

**ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ГАМК И
БЕНТОНИТА НА СОДЕРЖАНИЕ НЕЙРОАКТИВНЫХ
АМИНОКИСЛОТ В ОРГАНАХ И ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ
КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ
АЛЛОКСАНОВОМ ДИАБЕТЕ**

ТАРОЯН С.К., ВАРДАНИЯН.Г., ХАЧАТРЯН Р.С., КАМАЛЯН Р.Г.

*Институт биохимии им. Г.Бунятыана НАН РА
sirarpy.taroyan@mail.ru*

Внутрибрюшинное введение крысам ГАМК и одновременное скормливание животным бентонита способствует ослаблению диabetогенного действия аллоксана, однако не снимает полностью его гипергликемический эффект. ГАМК и бентонит в отдельности оказывают менее выраженное действие. Введение ГАМК сопровождается повышением ее уровня в поджелудочной железе, но не в мозге. Скормливание бентонита достоверно снижает содержание дикарбоновых аминокислот в органах крыс и препятствует повышению уровня ГАМК в поджелудочной железе животных, одновременно получавших эту аминокислоту. Полученные данные свидетельствуют об умеренном протективном антидиабетогенном действии совместного применения бентонита и ГАМК.

Аллоксан-диабет- бентонит-ГАМК-мозг-поджелудочная железа.

ԳԱԿԹ-ի ներորովայնային ներարկումը և բենտոնիտի միաժամանակ կերակրումը առնետների նպաստում է ալոքսանի դիաբետոգեն ազդեցության թուլացմանը, սակայն լիովին չի կանխում վերջինիս հիպերգլիկեմիկ ազդեցությունը: ԳԱԿԹ-ը և բենտոնիտը առանձին ավելի թույլ ազդեցություն են դրսևորում: ԳԱԿԹ-ի ներարկումը զուգորդվում է նրա պարունակության բարձրացմամբ ենթաստամոքսային գեղձում, բայց ոչ ուղեղում: Բենտոնիտը իջեցնում է երկկարբոն ամինաթթուների մակարդակը առնետների օրգաններում և կանխում է ԳԱԿԹ-ի կոնցենտրացիայի աճը ԳԱԿԹ և բենտոնիտ ստացող կենդանիների ենթաստամոքսային գեղձում: Ստացված տվյալները վկայում են բենտոնիտի և ԳԱԿԹ-ի համատեղ օգտագործման չափավոր հակադիաբետոգեն ազդեցության մասին:

Ալոքսան-դիաբետ-բենտոնիտ-ԳԱԿԹ-ուղեղ-ենթաստամոքսային գեղձ

GABA intraperitoneal injection to rat and simultaneously feeding of bentonit promote attenuation the diabetogen action of alloxan, but don't remove completely its hyperglycemic effect. GABA and bentonit separately show less pronounced action. GABA injection is attend by the increase its level in pancreas but not in the brain. Bentonit feeding decreases concentration of dicarboxylic amino acids in rat organs and protect GABA level increase in pancreas of rat, received this amino acid simultaneously with bentonit. The data obtained testify to modest protect antidiabetic action of combined using of GABA and bentonit.

Alloxan-diabet- bentonit- GABA -brain-pancreas

Хорошо известна роль ГАМК как мощного ингибиторного транмисмиттера нервной деятельности. Тормозное действие ГАМК распространяется и на другие ткани и органы, в частности иммунную систему и поджелудочную железу [10,12,13]. Иммунные клетки, содержащие глутаматные и ГАМК рецепторы [11,14], не обходятся без предшественника этих нейротрансмисмиттерных аминокислот глутамина, который помимо генерации вышеуказанных аминокислот, необходим им как источник энергии, азота и углерода [12]. Аналогичное наблюдается и с поджелудочной железой, которая содержит нейроактивные аминокислоты в количествах, сопоставимых с мозгом [5,7,13]. ГАМК усиливает синтез и секрецию инсулина β -клетками и подав-

ляет аналогичные процессы в α - и δ -клетках, касающиеся глюкагона и соматостатина [13]. Считается, что введение ГАМК ограничивает патогенные аутоиммунные ответы, индуцируемые проинсулином, и способствует усилению им же вызванных регуляторных ответов [15]. Авторы считают, что совместное действие проинсулина и ГАМК может синергично подавлять воспаление и способствовать восстановлению нормогликемии. Необходимо отметить, что в лечении диабета большую роль играют строгая диета и соответствующая кишечная микрофлора, которая влияет на иммунный статус организма [8]. Состав кишечной флоры существенно влияет на состояние жирового обмена организма и развитие диабета [9]. По данным авторов пересадка микрофлоры здоровых людей диабетикам способствует их излечению. Бентонит влияет на состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта, связывает различные токсины, способствует усвоению пищи [1]. В этом плане совместное применение бентонита в качестве минеральной подкормки и ГАМК или генерирующих ее веществ может усилить противовоспалительные иммунные ответы и ослабить воспалительные. Подобный подход может, на наш взгляд, способствовать предупреждению или задержке развития сахарного диабета.

Материал и методы

Исследования были проведены на белых крысах массой 180-200г, содержащихся на обычном рационе в условиях вивария института биохимии НАН РА. Животные были разделены на 4 группы по 5 в каждой: 1-ая контрольная получала внутрибрюшинно 0.5мл физиологического раствора, 2-ая-25мг/кг ГАМК, через день в течение 10 дней, 3-ая-1% бентонита в корме в течение 10 дней, 4-ая-бентонит ежедневно+ГАМК через день. Через 5 дней животным внутрибрюшинно вводили аллоксан в дозе 150мг/кг и через 2 суток забивали под легким эфирным наркозом, удаляли панкреас и мозг, в которых определяли аминокислоты семейства глутамина. Экстракцию аминокислот осуществляли 6% HClO_4 . Разделение аминокислот в перхлоратных экстрактах осуществляли методом высоковольтного электрофореза в пиридин-ацетатном буфере, pH 3.9, аминокислоты определяли нингидриновым методом [2]. Глутамин определяли в электрофоретической фракции нейтральных аминокислот по амидному азоту с использованием микродиффузионного метода [4]. Глюкозу крови определяли с помощью глюкометра Ассу-Чек (Германия).

Результаты и обсуждение

В таблице 1 представлено содержание аминокислот в панкреасе крыс. Как видно пятикратное введение ГАМК крысам способствует ее накоплению в панкреасе и внутрибрюшинная инъекция аллоксана не влияет на этот процесс. Регистрируется достоверное уменьшение содержания аспартата и глутамата после инъекции аллоксана на фоне 5-дневного скармливания животным бентонита.

Таблица 1. Влияние аллоксана на содержание нейроактивных аминокислот в панкреасе крыс, получавших бентонит и ГАМК

Группы	АК	ГК	ГН	ГАМК
Контроль	1.36 0.91 $\pm$ 0.09	2.61 $\pm$ 0.37	4.74 $\pm$ 0.43	1.07 $\pm$ 0.25
ГАМК	1.42 0.95 $\pm$ 0.35	3.19 $\pm$ 0.44	4.68 $\pm$ 0.22	3.45 $\pm$ 0.30*
Бентонит	1.05 0.70 $\pm$ 0.09*	1.93 $\pm$ 0.27*	5.17 $\pm$ 0.41	1.02 $\pm$ 0.11
ГАМК+бентонит	1.36 0.91 $\pm$ 0.11	3.00 $\pm$ 0.23	4.54 $\pm$ 0.49	1.15 $\pm$ 0.14

Примечание: Аллоксан вводили крысам внутрибрюшинно на 5-ый день после скармливания им бентонита (1% корма) и внутрибрюшинного введения ГАМК (20мг/кг)

Содержание аминокислот в таблицах дано в мкмоль/г свежей ткани, n=5

Представленные в таблице 2 результаты свидетельствуют о том, что внутрибрюшинное введение ГАМК не сопровождается повышением ее концентрации в мозге, однако скормливание бентонита достоверно снижает концентрацию глутамата и аспартата. Подобная картина может быть связана как возможным связыванием дикарбоновых аминокислот бентонитом, так и с их неспособностью, а также ГАМК, преодолевать гемато-энцефалический барьер.

Таблица 2. Влияние аллоксана на содержание нейроактивных аминокислот в мозге крыс, получавших бентонит и ГАМК

Группы	АК	ГК	ГН	ГАМК
Контроль	2.74±0.23	6.79±0.45	5.44±0.52	1.61±0.34
ГАМК	2.43±0.18	5.65±0.17	4.68±0.20	1.61±0.27
Бентонит	1.93±0.13*	5.61±0.37*	5.45±0.41	1.88±0.23
ГАМК+бентонит	2.37±0.22	5.33±0.44	5.18±0.36	1.52±0.38

Таблица 3. Влияние аллоксана на содержание глюкозы в крови крыс, получавших бентонит и ГАМК

Группы	Глюкоза ммоль/л
Контроль	34.8±3.6
ГАМК	27.9 ±3.4
Бентонит	25.3±2.8*
ГАМК+бентонит	20.8±2.5*

В таблице 3 представлены результаты определения глюкозы в крови. Необходимо отметить, что в отличие от прежних наших опытов по предотвращению предварительно введенным ингибитором ГАМК-трансаминазы этаноламин-О-сульфатом повышения концентрации глюкозы диабетогеном аллоксаном, в настоящих опытах введение самой ГАМК проявляет лишь статистически недостоверную тенденцию снижения уровня глюкозы. Необходимо отметить, что противогликемический эффект этаноламин-О-сульфата при стрептозотоциновом экспериментальном диабете был достоверен, но менее выражен [3]. Скармливание бентонита, а также, в особенности, одновременное введение ГАМК приводит к более выраженному статистически значимому ослаблению действия аллоксана. Однако нормализации уровня глюкозы под действием исследованных соединений не происходит, что не совсем согласуется с мнением о возможности регенерации островковых β-клеток и секреции инсулина под действием ГАМК и регуляции ею аутоиммунной реакции [15]. Можно предположить, что химические модели экспериментального сахарного диабета I типа не вполне соответствуют патогенезу этой болезни.

Литература

1. Аракелян Ф.Р., Арутюнян Э.Я., Камалян Р.Г. К механизму действия бентонитовой глины у жвачных. Тезисы докладов научн. конфер. Ереван. зоовет. инст., 1988, 22-23.
2. Камалян Р.Г., Мовсесян С.Г. Вopr. биохимии мозга. Изд.АН Арм ССР, 2, с. 40-48,1966.
3. Камалян Р. Г., Арутюнян А.А., Хачатрян Н.Х., Варданян А. Г., Тароян С.Г. Влияние ГАМК-генерирующих факторов на содержание нейроактивных аминокислот в органах

крыс при экспериментальном стрептозотоциновом диабете. Мед. Наука Армении, LV, N 4, 32-42, 2015.

4. Силакова А.И., Труш Г.П., Являкова А. Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых ТХУ экстрактах. Вopr.мeд.химии, 5, с. 538-542, 1962.
5. Atkinson M.A., Maclaren.N.K., Sharp D.W., Lacy P.E., Riley W.J. 64000 Mr autoantibodies as predictors of insulin-dependent diabetes. Lancet, v. 335, p. 1357-1360, 1990.
6. Bhat R., Axtel R., Miranda M., Lock C., Tsien R.W., Steinman L. Inhibitory role for GABA in autoimmune inflammation. Proc. Natl. Acad. Sci., USA. 2010, v. 107, p. 2880-2885.
7. Braun M. et al., GABA is an autocrine excitatory transmitter in human pancreatic β -cells. Diabetes, 59, 1694-1701, 2010.
8. Cani P.D., Bibiloni R., Knauf C., Waget A., Neyrinck A.M., Delzenne N.M., Burcelin R. Change in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice. Diabetes. 2008, 57(6), 1470-1481.
9. Cani P.D., Amar J., Iglesias M.A. et al. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. Diabetes. 2007, 56(7), 1761-1772
10. Garry D.J., Coulter H.D., Mc Intee T.J., Wu J.Y., Sorenson R.L. Immunoreactive GABA-T within the pancreatic islets localized in mitochondria in the β -cell. J. Histochem.Cytochem. v.35, p. 831-836, 1987.
11. Kostanyan I.A., Merkulova M.I., Novolotskaya E.V., Nurieva R.I. Study of interaction between L-glutamate and human blood lymphocytes// Immunol. Lett., 1997 - 58(3) - P. 177-180.
Newsholme P. Why Is L-Glutamine Metabolism Important to Cells of the Immune System in Health, Postinjury, Surgery or Infection?// J. Nutrition, 2001-131 - 2515S-2522S.
12. Sorenson R.L., Garry D.G., Brelje T. C. Structural and functional considerations of GABA in islets of Langerhans.Diabetes., v.40, p. 1365-1374, 1991.
13. Tian J., Chau C., Hales T.G. et al. GABAA receptors mediate inhibition of T cell responses J.Neuroimmunol., 1999 - 96 - P. 21-28. 21. Tian J., Kaufman D.L. Antigen-based therapy for the treatment of type 1 diabetes. Diabetes. 58, 1939-1946, 2009.
14. Tian J., Dang H., Nguyen An V., Chen Z., Kaufman D.L. Combined therapy with GABA and proinsulin/alum acts synergistically to restore longterm normoglycemia by modulating T-cell autoimmunityand promoting β -cell replication in newly diabetic NOD mice. Diabetes, v.63, no.9, 3128-3134, 2014.

Биолог. журн. Армении, 1 (69), 2017

ВЛИЯНИЕ ДЛИНЫ АЛКИЛЬНОЙ ЦЕПИ ПОВЕРХНОСТНО АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА УСТОЙЧИВОСТЬ БИСЛОЙНОЙ ЛИПИДНОЙ МЕМБРАНЫ

Л. А. ТОНОЯН

*Ереванский государственный университет, кафедра молекулярной физики
lilittonoyan.ysu@gmail.com*

В работе исследовано влияние анионоактивных поверхностно-активных веществ: лаурилсульфата натрия ($C_{12}H_{25}SO_4Na$), пентадецил сульфата натрия ($C_{15}H_{31}SO_4Na$) и лауретсульфата натрия ($C_{18}H_{37}SO_7Na$) на устойчивость бислойной липидной мембраны в электрическом поле. Показано, что с увеличением длины алкильной цепи поверхностно активного вещества устойчивость БЛМ в электрическом поле уменьшается.