

ВЛИЯНИЕ АНТИАСТЕНИЧЕСКОГО И АКТОПРОТЕКТОРНОГО КОМПЛЕКСА «ГЕКСАМИНАТ» НА СОСТОЯНИЕ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ, ЦТК, АКТИВНОСТИ ТРАНСАМИНАЗ В ПЕЧЕНИ

А.Н. Бородинский¹, О.В. Коноваленко², Е.Н. Максимович¹

¹ – УО «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Республика Беларусь

² – УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 12.06.2012 г.)

Аннотация. Изучено функциональное состояние углеводного обмена и цикла трикарбоновых кислот в печени крыс при разных режимах введения актопротекторного аминокислотного комплекса «Гексаминат». Выявлено, что «Гексаминат» повышает активность ГК, ГЛК при сниженной активности ПФК. Это сопровождается снижением содержания глюкозы и Г-6-Ф. Повышение концентрации метаболитов ЦТК указывает, что препарат способен увеличивать продукцию АТФ. Результаты наших экспериментов позволяют рекомендовать препарат для клинических испытаний.

Summary. The functional state of carbohydrate metabolism and cycle of tricarboxylic acids in a liver of rats is studied at different prescription modes of protective aminoacid complex "Geksaminat". It is revealed that "Geksaminat" raises hexokinase (HK) and glucokinase (GK) activity at reduced phosphofructokinase (PFK) activity. It is accompanied by decrease in the maintenance of glucose and glucose-6-phosphate. Strengthening of tricarboxylic acid cycle metabolites specifies that the drug is capable to increase adenosine triphosphate (ATP) production. Results of our experiments allow to recommend a drug for clinical tests.

Введение. Астенические и гиподинамические состояния широко распространены в клинической практике: после тяжелых оперативных вмешательств, длительно протекающих инфекций, при физическом переутомлении, постинфекционных синдромах в период реабилитации.

Арсенал средств метаболической коррекции физического статуса многообразен: анаболические стероиды, энергодающие соединения, средства метаболитной защиты, актопротекторы, антигипоксанты, психостимуляторы и ноотропы, коферменты, витамины (1-7).

В настоящее время активно исследуются метаболические корректоры работоспособности, такие как субстраты пластического обмена (аминокислоты с разветвленной углеводной цепью (АРУЦ)). Наиболее

изученные средства метаболической защиты – карнитин и глутамин. Ранее мало испытывались в комплексе с АРУЦ, в то же время карнитин способен повышать не только физическую, но и умственную работоспособность, оказывая аддитивное с АРУЦ действие [8].

Глутамин занимает центральное место среди аминокислот в поддержании физической работоспособности и является «незаменимым» для оптимальной утилизации аминокислотных смесей [9].

Таким образом, разработка и экспериментальное доклиническое изучение новой композиции АРУЦ с карнитином и глутамином (гексаминат) как потенциального средства коррекции астенических и гиподинамических представляется актуальной.

Цель исследований состояла в изучении влияния «Гексамината» на состояние углеводного обмена цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и активности трансаминаз в печени крыс [10].

Материал и методы исследований. Опыты были проведены на белых крысах-самцах массой 160-180 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Животные были разделены на три группы. Особям первой группы (контроль) вводили 1% крахмальный гель 0,5 мл/100 г массы тела; второй вводили «Гексаминат» 0,5 мл/100 г массы тела на 1% крахмальном геле интергастрально в течение 7 суток, а третьей группе в течение 30 суток в аналогичной дозе. «Гексаминат» представляет композицию аминокислот (лейцин 1132 мг, изолейцин 832 мг, валин 832 мг, глутамин 67 мг и карнитин 33 мг).

В центрифугатах (центрифугирование при 13 тыс. об./мин) определяли активность гексокиназы (ГК), глюкокиназы (ГЛК), фосфофруктокиназы (ФФК), фосфогексоизомеразы (ФГИ), альдолазы (Альд), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), пируваткиназы (Пкин), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-фДГ), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (:фгДГ), транскетолазы (ТК), изоцитратдегидрогеназы (ИДГ), малат- и сукцинатдегидрогеназ (МДГ, СДГ).

Содержание глюкозы (Гл), г-6-ф, пирувата (ПК), лактата (МК), изоцитрата (ИзЦ), малата (Мал), цитрата определяли в хлорнокислых экстрактах печени [10].

Активность трансаминаз (АЛТ и АСТ) определяли с использованием коммерческого набора реактивов (Lachema).

Результаты были статистически обработаны при помощи пакета статистических программ *Prizm*.

Результаты исследований и их обсуждение. Введение «Гексамината» отразилось на активности обеих трансфераз в печени. Так, активность АЛТ у животных, получавших 7 дней «Гексаминат», снижена на 60% по сравнению с контролем и более чем в 3 раза ниже у

животных, получавших препарат в течение 30 суток. Активность АСТ снижена в обеих экспериментальных группах в 1,7 раза по сравнению с контролем. Обращает на себя внимание, что более длительное введение препарата снижает активность АЛТ по сравнению с этим показателем у животных, получавших препарат 7 дней. Выявленные сдвиги в активности обеих трансфераз могут существенно менять состояние пула свободных аминокислот, что предполагает наличие у «Гексамината» гепатопротекторного действия. Это следует учитывать в дальнейшем при разработке новых показаний для его использования. По всей видимости, в лечебной практике необходимо использовать длительное введение препарата.

Как показали результаты наших экспериментов, «Гексаминат» является препаратом, который активно вмешивается в углеводный обмен и в частности, обмен гексозомонофосфатов – ключевых субстратов гликолиза (его начальных реакций) (таблица).

Таблица – Содержание субстратов и активность ферментов гликолиза и ЦТК в печени крыс на фоне введения Гексамината

Показатель	Контроль	7 дней «Гексаминат»	30 дней «Гексаминат»
ФФК нмоль/мг белка	12,9±0,5	6,6±0,8*	3,8±0,3*•
ФГИ мкмоль/мг белка	0,7±0,05	0,4±0,07*	0,3±0,04*
АЛЬД мкмоль/мг белка	12,9±0,5	6,6±0,8*	3,8±0,3*•
ГК нмоль/мг белка	4,3±0,2	9,7±0,9*	12,9±0,3*•
ГЛК нмоль/мг белка	17,2±0,5	34,4±0,6*	40,2±2,3*•
Гл мкмоль/г ткани	4,9±0,08	2,3±0,1*	2,2±0,1*
Г-6-Ф мкмоль/г ткани	0,2±0,01	0,1±0,01*	0,1±0,01*
ИДГ мкмоль/мг белка	1,8±0,09	1,6±0,08	1,8±0,09
МДГ мкмоль/мг белка	3,0±0,3	3,1±0,3	3,3±0,3
СДГ мкмоль/мг белка	4,2±0,09	4,1±0,1	3,6±0,2*
ИЗЦ мкмоль/г ткани	85,0±5,0	160,0±16,7*	195,0±10,*
МАЛ мкмоль/г ткани	640,0±27,3	1253±118,1*	1220±187,3*
Цитрат мкмоль/г ткани	58,3±6,8	122,2±16,2*	151,3±11,8*
Г-6-ФДГ мкмоль/мг белка	0,8±0,04	2,4±0,3*	2,9±0,2*
6ФГДГ мкмоль/мг белка	0,3±0,05	0,5±0,04*	0,6±0,03*
ТК нмоль Седогептулозо-7 фосфата час/мг белка	1,75±0,13	2,25±0,15*	2,8±0,22*
ЛДГ мкмоль/мг белка	3,82±0,16	3,96±0,08	3,91±0,08
ПКци мкмоль/мг ткани	1,09±0,04	1,06±0,04	1,16±0,04
ПК мкмоль/г ткани	0,3±0,01	0,3±0,01	0,3±0,01
МК мкмоль/г ткани	3,2±0,1	3,2±0,1	3,2±0,1

* - Достоверно по сравнению с контролем при $p < 0,05$

• - Достоверно по сравнению с семидневным введением «Гексамината» при $p < 0,05$

Как видно из таблицы, введение на различные по длительности сроки препарата повышает скорость ГК и ГЛК реакций. Обращает на

себя внимание, что длительное введение «Гексамината» вызывает более выраженный активирующий эффект на эти реакции. Отмечено, что препарат снижает скорость ФГИ реакции в 1,8 раза при семидневном и более чем в 2 раза при тридцатидневном его введении. Не отмечено изменений активности альдолазы во все сроки опыта.

Учитывая важную роль гексозомонофосфатов как метаболитов, занимающих центральное положение во взаимосвязях гликолиза, ПФП, глюконеогенеза и обмена гликогена, с одной стороны, и их значение в биосинтезе нуклеиновых кислот, генерации энергии в клетках – с другой, требует более детального выяснения механизмов контролирующего обмена этих соединений в организме.

Особый интерес представляет регуляция гликолиза на уровне ФФК – одной из ключевых генерирующих реакций. Из большого числа регуляторов этого фермента нами были изучены стационарные концентрации активных его регуляторов – цитрата и изоцитрата.

Как видно из таблицы 1, введение «Гексамината» в два раза повышало концентрацию как цитрата, так и изоцитрата. Повышение содержания этих метаболитов в ЦТК явилось причиной снижения потока углеводов, так как их концентрация в условиях нашего эксперимента превышает на 30% константу ингибирования для ФФК печени крыс.

Обращает на себя внимание, что в этих условиях мало меняется активность ферментов ЦТК. По всей видимости, Гексаминат увеличивает оборачиваемость цикла, а образующиеся в повышенных количествах никотинамидные коферменты уходят в цепь тканевого дыхания, что способствует наработке большого количества АТФ. На возросшую оборачиваемость цикла указывает возросший в 2 раза уровень малата в обеих экспериментальных группах.

Вероятно, изменения в активности ФФК могут существенно снизить образование Ацетил-КоА, поступающего в ЦТК. С другой стороны, активность ФФК, помимо цитрата, изоцитрата регулируется содержанием АТФ. По-видимому, «Гексаминат» в конечном итоге приводит к повышению концентрации АТФ, что вносит дополнительный ингибирующий ФФК эффект (регуляция по типу обратной связи).

Выявленные изменения активностей ФФК, ГЛК, ГК (Таблица) сказались на содержании Г-6-Ф и свободной глюкозы. Как длительное, так и кратковременное (7 суток) введение новой композиции более чем в 2 раза снизило содержание свободной глюкозы и Г-6-Ф. Снижение концентрации глюкозы связано с резким активированием ГК и ГЛК в наших экспериментах. Казалось бы, что это должно было повысить стационарную концентрацию Г-6-Ф – метаболита, занимающего центральное положение в обмене углеводов, однако нами установлено

снижение его концентрации. Выявленное нами ингибирование активности ФФК предполагает, что даже при низкой скорости ФГИ реакции происходит образование повышенных количеств Ф-6-Ф. Однако это маловероятно, и из таблицы 1 видно, что более чем в 3 раза повышена активность Г-6-ФДГ и в два раза активность 6-ФГЛДГ в обеих группах экспериментальных животных по сравнению с контролем.

Таким образом, резко повышается активность неокислительной ветви ПФП. Это привело к отвлечению Г-6-Ф в ПФП превращения углеводов. Как видно из таблицы 1, «Гексаминат» активирует транскетотазную реакцию. Это предполагает, что гексозомонофосфаты отвлекаются не только для обеспечения биосинтеза нуклеиновых кислот, но и в гликолиз, в обход заингибированной ФФК реакции.

Это подтверждается результатами, приведенными в таблице 1, которые показывают, что совершенно не изменяются активности ЛДГ, ПКин и содержание ПК и МК.

Заключение. Полученные экспериментальные данные показывают, что «Гексаминат», вводимый внутривенно животным как на короткие (7 суток), так и на длительные (30 суток) сроки, оказывает выраженный эффект на состояние углеводного обмена в печени.

Установлено, что «Гексаминат» повышает активность гексокиназы и глюкокиназы при сниженной скорости фосфофруктокиназы. На этом фоне отмечается понижение содержания глюкозы и глюкозо-6-фосфата в печени. Последний эффект в определенной степени может быть обусловлен активацией ферментов окислительной и неокислительной ветвей ПФП, что может рассматриваться как компенсаторный метаболический сдвиг. Повышение активности одного из лимитирующих ферментов ЦТК-изоцитратдегидрогеназы, а также уровней малата и цитрата указывает на увеличение скорости данного метаболического цикла. Это позволяет предположить, что препарат может увеличивать продукцию АТФ путём повышенной утилизации ацетил-КоА из различных метаболических источников. Полученные результаты позволяют заключить, что «Гексаминат» обладает рядом метаболических эффектов, которые должны быть присущи противоастеническим средствам. Вместе с тем не обнаружено выраженных метаболических отклонений среди изученных показателей при введении препарата. Это позволяет рекомендовать «Гексаминат» для дальнейших испытаний по соответствующим показаниям.

ЛИТЕРАТУРА

1. Richardson J.N., Smith S.A.; J. Sport. Med.-1981.-Vol. 21.-P. 279-281.
2. Чаговца Н.Р.; Терапевтическое действие янтарной кислоты. - Луизиано, 1976.-С. 77-79.
3. С. Kasper, В. Reeves, M. Flynn e.a.; Med. Sci. Sports Exerc.- 1994.-Vol. S-26, № 5.- P. 39.
4. Шустов Е.Б.; Дис. ... д-ра. Мед. Наук: 14.00.25.- СПб., 1996.- 238 с.

5. Виноградов В.М.; Фармакология амидиновых соединений.- Кишинев, 1972.- С. 106-115
6. Jore R.S., Jelen D.J., J. Pharmacol. - 1979.- Vol. 281 - P. 479-486.
7. Цашков В.С., Лакота Н.Г.; Космическая биол.-1980.- № 6.- С. 44-51.
8. N. Hayashi, D. Yoshihara, N. Kashiwabara e.a.; Biol. Pharm. Bull. - 1996.- Vol. 19, № 1.-P. 157-159.
9. D.A. MacLean, L.L. Spriet, E. Hultman, T.E Graham; J. Appl. Physiol. - 1991.- Vol. 70, № 5.-P. 2095-103.
10. Мильман Л.С., Юровицкий Ю.Т., Ермолаева Л.П., Методы биологии развития. Москва.-1974, с 418