

УДК 615.038.007:577

Полтавцева Н. В., мол. наук. сп., Анісімов В. Ю., асп.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра біохімії,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ПОКАЗНИКИ ОБМІНУ ЕНЕРГІЇ У ЩУРІВ ЗА ІШЕМІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТА ЇХ КОРЕКЦІЯ ГАМК- ВМІЩУЮЧИМИ ПОХІДНИМИ ВІТАМІНІВ

Двобічна оклюзія сонних артерій викликає порушення кровообігу у головному мозку щурів і, як наслідок, виникнення його ішемії. Це призводить до помітного зменшення у ньому вмісту пірвіноградної кислоти (ПВК) і накопичення її в крові та серцевому м'язі. При цьому суттєво зменшуються концентрації лактату (Л) у мозку, загальних макроергічних фосфатів (ЗМФ), активність Na, К-АТФази та співвідношення Л/ПВК в усіх досліджених органах і тканинах. Це свідчить про пригнічення енергетичного обміну в організмі тварин. Введення щурам з ішемією таких ГАМК-вміщуючих препаратів, як пікамилон (ПМ) і пантогам (ПГ), в основному призводить до нормалізації вказаних показників. Спільне їх введення з вітамінним комплексом (В₁, ФМН, нікотинова кислота) значно збільшує цей коригуючий ефект по відношенню до більшості показників.

Ключові слова: ішемія, пікамилон, пантогам, лактат, піруват, Na, К-АТФаза.

Відомо, що гіпоксія головного мозку, спровокована порушенням кровообігу, призводить до серйозних і навіть незворотних змін структури та функції його клітин. Особливо чутливі до гіпоксії механізми обміну енергії у тканинах мозку [1]. В основі цих ушкоджень лежать вільно-радикальні процеси та перекисне окислення ліпідів і, як наслідок, — руйнування мембран. Крім того, достовірно встановлено, що за гіпоксичних станів виникає і розвивається ендогенний дефіцит вітамінів, порушується біосинтез коферментів [2, 3]. Тому стійкість тварин і людини до гіпоксії значною мірою визначається стійкістю до цього стану тканини мозку, на яку можна впливати з допомогою біологічно активних сполук [4]. Ефективними в цьому відношенні є препарати, створені на основі вітамінів та ГАМК [5]. У даній роботі ми з'ясували сумісну дію вітамінного комплексу (ВК) та похідних ГАМК — пантогаму (пантоїл-ГАМК) і пікамилону (двонатрієвої солі нікотиноїл-ГАМК) — на показники обміну енергії у щурів за ішемії головного мозку. Вітамінний комплекс складався з трьох компонентів: В₁, РР, ФМН, кожен з яких відіграє важливу роль у метаболізмі. Слід зазначити, що більшість існуючих досліджень, проведених у цьому напрямі, виконана на різних моделях гіпоксії — гіпобаричній, нормобаричній (дихальні суміші), замкненого простору і таке інше. На відміну від цього, ми використали модель локального порушення мозкового кровообігу шляхом двобічної оклюзії сонних артерій [1].

Матеріали і методи

Досліди проведено на щурах лінії Вістар (масою 180-200 г), яких за добу до експерименту позбавляли їжі, але не води. Ішемію мозку у наркотизованих тіопенталом (внутрішньочеревні ін'єкції у дозі 100 мг/кг, об'єм 0,2 мл) щурів викликали шляхом двобічної оклюзії сонних артерій [1]. Щурам контрольної групи (контроль-1, удавано оперовані) робили тільки надріз на шийі. Через 60 хвилин після цього внутрішньом'язово вводили пікамилон (ПМ), пантогам (ПГ) та вітамінний комплекс (ВК), а через наступні 60 хв тварин брали у дослід. Варіанти груп щурів і дози препаратів (мг/кг) були такими:

1) Контроль-1 (вводили фізіологічний розчин — далі ФР).

Варіанти 2-6 — тварини з ішемією мозку:

2) Контроль-2 (ФР); 3) ПМ — 20 мг/кг; 4) ПМ+ВК (дози вітамінів у ВК були такими: В₁ — 6, ФМН — 2, нікотинова кислота — 20 мг/кг); 5) ПГ — 20 мг/кг; 6) ПГ+ВК.

В органах тварин визначали вміст пірвіноградної кислоти (ПВК) [6], лактату (Л) [7], загальних макроергічних фосфатів [8], активність Na, К-АТФази [9], а також співвідношення Л/ПВК.

Результати досліджень

Як видно з таблиці 1, ішемічна гіпоксія призводила до значного накопичення пірувату у крові та серці (на 80,8 % и 43 % відповідно). Кількість його в мозку помітно зменшувалась (на 22 %). Вміст лактату за ішемії зменшувався в мозку на 28 %, а в інших органах достовірних змін не спостерігалось. Співвідношення Л/ПВК при цьому знижувалося в усіх досліджених органах і тканинах, найпомітніше — у крові та серці (на 46,2 % і 35,7 % відповідно).

Ін'єкції ПМ+ВК і ПГ призводили до зменшення кількості ПВК у крові. У печінці ПМ практично не впливав на цей показник, а інші препарати істотно впливали на нього — вміст ПВК був нижчим за контроль-1 на 16 - 30 %. У мозку після ін'єкцій ПГ і ПГ+ВК на фоні ішемії спостерігалась нормалізація рівня пірувату, а в серці таких тварин нормалізація вмісту ПВК наступала в усіх варіантах досліді.

Що стосується вмісту лактату (табл. 1), то у крові після ін'єкцій ПМ+ВК і ПГ не було достовірних змін цього показника, а ін'єкції ПГ+ВК призводили до істотного його збільшення (до 118,7 % у порівнянні з контролем-1). У печінці, де зміни концентрації лактату за гіпоксії практично були відсутні, всі препарати, за виключенням ПГ+ВК, суттєво збільшували кількість цього метаболіту. У подібний спосіб вміст лактату змінювався і в мозку, але в цьому випадку ін'єковані препарати всі без винятку були ефективними. У серці достовірні зміни цього показника спостерігалися лише при використанні ПГ і ПГ+ВК: відбулося помітне зростання вмісту лактату у першому випадку і суттєве зменшення його (до 72,3 % у порівнянні з контролем-1) — у другому.

Вплив ВК і ГАМК-кон'югатів на вміст пірвіноградної (ПВК) та молочної (Л) кислот (мкг/г) і співвідношення Л/ПВК у тканинах щурів за ішемії мозку, n=7.

Органи		Контроль 1 (ФР, удавано оперовані)	Ішемія				
			Контроль 2 (ФР)	ПМ	ПМ+ВК	ПГ	ПГ+ВК
Кров	ПВК	34,3± 2,4*	62,0± 3,7	60,0±4,8	45,1±2,52*	49,5±2,6*	51,5±3,9
	Л	324,9±17,9	316,4±27,0	380,4±22,4	284,6±19,4	295,8±16,4	385,6±15,3*
	Л/ПВК	9,48	5,10	6,34	6,31	5,97	7,48
Печінка	ПВК	97,2± 4,4	107,5± 5,3	106,7±7,2	77,1±6,4*	68,2±3,9*	81,4±4,1*
	Л	850,1±53,2	833,5±67,3	1064,3±79,3*	1037,9±61,4*	1090,0±81,9*	766,7±39,5
	Л/ПВК	8,75	7,75	9,97	13,46	15,98	7,56
Мозок	ПВК	159,2± 9,6*	124,2± 6,4	129,1±7,8	116,8±5,4	144,0±9,0*	150,4±8,6*
	Л	1804,0±29,8*	1362,1±56,8	1678,4±75,2*	1766,6±73,2*	1861,4±68,4*	2073,4±158,4*
	Л/ПВК	13,34	10,97	12,81	15,10	12,90	12,79
Серце	ПВК	148,0± 6,6*	211,6± 9,8	139,0±9,8*	136,0±9,0*	134,4±6,8*	158,4±6,8*
	Л	1953,4±87,3	1795,8±93,4	2007,1±100,8	1780,2±64,3	2172,7±66,7*	1412,4±79,6*
	Л/ПВК	13,20	8,49	14,44	13,09	13,71	10,51

Примітка: * — різниця з контролем-2 достовірна (p≤0,05).

Вплив ВК і ГАМК-кон'югатів на вміст загальних макроергічних фосфатів (мкг/г тканини) і активність Na, K-АТФази (мкмоль Рі/г·хв) в органах і тканинах щурів за розвитку ішемії мозку, n=7.

Органи	Контроль 1 (ФР, удавано оперовані)	Ішемія				
		Контроль 2 (ФР)	ПМ	ПМ+ВК	ПГ	ПГ+ВК
Вміст загальних макроергічних фосфатів						
Кров	85,74±4,6*	51,69±2,9	119,7±5,4*	121,73±4,8*	78,61±3,3*	129,38±6,7*
Печінка	429,2±19,6	392,9±18,3	440,63±20,8	420,94±26,1	401,34±19,9	411,48±20,8
Мозок	460,1±20,5*	284,75±11,8	468,11±22,6*	567,13±28,1*	436,88±18,7*	541,62±24,8*
Серце	441,44±23,3*	257,3±15,3	313,3±10,6*	323,74±17,3*	419,22±25,8*	519,98±26,6*
Активність Na,K-АТФази						
Кров	12,15±0,48*	9,98±0,32	12,65±0,55*	13,4±0,85*	13,47±0,61*	14,01±0,96*
Печінка	56,49±2,8*	34,55±2,76	46,33±3,61*	49,28±2,43*	56,7±2,43*	66,75±3,91*
Мозок	56,05±1,74*	38,44±0,81	78,68±2,83*	85,46±1,33*	50,8±1,12*	64,73±2,59*
Серце	56,07±3,48*	33,19±1,54	54,34±5,61*	82,24±5,38*	41,31±1,91*	39,03±2,78

Примітка: * — різниця з контролем-2 достовірна (p≤0,05).

Відповідно до цих змін співвідношення Л/ПВК, знижене за ішемії майже вдвічі у крові і на 12,0 - 35,7 % у печінці, мозку і серці, під впливом застосованих препаратів в усіх досліджених органах і тканинах значно підвищувалось. У крові співвідношення Л/ПВК у порівнянні з контролем-2 зросло на 17,1 - 46,6 %, в мозку — на 16,6 - 37,6 %, в серці — на 23,8 - 70,1 % і практично досягало норми. Особливо виразним був вплив на цей показник ПМ+ВК і ПГ у печінці.

Вміст загальних макроергічних фосфатів (табл. 2) за ішемічної гіпоксії суттєво зменшувався у крові, мозку та серці (в 1,6 - 1,7 рази). В печінці не було достовірних змін як за ішемії, так і після ін'єкцій всіх досліджених препаратів. Слід зазначити, що у крові, мозку та серці всі застосовані препарати призводили до зростання рівня цього показника. У крові і мозку більш потужну дію виявив ПМ, а у серці — ПГ. Введення ВК майже в усіх варіантах дослідження сприяло зростанню рівня макроергічних фосфатів у тканинах за ішемії.

Активність Na, К-АТФази за ішемії у крові, печінці, мозку і серці знижувалась на 18-41 % (табл. 2).

Коригуючий ефект застосованих нами ГАМК-кон'югатів на активність Na, К-АТФази практично в усіх випадках був безперечним, а ВК майже завжди посилював дію ПМ і ПГ. Слід зазначити, що часто ефект препаратів був надто сильним. Так, після введення ПМ і ПМ+ВК спостерігалось перевищення контрольного рівня активності Na, К-АТФази в 1,4 - 1,5 рази у мозку. Вплив ПГ і ПГ+ВК у цьому органі був значно слабкішим, але все ж достатньо вираженим.

Зазначимо, що у крові та печінці більш високі значення цього показника спостерігалися після використання ПМ, а у мозку та серці — після введення ПГ.

Таким чином, з'ясовано, що за використаної моделі ішемічної гіпоксії пригнічується енергетичний обмін не тільки в мозку, але і в інших органах і тканинах. Як ПМ, так і ПГ виявили здатність коригувати досліджені показники за ішемії, однак більш ефективним (особливо для мозку) виявився ПМ. Це можна пояснити високою проникаючою здатністю цієї сполуки і її потужною антигіпоксичною дією [10]. Застосований нами ВК сприяв позитивним впливам ПГ і ПМ на обмін енергії за ішемії мозку.

Література

1. *Изменение поведенческих и электрофизиологических показателей у крыс при нарушении мозгового кровообращения* / Буров Ю. В., Косой М. Ю., Мирзоян Р. С. и др. // Бюлл. эксперим. биол. и мед. — 1987. — № 8. — С.144-147.
2. *Розанов А. Я., Трецинский А. И., Хмелевский Ю. В.* Ферментативные процессы и их коррекция при экстремальных состояниях. — К.: Здоров'я, 1985. — 208 с.
3. *Хмелевский Ю. В.* Взаимоотношения между витаминами при гипоксических состояниях // Мат. Всесоюз. симп. "Межвитаминные взаимоотношения". — Гродно, 1976. — С. 184.
4. *Иванова И. А., Бобков Ю. Г., Машковский М. Д.* Теоретические и экспериментальные основы фармакотерапии гипоксии мозга // Фармакологическая регуляция состояний дезадаптации / Под ред. Ю. Г. Бобкова. — М.: 1986. — С. 82-98.

5. *Создание* новых лекарственных препаратов на базе витаминов и ГАМК. Пикамилон, пантогам и родственные соединения // Пикамилон в современной неврологической и психиатрической практике (клинико-экспериментальные исследования) / Копелевич В. М., Буланова Л. Н., Мариева Т. Д., Гунар В. И. — М.: НПО "Витамины", 1994. — С. 13-23.
6. *Fridmann T., Haugen G.* Pyruvic acid: the determination of ketoacids in the blood and urine // *J. Biol. Chem.* — 1943. — № 147. — P. 415-442.
7. *Методы* биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под редакцией М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. — 272 с.
8. *Lecoco J., Inesi G.* Determination of inorganic phosphate in the presence of adenosine triphosphate by the molybdovanadate methode // *Anal. Biochem.* — 1966. — V.15, № 1. — P. 160-163.
9. *Карпов Л. М.* Роль Na, К-АТФазы во взаимоотношениях тиамин и липоевой кислоты при всасывании, происходящем в желудочно-кишечном тракте // *Физиол. журн.* — 1989. — Т. 35, № 2. — С. 51-57.
10. *Кругликова-Львова Р. П., Ковлер М. А., Мирзоян Р. С., Буров Ю. В., Ганьшина Т. С., Копелевич В. М., Авакумов В. М., Гунар В. И.* Пикамилон — новый вазоактивный и ноотропный препарат // *Хим.-фарм. журн.* — 1989. — № 2. — С. 252-255.

Полтавцева Н. В., Анисимов В. Ю.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра биохимии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ПОКАЗАТЕЛИ ОБМЕНА ЭНЕРГИИ У КРЫС ПРИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ИХ КОРРЕКЦИЯ ГАМК-СОДЕРЖАЩИМИ ПРОИЗВОДНЫМИ ВИТАМИНОВ

Резюме

Двусторонняя окклюзия сонных артерий вызывает нарушение кровообращения в головном мозге крыс и, как следствие, возникновение его ишемии. Это приводит к заметному уменьшению в нем содержания пировиноградной кислоты (ПВК) и накоплению ее в крови и сердечной мышце. При этом существенно уменьшаются концентрации лактата (Л) в мозге, общих макроэргических фосфатов (ОМФ), активность Na, К-АТФазы и соотношение Л/ПВК во всех исследованных органах и тканях. Это свидетельствует об угнетении энергетического обмена в организме животных. Введение крысам с ишемией таких ГАМК-содержащих препаратов, как пикамилон (ПК) и пантогам (ПГ), в основном приводят к нормализации указанных показателей. Совместное их введение с витаминным комплексом (В₁, ФМН, никотиновая кислота) значительно увеличивают этот корригирующий эффект.

Ключевые слова: ишемия, пикамилон, пантогам, лактат, пируват, Na, К-АТФаза.

Poltavtseva N. V., Anisimov V. Yu.

I. I. Mechnikov Odessa National University, Department of Biochemistry,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine

ENERGY METABOLISM PARAMETERS IN THE ORGANISMS OF RATS WITH BRAIN ISCHEMIA AND THEIR CORRECTION WITH GABA-CONTAINING VITAMIN DERIVATIVES

Summary

Bilateral carotid artery occlusion causes impairment of cerebral circulation and development of its ischemia. The concentration of pyruvic acid notably decreases in

rat's brain and increases in blood and heart. In these conditions concentration of lactic acid in brain was essentially decreased, as well as concentration of total macroergic phosphates, Na, K-ATPase activity and the lactate/pyruvate ratio in all studied organs. This testifies to the inhibition of the energetics metabolism in the rats organisms. Picamilone (PM) and Pantogamum (PG) injected to the organism of ischemic rats perform normalizing effect on the indexes. This effect is more developed in the case of picamilone and pantogam usage together with vitamin complex (B₁, FMN, nicotinic acid).

Key words: ischemia, picamilone, pantogamum, lactate, pyruvate, Na, K-ATPase.