.6:577.122:616-092.4

O. O. Mardashko, G. F. Stepanov

ALTERNATIVE PATHWAYS OF CARBOHYDRATES METABOLISM IN THE MUSCLES OF THE EXPERIMENTAL ANIMALS

The essentiality of the relations between terminal fragment of glycolysis, final step of the citric acid cycle and initial fragment of the gluconeogenesis in the myocardium and skeletal muscles of the experimental animals was investigated. Skeletal muscles have high level of the glycolytic processes. In comparison with skeletal muscles activity of CAC enzymes (NAD-MDH) is higher in the myocardial mitochondria. It is proved with the higher content of the malate and oxaloacetate as a metabolites of CAC and also activity of NADP-MDH. The ratio "lactate/pyruvate" and "malate/oxaloacetate" (they describe redox potential of nicotine amide coenzymes and can be used as a value of the oxygenation of tissues) evidences about the higher level of oxidation of the systeme NAD/NADH in the myocardium. It produced conditions for the intensive glycolysis and initial step of the gluconeogenesis in the skeletal muscles and high level of the CAC activity in the myocard of the experimental animals.

Key words: myocardium, skeletal muscles, enzymes, glycolysis, gluconeogenesis.

УДК 616.13-018.74

О. В. Петелкакі, канд. мед. наук, доц.

ДИНАМІКА ЗМІНИ АКТИВНОСТІ М'ЯЗІВ ЩУРІВ ЗА УМОВ СУБАРАХНОЇДАЛЬНОЇ КРОВОТЕЧІ ПІД ВПЛИВОМ ПАТОГЕНЕТИЧНО ОРІЄНТОВАНОЇ КОМПЛЕКСНОЇ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ

Одеський національний медичний університет

Вступ

Спонтанний розрив аневризми судин головного мозку є причиною субарахноїдальної кровотечі (САК), спричиняє розвиток

приблизно 5–7 % усіх інсультів [1]. Клінічний перебіг цієї патології є тяжким, характеризується розвитком ускладнень, а також високою летальністю, що додає до цієї вкрай актуальної

медичної проблеми суттєвої соціальної значущості [2; 3]. У переважній більшості випадків (до 85 %) причиною САК є розрив аневризми артеріальних внутрішньочерепних судин [4;