

© Р. С. БАБЛОЯН, 2003

УДК 616.447-008.64-07:616.153.466-073.916-092.9

Р. С. Баблоян

ВСАСЫВАНИЕ В КИШЕЧНИКЕ И ТРАНСПОРТ ^{14}C -АМИНОКИСЛОТ ПРИ ИЗМЕНЕНИИ БАЛАНСА ИОНОВ Na^+ И Ca^{2+} КРОВИ В УСЛОВИЯХ НЕДОСТАТОЧНОСТИ ФУНКЦИИ ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ У КРЫС

Научно-исследовательский центр Ереванского государственного медицинского университета им. М. Гераци

При недостаточности функции околощитовидных желез (ОЩЖ) в организме нарушается ряд жизненно важных процессов.

Процессы всасывания в кишечнике и транспорта аминокислот в ткани в условиях недостаточности функции ОЩЖ изучены недостаточно.

Настоящее исследование посвящено изучению перехода меченных ^{14}C -аминокислот из кишечника в кровь и в ткани паратиреопривных крыс.

У белых крыс-самцов массой 120–140 г электрокоагуляцией вызывали недостаточность функции ОЩЖ и на 5–6-й день после операции в желудок вводили смесь эквимольных количеств меченных ^{14}C -аминокислот с удельной радиоактивностью 240 мКи/мМ (Чехия) из расчета 50 мКи на 100 г массы животного. Время экспозиции составило 45 мин.

Уровень радиоактивности в крови и тканях измеряли на спектрометре СЛ-42221 ("Рош-Биоэлектроник", Франция). Данные выражали в импульсах на 1 г сырой ткани в минуту.

Количество Na^+ и Ca^{2+} определяли ионселективным методом на анализаторе "Microlite" ("Kone", Финляндия).

Выяснилось, что в условиях недостаточности функции ОЩЖ нарушается баланс ионов Na^+ — Ca^{2+} , увеличивается переход меченных ^{14}C -аминокислот из кишечника в кровь на 86,4%, из крови в печень на 22,9%, в почки на 38,1%, в сердце на 55,3%, в селезенку на 73,5%.

Наблюдаемое повышение концентрации меченных ^{14}C -аминокислот в крови и тканях паратиреопривных крыс, по-видимому, объясняется усилением пассивной диффузии и механизмов, ответственных за транспорт аминокислот, под влиянием изменения баланса ионов Na^+ — Ca^{2+} в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Malfunction of the parathyroid glands (PG) results in impairments of some vital processes. Intestinal absorption and tissue transport of amino acids under this condition are little studied.

The present study deals with the transfer of labeled ^{14}C -amino acids from the intestine to blood and tissue of parathyroid-malfunctioned rats.

In albino male rats weighing 120–140 g, electrocoagulation was used to induce PG malfunction and on days 5–6 after surgery a mixture of equimolar quantities of labeled ^{14}C -amino acids with a specific radioactivity of 240 mCi/mM (Czechia) at the rate of 50 mCi per 100 g of animal weight was administered into their stomachs. The exposure lasted 45 minutes.

The radioactivity in the blood and tissues was measured on a SL-42221 spectrometer (Roche-Bioelectronic, France). The readings were expressed in impulses/g of raw tissue per min.

The content of Na^+ and Ca^{2+} was assayed by the ion-selective test on a Microlite analyzer (Kone, Finland)

PG malfunction was found to impair the balance of Na^+ and Ca^{2+} , to increase the transfer of labeled ^{14}C -amino acids from the intestine to the blood by 86.4%, that from the blood to the liver, kidney, heart, and spleen by 22.9, 38.1, 55.3, 73.5%, respectively.

The observed increase in the concentration of labeled ^{14}C -amino acids in the blood and tissues of parathyroid-malfunctioned rats is likely to be explained by enhanced passive diffusion and mechanisms that are responsible for the transport of amino acids under the altered balance of Na^+ and Ca^{2+} in PG malfunction.

Известно, что недостаточность функции околощитовидных желез (ОЩЖ) приводит к уменьшению концентрации паратгормона в крови, в результате чего нарушается ряд жизненно важных процессов, в том числе гомеостаз кальция в организме.

Ранними исследованиями нашей лаборатории были выявлены существенные сдвиги в содержании нейтроактивных аминокислот в ЦНС (гамма-аминомасляная, глутаминовая, аспарагиновая кислоты) у паратиреопривных крыс [3]. Было установлено также, что при предварительном введении смеси меченных ^{14}C -аминокислот в желудок контрольных и паратиреопривных крыс у последних по сравнению с контролем изменяется всасывание и переход меченных ^{14}C -аминокислот из крови в отделы ЦНС [1].

Всасывание аминокислот в кишечнике, их уровень в крови и тканях могут изменяться при различных физиологических и патологических состояниях организма [4, 5, 7, 9, 10].

Между тем в условиях гипофункции ОЩЖ процессы транспорта аминокислот из кишечника в кровь и в ткани изучены недостаточно.

Определенный интерес представляет также изучение роли ионов натрия и кальция в процессах всасывания в кишечнике и транспорта аминокислот в тканях в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Учитывая вышеизложенное, настоящее исследование посвящено изучению всасывания меченных ^{14}C -аминокислот из кишечника в кровь и накопления этих аминокислот в органах крыс (сердце, печень, почки, селезенка), а также определению количественного соотношения ионов натрия и кальция в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Материалы и методы

Опыты проводили на белых крысах-самцах массой 120–140 г. Недостаточность функции ОЩЖ

вызывали электрокоагуляцией этих желез под местной новокаиновой анестезией. О недостаточности функции ОЩЖ судили по степени развития клинических симптомов и снижению количества кальция в сыворотке крови животных. Количество ионов кальция и натрия в сыворотке крови определяли ионселективным методом на анализаторе "Microlite" ("Kone", Финляндия).

В эксперименте была использована смесь эквивалентных количеств аминокислот, меченных по углероду с удельной радиоактивностью 240 мКи/мМ (Чехия).

Меченые аминокислоты вводили в желудок контрольных и паратиреопривных животных на 5–6-й день после электрокоагуляции ОЩЖ из расчета 50 мКи на 100 г массы животного. Время экспозиции составляло 45 мин. Животных декапитировали, брали кровь и органы. Определенное количество крови и измельченных тканей вносили в сцинтилляционные флаконы, солибилизировали с помощью "Гиамин 10х". После полного растворения продукта среду нейтрализовали с помощью уксусной кислоты до pH 4,0–5,0 и добавляли жидкий сцинтиллятор на основе диоксана. Уровень радиоактивности измеряли на жидкостном сцинтилляционном спектрометре СЛ-42221 ("Рош-Биоэлектроник", Франция). Данные выражали в импульсах на 1 г сырой ткани в минуту.

Результаты и их обсуждение

Как известно, при недостаточности функции ОЩЖ нарушается гомеостаз кальция в организме, причем гомеостаз кальция в крови и других жидкостях и тканях регулируется главным образом паратгормоном [2, 6, 8]. Ионы Ca^{2+} принимают участие в различных клеточных процессах, в том числе и в транспорте других ионов через мембраны. Вход же самого Ca^{2+} в клетку обеспечивается Ca^{2+} — АТФазой и переносчиком Na^+ — Ca^{2+} -обмена. Высказано предположение о том, что паратгормон стимулирует выход Ca^{2+} из костной ткани с помощью механизма обмена Na^+ — Ca^{2+} [8]. Выявлено также действие паратгормона на снижение скорости транспорта Na^+ и H_2O в перфузируемой *in situ* подвздошной кишке интактных крыс. У тиропаратиреоидэктомированных крыс ингибирующее влияние паратгормона на транспорт Na^+ и H_2O из просвета кишки в слизистую оболочку выражен в большей степени [6].

Существенное влияние на обменные процессы оказывают ионизированный натрий и кальций сыворотки крови; ионизированный Ca^{2+} составляет около половины общего кальция крови, а ионизированный Na^+ — 85% от общего количества натрия крови.

Известно важное значение ионов Na^+ среды во всасывании аминокислот в кишечнике, их транспорте в тканях организма.

В аспекте изложенного определенный интерес представляет изучение количественных изменений Na^+ и Ca^{2+} и их соотношения в сыворотке крови у крыс в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Таблица 1

Содержание и соотношение ионизированных Na^+ и Ca^{2+} в сыворотке крови интактных и паратиреопривных крыс (в мМ/л)

Животные	Na^+	Ca^{2+}	Коэффициент количественного соотношения $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$
Интактные ($n = 8$)	$152,9 \pm 2,4$	$0,86 \pm 0,04$	177,7
Паратиреопривные ($n = 8$)	$144,8 \pm 1,6$	$0,45 \pm 0,02$	321,7
	$p > 0,05$	$p < 0,001$	
% изменений	-5,0	-48,3	+75,4

Как видно из полученных нами данных (табл. 1), содержание ионизированного кальция в сыворотке крови паратиреопривных крыс по сравнению с содержанием ионизированного кальция в сыворотке крови интактных животных снижается на 48,3%. Что же касается количества ионизированного натрия, то из табл. 1 видно, что у паратиреопривных крыс его содержание в сыворотке крови не меняется в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Вместе с тем, хотя содержание ионов натрия в сыворотке крови паратиреопривных крыс сохраняется в пределах контроля, тем не менее, как видно из полученных данных, существенно нарушается количественное соотношение ионов Na^+ и Ca^{2+} . Иначе говоря, в результате происходит относительное увеличение содержания ионов натрия в сыворотке крови по сравнению с содержанием ионов кальция, и тем самым изменяется баланс этих ионов в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Так, если коэффициент количественного соотношения ионов Na^+ и Ca^{2+} у этих крыс составляет 177,7, то у паратиреопривных животных этот показатель равен 321,7, т. е. соотношение этих ионов изменяется на 75,4% в пользу натрия.

Такое изменение баланса ионов натрия и кальция в сыворотке крови паратиреопривных крыс в пользу натрия, по-видимому, играет определенную роль в распределении аминокислот в тканях и жидкостях организма.

В организме постоянство качественного и количественного состава аминокислот в обменных фондах сбалансировано гомеостатическими механизмами и мембранным транспортом, при этом механизмы транспорта рассматриваются как контролируемые метаболические изменения пула свободных аминокислот [4, 11, 12].

Именно исходя из полученных нами данных и обсуждений, в следующей серии опытов мы провели исследования, касающиеся всасывания смеси радиоактивных аминокислот из кишечника в кровь и их накопления в сердце, печени, почках, селезенке контрольных и паратиреопривных крыс. Из табл. 2 видно, что через 45 мин после введения в желудок смеси эквивалентных количеств меченных ^{14}C -аминокислот радиоактивность крови контрольных крыс составляет 6,842 импульса на 1 г сырой ткани в минуту, а у паратиреопривных — 12,758. За этот же период времени радиоактивность у контрольных крыс составляет в сердечной мышце 37,450, в печени — 133,300, в почке — 138, 225; в селезенке — 43,500 импульса, а у крыс с недостаточ-

Всасывание смеси меченных ^{14}C -аминокислот из кишечника в кровь и их накопление в органах крыс при недостаточности функции ОЩЖ (количество импульсов на 1 г сырой ткани в минуту у интактных и паратиреопривных животных)

Животные	Кровь	Печень	Почки	Сердце	Селезенка
Интактные ($n = 5-6$)	$6,842 \pm 0,374$	$133,300 \pm 8,341$	$138,225 \pm 6,707$	$37,450 \pm 2,466$	$43,500 \pm 2,738$
Паратиреопривные ($n = 5-6$)	$12,758 \pm 1,145$	$163,720 \pm 13,245$	$190,909 \pm 9,625$	$58,320 \pm 2,346$	$75,480 \pm 4,507$
% изменений	+86,4	+22,9	+38,1	+55,3	+73,5
p	< 0,001	< 0,05	< 0,001	< 0,001	< 0,001

ностью функции ОЩЖ в тех же органах — 58,320, 163,72, 190,909, 75,480 импульса соответственно.

При сравнении уровней меченных ^{14}C -аминокислот в крови и исследуемых органах контрольных крыс с таковыми в крови и тех же органах паратиреопривных крыс видно, что при недостаточности функции ОЩЖ увеличивается накопление меченных ^{14}C -аминокислот из кишечника в кровь на 86,4%, из крови в печень на 22,9%, в почки на 38,1%, в сердце на 55,3%, в селезенку на 73,5%.

Итак, в условиях недостаточности функции ОЩЖ, нарушенного баланса натрия и кальция в организме у паратиреопривных крыс нами впервые получены данные, указывающие на существенное изменение транспорта аминокислот из кишечника в кровь и из крови в исследуемые органы (печень, почки, сердце, селезенка).

В свете наших предыдущих исследований [1, 3] особый интерес представляют данные литературы, касающиеся поглощения ^3H -аспартата и ^3H -глутамата пузырьками щеточной каемки кишечника крыс, которое стимулируется при создании натриевого градиента на мембранах [5].

Вместе с тем данные литературы указывают на существование различных транспортных систем переноса аминокислот, причем каждая система переносит определенную группу близких по строению аминокислот.

Так, установлено, что аминокислоты проникают через мембраны везикул тощей кишки кролика по 3 основным системам: 1) пассивная диффузия; 2) Na^+ -независимые переносчики; 3) Na^+ -зависимые переносчики. Анализ кинетики транспорта аминокислот свидетельствует о наличии в этих мембранах по меньшей мере 2 Na^+ -независимых и 3 Na^+ -зависимых путей, опосредованных переносчиками [12].

Именно поэтому полученные нами данные относительно ускорения всасывания смеси меченных ^{14}C -аминокислот из кишечника в кровь при недостаточности функции ОЩЖ, по-видимому, следует объяснить активацией как пассивной диффузии, так и Na^+ -независимого и Na^+ -зависимого путей транспорта аминокислот, и в частности, изменением натриевого градиента на мембранах везикул тощей кишки.

Как видно из табл. 2, наряду с повышением концентрации аминокислот в крови при недостаточности функции ОЩЖ наблюдается увеличение накопления меченных ^{14}C -аминокислот в тканях исследуемых органов. Ускорение транспорта аминокислот из крови в ткани сердца, печени, почек и селезенки в условиях недостаточности функции

ОЩЖ, по-видимому, обусловлено прежде всего усилением пассивной диффузии из-за повышения концентрации аминокислот в крови этих животных. На активацию процесса транспорта аминокислот из крови в ткани паратиреопривных крыс, по-видимому, влияет также и измененный баланс $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Таким образом, процесс усиления всасывания из кишечника в кровь меченых аминокислот и активации их транспорта во внутренние органы у паратиреопривных крыс, по-видимому, свидетельствует в пользу формирования адаптивных механизмов с целью обеспечения жизненно важных биосинтетических процессов и энергетических потребностей организма в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

Выводы

1. В условиях недостаточности функции ОЩЖ у крыс в сыворотке крови существенно нарушается баланс между ионами Na^+ и Ca^{2+} .

2. При введении крысам в желудок смеси меченных ^{14}C -аминокислот в условиях недостаточности функции ОЩЖ по сравнению с контрольными животными ускоряется всасывание аминокислот из кишечника в кровь на 86,4%, увеличивается накопление этих же аминокислот в печени на 22,9%, в почке на 38,1%, в сердце на 55,3%, в селезенке на 73,5%.

3. Повышение концентрации меченных ^{14}C -аминокислот в крови паратиреопривных крыс, по-видимому, объясняется усилением механизмов, ответственных за транспорт аминокислот из кишечника в кровь, в результате изменения баланса $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ в крови в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

4. Увеличение накопления меченных ^{14}C -аминокислот в исследуемых органах (печень, почки, сердце, селезенка) паратиреопривных крыс, по-видимому, объясняется ускорением пассивной диффузии аминокислот в ткани из-за повышения их концентрации в крови, а также, возможно, активацией механизмов, ответственных за транспорт аминокислот, под влиянием изменения баланса $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

5. Процесс усиления всасывания из кишечника в кровь меченых аминокислот и активация их транспорта во внутренние органы у паратиреопривных крыс, по-видимому, свидетельствуют в пользу формирования адаптивных механизмов с целью обеспечения жизненно важных биосинтети-

ческих процессов и энергетических потребностей организма в условиях недостаточности функции ОЩЖ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бабоян Р. С., Ерицян Л. Н. // Мед. наука Армении. — 2000. — Т. 40, № 1. — С. 35—38.
2. Дедов И. И., Мельниченко Г. А., Фадеев В. В. // Эндокринология. — М., 2000. — С. 517—544.
3. Ерицян Л. Н., Бабоян Р. С. // Журн. exper. и клин. мед. — 1986. — Т. 26, № 2. — С. 131—135.
4. Прохорова М. Н. // Нейрохимия. — Л., 1979. — С. 20—185.
5. Corcelli Angela, Prezioso Girolamo, Palmieri Ferdinando, Storelli Carlo // Biochim. Biophys. Acta. — 1982. — Vol. 689, N 1. — P. 97—105.

6. Drucke T., Lacour B., Chanard J. // Miner. Electrolyte Metab. — 1980. — Vol. 4, N 2. — P. 68—80.
7. Easson A. M., Bode B. P., Fischer C. P., Souba W. W. // J. Surg. Res. — 1998. — Vol. 77, N 1. — P. 29—34.
8. Krieger Naney S., Tashjian Armen H. // Nature. — 1980. — Vol. 287, N 5785. — P. 843—845.
9. Lerner Joseph // Comp. Biochem. Physiol. — 1987. — Vol. 87, N 3. — P. 443—457.
10. Lohman R., Souba W. W., Lakzowski K., Bode B. P. // Metabolism. — 1998. — Vol. 47, N 5. — P. 608—616.
11. Low S. Y., Taylor P. M., Hundal H. S. et al. // Biochem. J. — 1992. — Vol. 284, N 2. — P. 333—340.
12. Stevens Bruce R., Ross Helen J., Wright Ernest M. // J. Membr. Biol. — 1982. — Vol. 66, N 3. — P. 213—225.

Поступила 14.12.01

◆ ОБЗОР

© Ю. П. СЫЧ, А. В. ЗИЛОВ, 2003

УДК 615.252.349 (048.8)

Ю. П. Сыч, А. В. Зилов

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ АКТОВЕГИНА В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

Кафедра эндокринологии (зав. — акад. РАМН И. И. Дедов) ММА им. И. М. Сеченова

Одним из патогенетических механизмов в развитии осложнений сахарного диабета (СД) является нарушение окислительно-восстановительных процессов, необходимых для обеспечения энергетических потребностей клеток. В связи с этим очевидна важность профилактики и коррекции этих нарушений. В настоящее время не существует универсального лекарственного препарата, способного воздействовать на все звенья патогенеза развития осложнений СД. Поэтому осуществляется активный поиск новых подходов к терапии СД.

В настоящее время уже накоплен достаточный теоретический и практический опыт использования высокоочищенного гемодиализата (актовегин, "Nuscomed", Австрия) в качестве препарата, влияющего на клеточном уровне на нарушенные процессы энергетического обеспечения.

Актовегин представляет собой высокоочищенный гемодиализат, получаемый методом ультрафильтрации из крови телят. Препарат состоит только из физиологических компонентов с высокой биологической активностью — органических низкомолекулярных соединений: аминокислот, олигопептидов, нуклеозидов; промежуточных продуктов углеводного и жирового обмена: олигосахаридов, гликолипидов, электролитов и ряда важных микроэлементов. Помимо 4 основных микроэлементов (натрия, кальция, фосфора, калия), актовегин содержит и магний, который является компонентом нейропептидных фрагментов и ферментов. При этом следует иметь в виду, что, по данным современной нейробиохимии, именно магний является каталитическим центром всех известных на сегодняшний день нейропептидов головного мозга и имеет статус нейроседативного иона.

Технология получения актовегина исключает наличие в нем белковых и других компонентов, обладающих антигенными и пирогенными свойствами. Более того, проведенные клинические исследования доказали, что в актовегине не содержится дополнительных примесей компонентов крови.

Механизмы действия актовегина. Основной фармакологического действия актовегина является его влияние на процессы внутриклеточного метаболизма, в частности улучшение транспорта глюкозы в клетки и поглощение кислорода в тканях. Поступление в клетку большего количества кислорода приводит к активации процессов аэробного окисления, увеличивая энергетический потенциал клетки. На клеточном уровне актовегин дает следующие эффекты:

повышается обмен высокоэнергетических фосфатов (АТФ); активируются ферменты окислительного фосфорилирования (пируват- и сукцинатдегидрогеназы, цитохром С-оксидаза); повышается активность кислой фосфатазы и лизосомальная активность клетки; повышается активность щелочной фосфатазы, ускоряется синтез углеводов и белков; увеличивается приток ионов калия в клетку, происходит активация калийзависимых ферментов: каталаз, сахараз, глюкозидаз; ускоряется распад продуктов анаэробного гликолиза — лактата и β -гидроксипирувата, нормализуя внутриклеточный pH.

При проведении молекулярно-биологических исследований было обнаружено, что актовегин оказывает инсулиноподобное действие. При этом он действует по иному механизму, чем инсулин, поскольку в экспериментах не удалось обнаружить фосфорилирования инсулиновых рецепторов клеток [8, 16].

Как указывалось выше, актовегин в своем составе содержит олигосахаридную фракцию. Олигосахариды актовегина способны имитировать эффекты инсулина, такие как стимуляция липогенеза, ингибирование липолиза, торможение образования внутриклеточного цАМФ и активация транспорта глюкозы в клетку, что было доказано в исследованиях как *in vitro*, так и *in vivo* [14].

По данным В. Obermaier-Kusser и соавт. [16], стимуляция транспорта глюкозы происходит через модуляцию активности внутриклеточного переносчика глюкозы. Благодаря наличию гликолипидов в своем составе актовегин непосредственно вызывает активизацию переносчиков глюкозы, не оказывая влияния на рецепторы инсулина в клетках. Сходные эффекты были описаны и в отношении фосфолипазы С [16], на основании чего было выдвинуто предположение о том, что воздействие инсулина на транспорт глюкозы в жировых клетках происходит через активацию фосфолипазы С с последующим высвобождением из гликолипидов мембран специфических для жировых клеток инозитолфосфатных олигосахаридов (ИФ-олигосахаридов), которые содержатся во фракции ИФ-олигосахаридов актовегина. Способность ИФ-олигосахаридов из актовегина имитировать влияние инсулина на транспорт глюкозы может быть объяснена и их структурным сходством с предполагаемыми гликолипид-дериwатными медиаторами действия инсулина [15, 20], поскольку химический анализ компонентов фракции выявил, помимо инозитолфосфата и других сахаров [12], наличие маннозы и малых количеств гликозамина.