



Биолог. журн. Армении, 4 (71), 2019

АНТИДИАБЕТОГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСА НЕЙРОАКТИВНЫХ АМИНОКИСЛОТ НА МОДЕЛИ АЛЛОКСАНОВОГО ДИАБЕТА

Р.С. ХАЧАТРЯН, Н.Х. ХАЧАТРЯН, Р.Г. КАМАЛЯН

*Институт биохимии им. Г. Бунятыана НАН РА
rip.khachatryan@mail.ru*

Изучено влияние комплекса ГАМК и генерирующих ее соединений на сдвиги глюкозы крови и нейроактивных аминокислот мозга и поджелудочной железы, инициируемых аллоксаном. Показано, что 5-дневное введение комплекса “отравленным” аллоксаном крысам снимает гипергликемический эффект аллоксана и нормализует вызываемые им сдвиги содержания нейроактивных аминокислот в мозге и поджелудочной железе животных. Исследованный комплекс может быть апробирован на больных диабетом.

Аллоксан – мозг – поджелудочная железа – глюкоза – нейроактивные аминокислоты

Ուսումնասիրվել է ԳԱԿԹ և այն գեներացնող միացությունների կոմպլեքսի ազդեցությունը ալոքսանի կողմից դրթվող արյան գլյուկոզի և ուղեղի ու ենթաստամոքսային գեղձի նյարդաակտիվ ամինաթթուների մակարդակի փոփոխությունների վրա: Ցույց է տրվել, որ կոմպլեքսի 5-օրյա ներորոպվայնային ներարկումն ալոքսանով թունավորված առնետներին հանում է ալոքսանի հիպերգլիկեմիկ ազդեցությունը և նորմալացնում է դրա կողմից առաջացնող կենդանիների ուղեղի և ենթաստամոքսային գեղձի նյարդաակտիվ ամինաթթուների տեղաշարժերը: Ուսումնասիրված կոմպլեքսը կարելի է փորձարկել շաքարախտով հիվանդների վրա:

Ալոքսան – ենթաստամոքսային գեղձ – գլյուկոզ – նյարդաակտիվ ամինաթթուներ

The influence of GABA and its generation compounds complex on the alloxan-induced blood glucose and brain and pancreas neuroactive amino acids content shifts has been studied. It was shown that 5 days intraperitoneal injection of complex to alloxan-treated rats prevented hyperglycemic effect and normalized neuroactive amino acids shifts, induced by alloxan in animals brain and pancreas. The analyzed complex may be tested in the diabetes mellitus patients.

Alloxan – brain – pancreas – glucose – neuroactive amino acids

Аллоксан– химический диабетоген, вызывающий диабет первого типа (Т1Д) путем токсического разрушения β -клеток островков Лангерганса поджелудочной железы [7-9]. Механизм действия заключается в генерации в присутствии внутриклеточных тиолов, особенно глутатиона, реактивных форм кислорода (РФК) в циклической реакции с его восстановленным продуктом диалуровой кислотой. β -клеточное токсическое действие аллоксана запускается образующимися в этой реакции свободными радикалами (СР). Аутоокисление диалуровой кислоты генерирует супероксидный радикал ($O_2^{\cdot-}$), перекись водорода (H_2O_2) и на последней, катализируемой железом стадии, гидроксильный радикал (OH^{\cdot}), который в конечном

счете ответственен за гибель β -клеток с их очень низкой антиоксидантной защитой, что приводит к развитию инсулинзависимого “аллоксанового диабета”.

Как тиоловый реагент, аллоксан избирательно подавляет индуцируемую глюкозой секрецию инсулина, благодаря способности подавлять глюкокиназу путем окисления SH-групп белковой молекулы и, следовательно, нарушает окислительный метаболизм и сенсорную функцию глюкозы –этого сигнального фермента β -клетки. В последние годы на основании исследований роли ингибиторного нейротрансмиттера ГАМК в функциях поджелудочной железы рассматривается в качестве перспективного терапевтического средства при диабете, в частности при Т1Д [1, 5, 10]. В проведенных Камалиным и сотр. опытах было показано, что введение крысам ГАМК генерирующих соединений в течение трех дней перед стрептозотоциновым [1] или аллоксановым [4] отравлением поддерживает уровень ГАМК в поджелудочной железе и значительно снижает гипергликемический эффект диabetогена. Исходя из вышеизложенного, в настоящем исследовании мы испытали действие комплекса нейроактивных аминокислот и ГАМК генерирующих соединений, обладающих выраженными противовоспалительными, антиоксидантными и репарирующими β -клетки свойствами на сдвиги глюкозы в крови и содержание нейроактивных аминокислот в мозге и поджелудочной железе крыс с индуцированным аллоксановым диабетом.

Материал и методика. Исследования были проведены на белых крысах массой 180-200 г, содержащихся на обычном рационе в условиях вивария института биохимии НАН РА. Животные были разделены на 4 группы по 5 в каждой: 1-я контрольная получала внутривенно 1.0 мл физиологического раствора, 2-я – аминокислотный комплекс с ингибитором ГАМК-трансаминазы этаноламин-О-сульфатом (ЭОС), 3-я – аллоксан (150 мг/кг), 4-я – аллоксан + 2. Через 5 дней после ежедневного введения препаратов животных забивали под легким эфирным наркозом, удаляли мозг и поджелудочную железу, в которых определяли аминокислоты семейства глутамина. Экстракцию аминокислот осуществляли 6%-ным HClO_4 . Разделение аминокислот в перхлоратных экстрактах осуществляли методом высоковольтного электрофореза в пиридин-ацетатном буфере, pH 3.9, аминокислоты определяли нингидриновым методом по калибровочным графикам, построенным с использованием стандартных аминокислот фирмы Sigma Chemical Company (USA) [2]. Глутамин определяли в электрофоретической фракции нейтральных аминокислот по амидному азоту с использованием микродиффузионного метода [3]. Глюкозу крови определяли с помощью глюкометра Ассси-Чек (Германия).

Результаты и обсуждение. В табл. 1 представлены результаты определения глюкозы в крови исследованных групп крыс.

Таблица 1. Содержание глюкозы в крови крыс после 5-дневного введения исследуемого комплекса

Группы	Глюкоза, мМ/л
1	5.6±0.4
2	6.1±0.6
3	29.6±2.5*
4	6.2±0.4**

Примечание: 1-интактные крысы, 2-комплекс, 3-аллоксан, 4-аллоксан+комплекс

Было показано, что введение комплекса аминокислот в течение пяти дней после аллоксановой интоксикации снижает содержание глюкозы с 26.7±2.1 мМ/л до 11.9±1.6 мМ/л на 3-й день и до 6.2±0.4 мМ/л на 5-й день, т.е. имеет место нормализация уровня глюкозы в крови крыс. Подобный эффект, скорее всего, обус-

ловлен пролиферацией сохранившихся островковых β -клеток под действием комплекса нейроактивных аминокислот, содержащих ГАМК и ингибитор его обмена, способных репарировать β -клетки, усиливать синтез инсулина и его высвобождение [1,10]. Ранее нами было показано, что предварительное трехдневное внутрибрюшинное введение крысам этаноламин-О-сульфата (ЭОС) в дозе 500 мг на 1 кг массы предотвращает гипергликемический эффект последующего введения животным аллоксана [4].

В табл. 2 представлены данные по определению нейроактивных аминокислот в мозге после 5-дневного внутрибрюшинного введения ЭОС в комплексе с некоторыми аминокислотами на фоне введения аллоксана. Как видно из табл. 2, использованный комплекс вызывает двукратное увеличение содержания ГАМК в мозге при статистически недостоверном уменьшении уровня глутамин и повышении глутамата.

Таблица 2. Влияние комплекса аминокислот и ингибитора ГАМК-трансаминазы на содержание нейроактивных аминокислот в мозге крыс

Ам-ты, $\mu\text{M}/\text{г}$	1	2	3	4
АК	2.2 \pm 0.3	2.4 \pm 0.3	2.1 \pm 0.2	2.6 \pm 0.4
ГК	7.6 \pm 0.9	8.5 \pm 0.7	8.1 \pm 0.9	8.2 \pm 0.7
ГН	3.4 \pm 0.5	2.9 \pm 0.3	2.8 \pm 0.2	2.7 \pm 0.4
ГАМК	2.1 \pm 0.2	4.2 \pm 0.4*	2.3 \pm 0.3	3.7 \pm 0.3**

Примечание: АК-аспартат, ГК-глутамат, ГН-глутамин, ГАМК- γ -аминомасляная кислота
1-интактные крысы, 2-комплекс, 3-аллоксан, 4-аллоксан+комплекс. *-статистически значимые сдвиги по сравнению с группой 1, $p < 0.05$; ** - статистически значимые сдвиги по сравнению с группой 3, $p < 0.05$.

Аллоксан, как и в прежних наших опытах, не вызывает статистически значимых изменений в концентрации аминокислот мозга, что, повидимому, обусловлено непроницаемостью гемато-энцефалического барьера для аллоксана. Введение препаратов на фоне аллоксана вызывает лишь достоверно значимое повышение концентрации ГАМК, что, несомненно, отражается на ГАМК-ергических центральных механизмах регуляции гомеостаза глюкозы крови [6].

Таблица 3. Влияние комплекса аминокислот и ингибитора ГАМК-трансаминазы на содержание нейроактивных аминокислот в поджелудочной железе крыс

Ам-ты, $\mu\text{M}/\text{г}$	1	2	3	4
АК	1.2 \pm 0.1	1.6 \pm 0.2	2.1 \pm 0.2*	1.9 \pm 0.2
ГК	2.4 \pm 0.3	2.7 \pm 0.4	3.5 \pm 0.3*	2.7 \pm 0.2**
ГН	2.9 \pm 0.3	3.1 \pm 0.3	3.8 \pm 0.2*	2.8 \pm 0.4**
ГАМК	1.2 \pm 0.2	2.5 \pm 0.2*	0.7 \pm 0.1*	2.1 \pm 0.2**

Обозначения те же, что и в табл. 2.

Из данных табл. 3 видно, что введение аллоксана вызывает статистически достоверные сдвиги в концентрации всех исследованных аминокислот в поджелудочной железе крыс. При этом на фоне повышения концентрации дикарбоновых аминокислот и глутамин имеет место падение содержания ГАМК, что, повидимому, играет определенную роль в патогенезе аллоксанового диабета. Введение исследуемого нами комплекса повышает уровень ГАМК как у интактных (в 2 раза), так и в особенности у аллоксановых крыс (в 3 раза). Аллоксан как и в прежних на

ших опытах повышал уровень предшественников ГАМК глутамина и глутамата в поджелудочной железе, вызывая снижение концентрации этого нейротрансмиттера и нейротрофического фактора. В мозге содержание нейроактивных аминокислот статистически значимо не отличалось от контроля, что, вероятно, связано с непроницаемостью гемато-энцефалического барьера для аллоксана. Пятидневное введение аминокислотного комплекса вызывало повышение уровня ГАМК в мозге и поджелудочной железе аллоксановых крыс как в сравнении с группой, получавшей только аллоксан, так и с группой интактных крыс. Полученные результаты свидетельствуют об эффективности использованного комплекса нейроактивных аминокислот в лечении аллоксанового диабета, который может быть апробирован и на больных диабетом.

ЛИТЕРАТУРА

1. 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 НАН РА, LV, 4, с.32-42, 2015.
2. Камалян Р.Г., Мовсесян С.Г. Некоторые стороны регуляции обмена глутамата, аспартата и ГАМК в митохондриальной фракции мозговой ткани. Вопр. биохим. мозга, Изд. АН Арм. ССР, 2, с. 40-48. 1966.
3. Силакова А.И., Труш Г.П., Являкова А. Микрометод определения аммиака и глутамина в тканевых ТХУ экстрактах. Вопр.мед.химии. 5, с. 538-542. 1962.
4. Хачатрян Н.Х., Варданян А. Г., Тароян С.Г., Хачатрян Р.С., Камалян Р. Г. Влияние этаноламин-О-сульфата на содержание нейроактивных аминокислот в органах крыс в норме и при экспериментальном аллоксановом диабете. Биолог. журн. Армении, 69, 1, с. 68-72, 2017.
5. Gladkevich A, Korf J, Hakobyan V.P., Melkonyan K.V. The peripheral GABAergic system as a target in endocrine disorders. Autonomic Neurosci., 124, (1-2), с. 1-8, 2006.
6. Lang C. Inhibition of central GABA A receptors enhances hepatic glucose production and peripheral glucose uptake. Brain Res. Bul., 37, p. 611-616, 1995.
7. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. Diabetologia. 51, 2, p. 216-226, 2008.
8. Lenzen S. Alloxan and streptozotocin diabetes. Advance Research Institutes of Diabetes Animals. 6, 4, p. 113-122. 2010.
9. Szskudelski G. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β -cells of the rat pancreas. Physiol. Res., 50, p. 537-546, 2001.
10. Tian J., Dang H., Nguyen An V., Chen Z., Kaufman D.L. Combined therapy with GABA and proinsulin/alum acts synergistically to restore long-term normoglycemia by modulating T-cell autoimmunity and promoting β -cell replication in newly diabetic NOD mice. Diabetes, 63, 9, p. 3128-3134, 2014.

Поступила 16.10.2019