

УДК: 597.164.12.001.5:591

Можливість корекції вітамінами групи В та їх похідними енергетичного обміну у мишей в умовах гіпобаричної гіпоксії**Л.М.Карпов, Л.Г.Савлучинська, Н.В.Полтавцева, Л.А.Преснова, В.В.Пєнов***Одеський національний університет імені І.І.Мечникова (Одеса, Україна)*
lmkarpov@onu.edu.ua

Вивчено вплив ін'єкцій вітамінів групи В (В₁, В₂, В₃, РР, ліпоєвої кислоти) та їх комплексу на деякі показники енергетики у мишей та їх стійкість в умовах гіпоксії різної глибини. Встановлено, що самі вітаміни і комплекс, а, особливо їх сполучення із ГАМК-вміщуючими похідними, здатні помітно стабілізувати ці показники при підгострій гіпобаричній гіпоксії (280 мм рт. ст.); причому, що важливо ще в більшій мірі – підвищували строк виживання тварин при гострій гіпоксії (220 і 200 мм рт. ст.).

Ключові слова: *вітаміни групи В, енергетика, гіпоксія.*

Возможность коррекции витаминами группы В и их производными энергетического обмена у мышей в условиях гипобарической гипоксии**Л.М.Карпов, Л.Г.Савлучинская, Н.В.Полтавцева, Л.А.Преснова, В.В.Пєнова**

Изучено влияние инъекций витаминов группы В (В₁, В₂, В₃, РР, липоевой кислоты) и их комплекса на некоторые показатели энергетики у мышей и их устойчивость в условиях гипоксии различной глубины. Установлено, что сами витамины и их комплекс, а особенно их сочетание с ГАМК-содержащими производными, способны заметно стабилизировать эти показатели при подострой гипобарической гипоксии (280 мм рт. ст.); причем, что важно еще в большей степени – повышали срок выживания животных при острой гипоксии (220 и 200 мм рт. ст.)

Ключевые слова: *витамины группы В, энергетика, гипоксия.*

Possibility of correcting energy metabolism of mice by B vitamins and their derivatives at hypobaric hypoxia**L.M.Karpov, L.G.Savluchynska, N.V.Poltavtseva, L.A.Pryesnova, V.V.Penov**

The effect of injections of vitamins (B₁, B₂, B₃, PP, lipoic acid) and their complex on some indices of energetics of mice and their stability in the conditions of hypoxia of different depth has been studied. It has been found that vitamins and their complex, and particularly their combination with GABA-containing derivatives can significantly stabilize these parameters at subacute hypobaric hypoxia (280 mm Hg); moreover, they increased animals survival at acute hypoxia (220 and 200 mm Hg).

Key words: *B vitamins, energetics, hypoxia.*

Вступ

Відомо, що гіпоксія призводить до серйозних і навіть до незворотних порушень структури і функцій клітин. Особливо чутливі до гіпоксії енергетичні механізми тканин мозку (Буров і др., 1987; Джафаров і др., 1989). В основі цих ушкоджень лежать вільнорадикальні процеси і перекисне окиснення ліпідів і, як наслідок, – руйнування мембран. Тому опірність тварин і людини до гіпоксії значною мірою визначається саме стійкістю їх мозку і серця до цих факторів, на ефект дії яких можливо, у деякій мірі, впливати (Куликовський, Михельсон, 2000). Певний результат у цьому можливо очікувати від комплексних препаратів, створених на основі вітамінів, і особливо від включення до них кон'югатів гама-аміномасляної кислоти (ГАМК) з деякими вітамінами: пікамілону (ПМ), пантогаму (ПГ), аскорбінат-ГАМК (АГ) (Копелевич і др., 1994). Зазначимо, що пікамілон – це нікотиноїл-ГАМК, а пантогам – пантеноїл-ГАМК.

Що стосується чисто вітамінних комплексів групи В різного складу, то їх стимулюючий вплив на біосинтез макроергічних сполук в органах щурів був показаний нами раніше (Карпов та ін., 2008), але лише у нормі. Пізніше подібні дослідження (ті ж показники) були нами проведені вже в умовах помірної (сублетальної – 280 мм рт. ст.) гіпоксії, у тому числі відносно рівня деяких коферментів (Карпов,

Будняк, 2003; Карпов та ін., 2004, 2011). Те, що подібні кон'югати вітамінів з ГАМК, можуть бути корисними і при інших патологічних станах, встановлено, наприклад, і у випадку експериментальної епілепсії у щурів (Денисенко и др., 2011).

Гіпоксичні стани мають місце у значній кількості захворювань (серцево-судинних, гематологічних, токсичних та ін.). У зв'язку з цим, у якості однієї з експериментальних моделей таких патологій ми використали гіпобаричну гіпоксію, оскільки вона добре дозується і контролюється. Вивчення дії гіпоксії на організм має велике значення для авіаційної, космічної і спортивної медицини, для підводників, водолазів, альпіністів і багатьох інших галузей діяльності людини.

У відповідності зі сказаним вище, метою даного дослідження є подальше вивчення дії вітамінів групи В, активність яких тісно пов'язана з енергетичними механізмами організму, та деяких їх похідних, що є хімічними кон'югатами з ГАМК, на стійкість цих механізмів у мишей в умовах підгострої гіпоксії та на час їх виживання – при гострій.

Дане ж дослідження є продовженням наших робіт, виконаних у 2003–2011 роках (Карпов, Будняк, 2003; Карпов та ін., 2004, 2011; Денисенко и др., 2011).

Об'єкти та методи дослідження

Підгостру гіпоксію у самців білих мишей (нелінійних) віком 2 місяці і масою 18–20 г викликали поміщенням їх на 30 хв. в ексикатор із підсосним клапаном, в якому створювався тиск повітря у 280 мм рт. ст. поступово протягом 10 хв, а в дослід брали через 10 хв після встановлення в ексикаторі нормального тиску.

Гостру гіпоксію створювали таким же чином, але з тиском повітря 220, а в деяких варіантах дослідів і 200 мм р. ст.

Препарати вводили внутрішньом'язово за 30 хв до дослідів. Їх дози були розроблені нами у попередніх дослідженнях (Карпов, 1994) і становили у мг/кг маси: тіаміну хлориду – 12; ФМН (рібофлавінмононуклеотид) – 2; нікотинаміду – 10; В₃ (кальцію пантотенат) – 40; ліпоевої кислоти (вітамін N) – 2. Вітамінний комплекс (ВК) містив такі ж дози вітамінів. У роботі також використані пікамилон, доза якого була еквівалентною нікотинаміду, пантогам – еквімолярно пантотенату-Са²⁺. Що стосується самої ГАМК, то її доза була еквімолярною ПГ (зрозуміло, і В₃).

У дослідженнях були використані наступні методи. В органах і тканинах визначали активність піруватдегідрогенази (ПДГ) (Kießling, Lundquist, 1962), а також загальних, макроергічних фосфатів (ЗМФ) (Lecoso, Inesi, 1996). У даному дослідженні ЗМФ – це сумарний вміст АТФ, інших нуклеотидів, креатинфосфату.

Результати та обговорення

Для дослідження впливу гіпобаричної гіпоксії на стан енергетики у піддослідних тварин ми використали два підходи: спочатку у однієї з підгруп вивчали дію підгострої гіпоксії (280 мм рт. ст.) на рівень загальних макроергічних фосфатів (ЗМФ) в їх органах, а потім у другій групі і активність піруватдегідрогенази (ПДГ).

Що стосується макроергічних фосфатів (табл. 1), то у крові тварин після дії підгострої гіпоксії їх вміст дещо збільшився, хоча і недостовірно, а в досліджуваних органах помітно знизився: у мозку і серці достовірно на 23% і 33,5% відповідно, а в печінці – на 15,8%. Отримані результати свідчать на наш погляд про серйозну втрату цих речовин найбільш чутливими до дії гіпоксії органами тварин: це може бути їх розпад (в основному) і вихід у кров'яне русло (у меншій мірі).

Попереднє введення тваринам препаратів, що вивчались, значною мірою запобігало такому розвитку подій, хоча у мозку і серці ефект був дещо меншим, ніж у печінці. Найбільш значущим він був для таких комбінацій, як (ПГ+ВК) – (ПМ+ВК) і дещо меншим – для (АК-ГАМК+ВК).

Отримані дані вимагали подальших досліджень, а саме: які механізми лежать в основі встановлених закономірностей і яких наслідків слід очікувати при гострій гіпоксії (220 чи навіть 200 мм рт. ст.).

У другій частині досліджень (табл. 2) встановлено, що час виживання мишей при 220 мм рт. ст. збільшується, хоча і статистично недостовірно, після введення нікотинаміду; більш достовірного результату вдалось спостерігати для пантотенату – на 14% (p<0,05). Значно більший і достовірний ефект зареєстровано для таких препаратів, як пікамилон – ПМ (зі збільшенням на 14%), пантогам – ПГ (збільшення на 19,5%) і особливо сама ГАМК (збільшення на 28%). Проте комплекс вітамінів (ВК) показав ще більший результат – збільшення на 32% (достовірність розраховано відносно контролю 2).

Поєднання ВК з ГАМК-вміщуючим препаратом ПГ дало ще більший приріст цього ефекту (до 10,1 хв), тобто на 40,2% .

Таблиця 1.

Вміст загальних макроергічних фосфатів у крові (мкг/мл) та органах (мкг/г тканини) за гіпобаричної підгострої (280 мм рт. ст.) гіпоксії і після попередніх (за 30 хв) ін'єкцій ГАМК-вміщуючих сполук і вітамінного комплексу, n=8

Варіанти	Кров	Печінка	Мозок	Серце
Контроль 1	50,7±7,6	328,9±24,8	467,5±29,3	546,0±34,3
Гіпобарична гіпоксія (280 мм рт. ст.)				
Контроль 2	63,9±9,1	192,6±20,3	360,0±26,8*	363,3±21,8*
ГАМК	107,3±11,4**	330,8±19,5**	384,6±22,1*	480,0±25,7
ГАМК+ВК	107,4±11,4**	365,8±29,0**	352,5±22,6*	445,0±22,1*
ПГ	100,8±8,9**	361,2±28,7**	365,8±11,1	486,7±29,3*
ПГ+ВК	73,5±9,5**	427,5±9,6**	482,9±16,7*	522,5±33,2*
ПМ	95,3±12,4**	387,4±25,7**	410,4±22,7*	453,2±35,6*
ПМ+ВК	103,1±17,6**	375,2±9,8**	508,3±36,4*	540,8±38,8*
АК-ГАМК	55,1±7,8	327,5±33,7*	419,2±9,4*	453,0±28,2
АК-ГАМК+ВК	63,4±3,3	379,8±14,5*	498,0±19,8*	448,3±25,2*

Примітки: * – відмінності від контролю-1 достовірні, $p < 0,05$; ** – відмінності від контролю-2 достовірні, $p < 0,05$.

Таблиця 2.

Вплив одноразових попередніх (за 10 хв) ін'єкцій мишам препаратів на час їх виживання при гострій гіпоксії (220 мм рт. ст.) і активність ПДГ (ммоль відновленого фериціаніду на 1 г тканин за 30 хв) при підгострій (280 мм рт. ст.) гіпоксії (M+m), n=8

Препарат	Час виживання при 220 мм рт. ст. (хв.)	Активність ПДГ через 10 хв після дії підгострої гіпоксії (280 мм рт. ст. протягом 30 хв)		
		Мозок	Серце	Печінка
Контроль 1 (інтактні)	–	12,1±1,2	21,1±1,8	17,5±1,2
Контроль 2 (гіпоксія)	7,2±0,3	8,3±0,9	10,5±0,7	8,9±0,6
Нікотинамід (НА)	7,8±0,2	9,9±0,7	12,7±1,2	9,8±0,8
Пікамилон (ПМ)	8,2±0,2	10,4±0,6	12,4±0,9	9,9±0,7
Пантотенат-Са ²⁺ (ПК, В ₃)	8,3±0,2	11,0±0,7	16,6±0,6*	15,4±0,9*
Пантогам (ПГ)	9,2±0,16	14,1±0,9*	17,8±1,3*	17,6±1,1*
Гама-аміномасляна кислота (ГАМК)	8,7±0,18*	12,4±0,9*	16,2±1,1*	16,9±1,2*
(ВК)	9,5±0,5*	14,3±0,9*	22,1±2,1*	19,1±1,5*
(ВК+ПМ)	9,8±0,6*	14,2±0,7*	22,0±1,8	19,2±1,3*
(ВК+ПГ)	10,1±0,5*	15,3±0,6*	22,2±2,1*	20,1±1,9*

Примітка: * – різниця з контролем 2 достовірні ($p < 0,05$).

Але особливо чітким і достовірним цей ефект відносно ПДГ був у порівнянні з контролем 2.

Перспективність використання ГАМК та ГАМК-вміщуючих похідних вітамінів виявилась ще виразніше при ще більш гострій гіпоксії – 200 мм рт. ст. (табл. 3). При цьому ми використовували еквімолярні дози всіх препаратів у трьох варіантах: 100, 500 і 1000 мкмоль/кг маси мишей (табл. 2).

Контролем у цих дослідах служили також еквімолярні дози CaCl_2 , оскільки ПК та її похідні були кальцієвими солями.

Паралельно з цим, у такій же постановці дослідів, але при підгострій гіпоксії (280 мм рт. ст.), вивчали її вплив на активність ПДГ в органах мишей (табл. 2). Із цієї таблиці видно, що вона після дії гіпоксії значно (у 2 рази) знижувалась у серці і у меншій мірі у мозку – 44,5%. Попереднє введення тваринам препаратів, що вивчались, або знижували таку дію гіпоксії – на 10–15 % (НА, ПМ, В₃), або навіть піднімали активність даного ферменту вище вихідного рівня (контроль 1 – інтактні); особливо це стосується варіанту ВК+ПГ. Тобто спостерігається певний паралелізм між здатністю препаратів активізувати ПДГ при 280 мм рт. ст. і підвищувати час виживання мишей при 220 мм рт. ст. Такий висновок співпадав із даними, що наведені вище (табл. 1), тобто рівень ЗМФ у тканинах певною мірою залежить від активності ПДГ.

Таблиця 3.

Вплив попередніх (за 30 хв) ін'єкцій різних доз речовин, що вивчались, на час виживання мишей (у хвиликах) при гострій гіпоксії (200 мм рт. ст.) ($M \pm m$, $n=10$)

Дози, мкмоль на кг маси	Контроль, (CaCl_2)	ПК (В ₃)	ГАМК	ПГ	ПМ	ПГ+ВК
100	2,6±0,10	4,6±0,18	7,3±0,20	7,5±0,20	7,6±0,23	8,1±0,21
500	2,7±0,12	6,1±0,23	10,0±0,34	9,9±0,47	8,9±0,41	11,1±0,37
1000	2,2±0,15	8,5±0,31	12,6±0,67	13,9±0,71	12,8±0,60	15,2±0,50

Примітка: різниці з контролюми достовірні для всіх препаратів і відповідних доз (у всіх випадках $p < 0,05$).

Таким чином, усі препарати, що вміщують ГАМК, більш ефективні, ніж ПК відносно показників, що вивчались, хоча і незначно відрізняються між собою. Але комбінація їх з ВК, а особливо варіант (ПГ+ВК), дають надію, що подібні дослідження слід продовжувати і в інших варіантах гіпоксичних станів, які частково розглянуті іншими авторами (Буров и др., 1987; Джафаров и др., 1989; Куликовский, Михельсон, 2000).

Висновки

1. Гіпоксія (підгостра) призводить до суттєвого зниження енергетичного потенціалу організму піддослідних тварин:

- практично паралельно знижується і вміст загальних макроергічних фосфатів;
- зменшується активність піруватдегідрогенази в органах.

2. Час виживання тварин при гострій гіпоксії (при 220 або 200 мм рт. ст.) певною мірою корелює з падінням енергетичних спроможностей організму.

3. Попереднє введення ГАМК-вміщуючих препаратів, ВК, а тим більш їх комбінацій, може бути перспективним напрямом у фармакології (розробка нових препаратів), медичній практиці (патології, що пов'язані з гіпоксією, ішемічними станами), різних галузях професійної діяльності.

Список літератури

Буров Ю.В., Косой М.Ю., Гальшина Т.С. и др. Изменение поведенческих и электрофизиологических показателей у крыс при нарушении мозгового кровообращения // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1987. – Т.97, №8. – С. 144–147. /Burov Yu.V., Kosoy M.Yu., Gal'shina T.S. i dr. Izmeneniye povedencheskikh i elektrofiziologicheskikh pokazateley u krys pri narushenii mozgovogo krovoobrashcheniya // Byull. eksperim. biol. i med. – 1987. – Т.97, №8. – С. 144–147./

Джафаров А.И., Магомедов Н.М., Бабаев Х.Ф. и др. Перекисное окисление липидов и активность АТФазы в синапсомальных и митохондриальных фракциях мозга при гипоксии // Вопр. мед. химии. – 1989. – вып.4. – С. 51–56. /Dzhafarov A.I., Magomedov N.M., Babayev Kh.F. i dr. Perekisnoye okisleniye lipidov i aktivnost' ATFazy v sinaptosomal'nykh i mitokhondrial'nykh fraktsiyakh mozga pri gipoksii // Vopr. med. khimii. – 1989. – вып. 4. – С. 51–56./

Денисенко О.В., Шандра А.А., Бузыка Т.В. и др. Влияние изопикамила на пикротоксин-индуцированную генерализованную активность у крыс // Научные труды III съезда физиологов СНГ. –

Москва-Ялта, 2011. – С.39. /Denisenko O.V., Shandra A.A., Buzyka T.V., i dr. Vliyaniye izopikamilona na pikrotoksin-indutsirovannuyu generalizovannuyu aktivnost' u krysa // Nauchnyye trudy III syezda fiziologov SNG. – Moskva-Yalta, 2011.– S.39./

Карпов Л.М. Реализация специфической активности функционально связанных витаминов группы В, их производных и комплексов при различных состояниях организма. Дисс. ... д-ра биол. наук: 14.00.25. – Одесса, 1994. – 505с. /Karpov L.M. Realizatsiya spetsificheskoy aktivnosti funktsional'no svyazannykh vitaminov gruppy B, ikh proizvodnykh i kompleksov pri razlichnykh sostoyaniyakh organizma. Diss. ... d-ra biol. nauk: 14.00.25. – Odessa, 1994. – 505 s./

Карпов Л.М., Будняк О.К. Корируюча дія ГАМК-вміщуючих препаратів та вітамінного комплексу на рівень флавінових коферментів та активність сукцинатдегідрогенази у щурів із ішемічною гіпоксією мозку // Вісник ОНУ. – 2003. – Т.8, вип.6 (Біологія). – С. 191–198. /Karpov L.M., Budnyak O.K. Koryuyucha diya GAMK-vmishchuyuchykh preparativ ta vitaminnogo kompleksu na riven' flavinovykh kofermentiv ta aktyvnist' suksynatdegidrogenazy u shchuriv iz ishemichnoyu gipoksiyeyu mozku // Visnyk ONU. – 2003. – Т.8, вып.6 (Biologiya). – S. 191–198./

Карпов Л.М., Запорожченко О.В., Будняк О.К., Сорокін А.В. Захисна дія ГАМК-вміщуючих та вітамінних препаратів на рівень флавінових та нікотинамідних коферментів у щурів з підгострою гіпобаричною гіпоксією // Вісник Одеського національного університету. – Одеса, 2004. – Т.9, вип.1 (біологія). – С. 259–266. /Karpov L.M., Zaporozhchenko O.V., Budnyak O.K., Sorokin A.V. Zakhysna diya GAMK-vmishchuyuchykh ta vitaminnykh preparativ na riven' flavinovykh ta nikotinamidnykh kofermentiv u shchuriv z pidgostroyu gipobarychnoyu gipoksiyeyu // Visnyk Odes'kogo natsional'nogo universytetu. – Odessa, 2004. – Т.9, вып.1 (biologiya). – S. 259–266./

Карпов Л.М., Анісімов В.Ю., Полтавцева Н.В. Порівняльна динаміка вмісту макроергічних фосфатів і загальної АТФ-азної активності в органах щурів після різних способів введення вітамінних комплексів // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н.Каразіна, серія «Біологія». – Харків, 2008. – №814, вип.7. – С. 13–17. /Karpov L.M., Anisimov V.Yu., Poltavtseva N.V. Porivnyal'na dynamika vmistu makroergichnykh fosfativ i zagal'noi ATF-aznoi aktyvnosti v organakh shchuriv pislya riznykh sposobiv vvedennya vitaminnykh kompleksiv // Visnik Kharkivs'kogo natsional'nogo universytetu im. V.N.Karazina, seriya «Biologiya». – Kharkiv, 2008. – №814, вып.7. – S. 13-17./

Карпов Л.М., Полтавцева Н.В., Савлущинська Л.Г. та ін. Вплив вітамінних комплексів різного складу на енергетичні показники у щурів при патологічних та експериментальних станах // Вісник морської медицини. – Одеса, 2011. – №3 (53). – С. 132–133. /Karpov L.M., Poltavtseva N.V., Savluchyn'ska L.G. ta in. Vplyv vitaminnykh kompleksiv riznogo skladu na energetychni pokaznyky u shchuriv pry patologichnykh ta eksperymental'nykh stanakh // Visnyk mors'koi medytsyny. – Odessa, 2011. – №3 (53). – S. 132–133./

Копелевич В.М., Буланова Л.Н., Мариева Т.Г., Гунар В.И. Создание новых лекарственных препаратов на базе витаминов и ГАМК. Пикамилон, пантогам и родственные соединения // Пикамилон в современной психиатрической практике (клинико-экспериментальные исследования). – М.: НПО «Витамины», 1994. – С. 13–23. /Kopelevich V.M., Bulanova L.N., Mariyeva T.G., Gunar V.I. Sozdaniye novykh lekarstvennykh preparatov na baze vitaminov i GAMK. Pikamilon, pantogam i rodstvennyye soyedineniya // Pikamilon v sovremennoy psikiatricheskoy praktike (kliniko-eksperimental'nye issledovaniya). – M.: NPO «Vitaminsy», 1994. – S.13–23./

Куликовский В.И., Михельсон Г.В. Суммирование и независимость нейропротекторных эффектов антагонистов ГАМК_A- и ГАМК_B-рецепторов при полной глобальной ишемии головного мозга // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2000. – Т.130, №8. – С. 187–189. /Kulikovskiy V.I., Mikhel'son G.V. Summirovaniye i nezavisimost' neyroprotektornykh effektov antagonistov GAMK_A- i GAMK_B.retseptorov pri polnoy global'noy ishemii golov'nogo mozga // Byulleten' eksperymental'noy biologii i medytyny. – 2000. – Т.130, №8. – S. 187–189./

Lecoco J., Inesi G. Determination of inorganic phosphate in the presence of adenine triphosphate by the molybdovanadate method // Analit. Biochem. – 1996. – Vol.15, №1. – P. 160–163.

Kiessling K., Lundquist C. Thiamine diphosphate in growing tissues. III. Pyruvate oxidation in liver mitochondria from young and from thiamine diphosphate deficient adult rats // Exp. Cell. Res. – 1962. – Vol.26, №1. – P. 189–197.

Представлено: Т.Л.Карасьова / Presented by: T.L.Karasyova

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 01.11.2013