

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИВОГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ГЛУТАМИНОВОЙ И N-АЦЕТИЛГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТ

Л. М. Макарова, В. Е. Погорелый¹

Проведено сравнительное исследование противогипоксической активности глутаминовой и N-ацетилглутаминовой кислот в дозах 1, 10, 50 и 100 мг/кг. Экспериментально установлено, что наиболее выраженное противогипоксическое действие объектов исследования наблюдается в условиях гипобарической гипоксии в дозе 100 мг/кг. Антигипоксическая активность ацетилированного производного глутаминовой кислоты существенно превосходит активность глутаминовой кислоты.

Ключевые слова: гипоксия; глутаминовая кислота; N-ацетилглутаминовая кислота

ВВЕДЕНИЕ

Глутаминовая кислота — одно из немногих соединений, которое наряду с глюкозой может служить энергетическим материалом для ткани мозга. Это связано с ее способностью окисляться в митохондриях через стадию образования кетоглутаровой кислоты с выходом энергии, запасаемой в виде АТФ. В головном мозге глутаминовая кислота превращается в ГАМК, которая является основным тормозным нейромедиатором. ГАМК снижает потребность клеток в кислороде за счет активизации бескислородного окисления энергетических субстратов. Глутаминовая кислота принимает участие в синтезе АМФ и ГМФ, которые затем превращаются соответственно в цАМФ и цГМФ, являющиеся внутриклеточными посредниками медиаторных сигналов, изменяющими обмен веществ в клетке. Кроме того, глутаминовая кислота принимает участие в синтезе НАД, участвующем в процессах биологического окисления [6]. Глутаминовая кислота применяется при заболеваниях ЦНС: эпилепсии (малые припадки с эквивалентами), психозах (соматогенных, интоксикационных, инволюционных), реактивных состояниях, протекающих с явлениями истощения, депрессии [1, 5]. На современном этапе в качестве основы для создания нейропротекторных лекарственных средств используется как глутаминовая кислота (нооглютил — N-5-оксиникотиноил-L-глутаминовая кислота), так и ее ацетилированная форма (диметиламиноэтанола ацеглюмат) [8]. Показана перспективность внедрения в клиническую практику композиции фенотропила и глутаминовой кислоты [14], кальциевой соли (N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты [13]. Экспериментально установлено наличие нейропротекторной активности у пироглутаминовой кислоты в сочетании с пирролидоном [7]. Учитывая, что при патологических состояниях ЦНС одним из важных патогенетических звеньев является гипоксия [9] и то, что производные нейромедиаторных амини-

кислот хорошо зарекомендовали себя как средства коррекции гипоксических состояний [4, 10, 11], проведено исследование, целью которого явилось изучение и сопоставление противогипоксической активности глутаминовой и N-ацетилглутаминовой кислот.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 216 мышах линии СВА массой 18–20 г. Острую гемическую гипоксию вызывали путем внутрибрюшинного введения метгемоглобинообразователя — нитрита натрия в дозе 200 мг/кг [3]. Модель тканевой (гистотоксической) гипоксии создавали путем внутрибрюшинного введения натрия нитропруссиды в дозе 20 мг/кг [11]. Гиперкапническую гипоксию моделировали путем помещения животных в камеру с гермообъемом 250 см³ [3]. Острую гипобарическую гипоксию воспроизводили “поднятием” белых мышей в условиях специальной герметичной барокамеры на высоту 11 000 м над уровнем моря со скоростью подъема 150–200 м/с [11, 12]. Критерием антигипоксической активности объектов исследования являлась продолжительность жизни мышей в опыте в сравнении с контролем. При моделировании гемической, тканевой и гиперкапнической гипоксии отсчет времени жизни животных начинали непосредственно сразу после воспроизведения гипоксии. При гипобарической гипоксии устойчивость к гипоксии оценивали по времени пребывания животных на заданной высоте (11 000 м над уровнем моря) до последнего агонального вдоха. Исследование проводили на 3-х группах лабораторных животных: контрольной (животные без фармакологической коррекции) и 2-х опытных (животные, которым вводили глутаминовую кислоту и N-ацетилглутаминовую кислоту). Объем вводимых жидкостей в контрольной и опытных группах составлял 0,25 мл/10 г. Для исследования противогипоксической активности глутаминовую кислоту и N-ацетилглутаминовую кислоту вводили внутрибрюшинно в дозах 1, 10, 20, 50 и 100 мг/кг за 30 мин до моделирования гипоксии. Контрольной группе животных вводили эквивалентный объем физиологического раствора. Для сравнительной оценки

¹ Кафедра фармакологии и патологии, Пятигорский филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11.

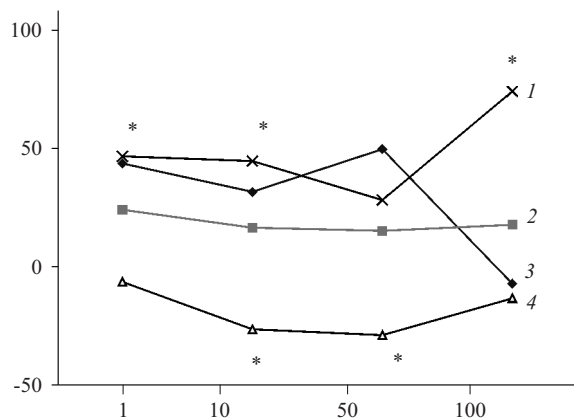


Рис. 1. Изменение времени жизни животных при моделировании гипоксии в опытах с глутаминовой кислотой.

Изменения статистически значимы ($p < 0,05$): * — относительно контрольных опытов.

Здесь и на рис. 2: 1 — гипобарическая гипоксия; 2 — гистотоксическая гипоксия; 3 — гемическая гипоксия; 4 — гиперкапническая гипоксия.

противогипоксической активности объектов исследования использовали болограммы — кривые, отражающие характер зависимости эффекта от дозы [9]. С этой целью проводили вычисление изменения времени жизни (%) в опытных группах животных относительно контрольной группы животных.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета программ Biostat на персональном компьютере IBM PC. Результаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — среднеквадратичное отклонение. Для доказательства значимости различий средних арифметических между двумя эмпирическими совокупностями для выборок, имеющих распределение, не отличающееся от нормального, использовали критерий Стьюдента и Фишера. При сравнении выборок с попарно связанными вариантами использовали парный критерий Стьюдента. Значимость различий между несколькими исследуемыми группами оценивали по критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони. Значимость различий между выборками, имеющих распределение, отличающееся от нормального, оценивали с помощью критерия Уилкоксона [15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя эффективность применения глутаминовой кислоты при гемической гипоксии установили, что наибольшее антигипоксическое действие данный препарат проявляет в дозах 1, 10 и 50 мг/кг — продолжительность жизни животных возрастает на 43,3; 31,33 и 49,33 % соответственно относительно контрольной группы животных. Введение глутаминовой кислоты в дозе 100 мг/кг не оказывает значимого влияния на продолжительность жизни мышей при введении метгемоглобинообразователя (рис. 1). В условиях гемической гипоксии применение N-ацетилглутаминовой кислоты в дозах 1 и 10 мг/кг приводит к увели-

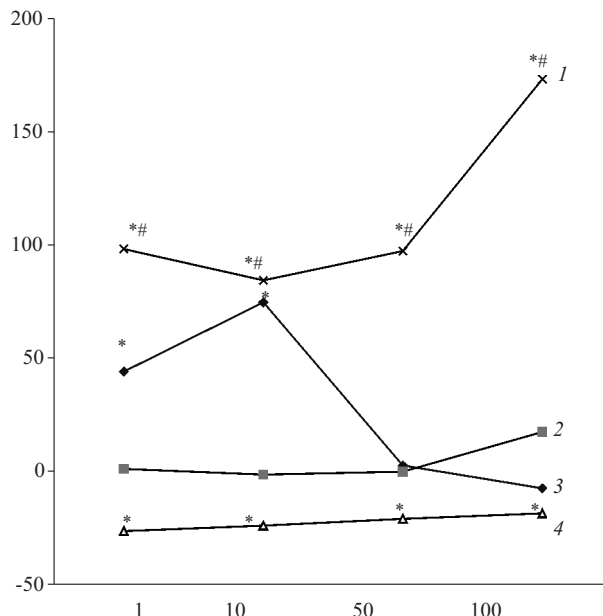


Рис. 2. Изменение времени жизни животных при моделировании гипоксии в опытах с N-ацетилглутаминовой кислотой.

Изменения статистически значимы ($p < 0,05$): * — относительно контрольных опытов; # — относительно опытов с глутаминовой кислотой.

чению времени жизни животных на 44 и 55,3 % соответственно, а в дозах 50 и 100 мг/кг не оказывает существенного влияния на изучаемый показатель (рис. 2). При моделировании гистотоксической гипоксии применение глутаминовой кислоты способствует пролонгации времени жизни экспериментальных животных при всех исследуемых дозах. Так, при введении объекта исследования в дозе 1 мг/кг изучаемый показатель увеличился на 23,75 % относительно животных контрольной группы, а в дозах 10, 50 и 100 мг/кг — на 16,3, 15,0 и 17,5 % соответственно (рис. 1). Применение N-ацетилглутаминовой кислоты оказалось эффективным при введении натрия нитропруссиды лишь в дозе 100 мг/кг — время жизни животных увеличилось на 17,5 % (рис. 2).

При моделировании гиперкапнической гипоксии установлено, что профилактическое использование глутаминовой кислоты в дозах 10, 50 и 100 мг/кг приводило к снижению времени жизни животных соответственно на 26,5, 28,9 и 13,5 % относительно животных контрольной группы. Введение глутаминовой кислоты в дозе 1 мг/кг не оказывало значимого влияния на изучаемый показатель (рис. 1). Профилактическое введение ацетилированной формы глутаминовой кислоты во всех исследуемых дозах снижало время жизни экспериментальных животных на данной модели гипоксии (рис. 2).

В условиях гипобарической гипоксии глутаминовая кислота во всех исследуемых дозах способствует повышению времени жизни лабораторных животных. Максимальная противогипоксическая активность глутаминовой кислоты на данной модели гипоксии была

зафиксирована в дозе 100 мг/кг — выживаемость животных была на 73,6 % выше, чем в контроле, а минимальная — в дозе 50 мг/кг — время жизни животных было на 27,9 % ниже, чем у животных без фармакологической коррекции (рис. 1). Следует отметить, что применение глутаминовой кислоты в дозах 1 и 10 мг/кг оказывало сопоставимый противогипоксический эффект — пролонгация времени жизни составила 44,3 и 46,3 % соответственно (рис. 2).

Высокая противогипоксическая активность была выявлена при использовании N-ацетилглутаминовой кислоты в условиях гипобарической гипоксии. Наиболее выраженное антигипоксическое действие у данной аминокислоты установлено в дозе 100 мг/кг — выживаемость увеличилась на: 172,6 % относительно животных контрольной группы. Использование соединения в дозах 1, 10 и 50 мг/кг также способствовало повышению устойчивости организма к дефициту кислорода в условиях гипобарии — выживаемость животных увеличивалась, соответственно, на 98, 84,1 и 97 % (рис. 2).

При анализе противогипоксической активности глутаминовой и N-ацетилглутаминовой кислот установлено, что при моделировании гистотоксической гипоксии ацетилированное производное глутаминовой кислоты было эффективно лишь в дозе 100 мг/кг (рис. 2), в то время как глутаминовая кислота повышала выживаемость животных во всех исследуемых дозах (рис. 1). В условиях гемической гипоксии объекты исследования в дозах 1 и 100 мг/кг оказывали аналогичное влияние на время жизни мышей: в дозе 100 мг/кг не изменяли, а в дозе 1 мг/кг повышали ее более, чем на 43 % (рис. 1, 2). Однако при использовании дозы 10 мг/кг противогипоксическое действие N-ацетилглутаминовой кислоты в условиях введения метгемоглобинообразователя было более, чем 2 раза выше, чем у глутаминовой, а ее применение в дозе 50 мг/кг, в отличие от глутаминовой кислоты, было неэффективно.

Сопоставление противогипоксической активности глутаминовой кислоты с N-ацетилглутаминовой кислотой при моделировании гипоксической гипоксии свидетельствует о том, что объекты исследования в дозах 10, 50 и 100 мг/кг равноценно снижают время жизни лабораторных животных. Но в дозе 1 мг/кг глутаминовая кислота не оказывала значимого влияния на изучаемый показатель (рис. 1), а N-ацетилглутаминовая кислота снижала время жизни животных на 26,1 % (рис. 2). Ее эффект в данной дозе был аналогичен эффекту, который был зафиксирован у данного соединения в дозах 10, 50 и 100 мг/кг.

Существенные отличия выявлены при анализе противогипоксической активности объектов исследования при моделировании гипобарической гипоксии. Глутаминовая кислота во всех исследуемых дозах существенным образом повышала выживаемость лабораторных животных (рис. 1). Использование ее ацети-

лированного производного оказывало еще более выраженный противогипоксический эффект (рис. 2). Таким образом, введение в молекулу глутаминовой кислоты ацильного радикала приводит к существенному повышению ее противогипоксической активности в условиях гипобарической гипоксии в дозах 1, 10, 50 и 100 мг/кг, оказывает более выраженное действие на модели гемической гипоксии в дозе 10 мг/кг, снижает противогипоксическую активность на модели гистотоксической гипоксии в дозах 1, 10 и 50 мг/кг, на модели гемической гипоксии — в дозе 50 мг/кг и на модели гиперкапнической гипоксии — в дозе 1 мг/кг. Кроме того, объекты исследования оказывают сопоставимое действие в дозах 1 и 100 мг/кг при гемической гипоксии и в дозах 10, 50 и 100 мг/кг при гипоксической гипоксии.

Учитывая высокую зависимость функций ЦНС от снабжения ее кислородом можно предположить, что наличие противогипоксической активности является одним из механизмов нейропротекторного действия глутаминовой кислоты, которое было выявлено в ряде исследований [9, 14]. Наиболее вероятно, что в основе повышения устойчивости животных к гипобарической гипоксии при введении объектов исследования связано с их метаболическим действием. Известно, что при гипобарической гипоксии изменяется субстратная специфичность MAO-A, и фермент приобретает способность дезаминировать ди- и полиамины, гистамин, АМФ, аминсахара, ГАМК. Изменение каталитических свойств MAO также способствует интенсификации пероксидации мембран [5]. Таким образом, комплекс метаболических нарушений, происходящих в результате изменения субстратной специфичности MAO, может рассматриваться в качестве одной из стресс-реализующих систем организма. Это позволяет предположить, что глутаминовая кислота и N-ацетилглутаминовая кислота, способствуя повышению резистентности организма животных к действию гипербарии, ограничивают нарушения каталитических свойств MAO.

ВЫВОДЫ

1. Эффективность глутаминовой и N-ацетилглутаминовой кислот как антигипоксантов зависит от вида гипоксии и вводимой дозы. Наиболее выраженное противогипоксическое действие глутаминовая и N-ацетилглутаминовая кислоты оказывают в условиях гипобарической гипоксии в дозе 100 мг/кг.
2. В условиях гипобарической гипоксии N-ацетилглутаминовая кислота оказывает более выраженное противогипоксическое действие, чем глутаминовая кислота.
3. Эффективность глутаминовой кислоты в условиях гистотоксической и гиперкапнической гипоксии превосходит эффективность N-ацетилглутаминовой кислоты.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. И. Архипов, М. В. Капралова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(11), 56 – 59 (2011).
2. К. Ю. Васильев, В. А. Киселева, *Бюл. экспер. биол.*, № 3, 335 – 338 (2009).
3. Т. А. Воронина, Р. У. Островская, *Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ, Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, 2-е изд. Р. У. Хабриев (ред.), Медицина, Москва (2005).
4. Т. С. Ганьшина, А. А. Горбунов, А. В. Гнездилова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(11), 17 – 22 (2011).
5. О. Р. Грек, А. В. Ефремов, В. И. Шарапов, *Гипобарическая гипоксия и метаболизм ксенобиотиков*, Москва (2007).
6. *Дизрегуляторная патология нервной системы*, Е. И. Гусев, Г. Н. Крыжановский (ред), Москва (2009).
7. Е. В. Лунышина, Т. С. Ганьшина, В. Е. Погорелый и др. *Экспер. и клин. фармакол.*, **66**(1), 20 – 22 (2003).
8. Л. М. Макарова, Н. М. Митрохин, Т. И. Макарова и др., *Кубанский научн. мед. вестн.*, № 12, 68 – 70 (2006).
9. Р. С. Мирзоян, А. С. Саратиков, М. В. Плотников и др., *Методические указания по экспериментальному изучению препаратов для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, 2-е изд. Р. У. Хабриев (ред.), Медицина, Москва (2005).
10. В. И. Петров, Э. А. Пономарев, С. С. Маскин, Н. Н. Стрепетов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(8), 13 – 16 (2011).
11. Т. Е. Онбыш, В. Е. Погорелый, Л. М. Макарова, Н. Е. Слюнькова, *Токс. вестн.*, № 2, 21 – 24 (2006).
12. Л. Н. Сернов, В. В. Гацура, *Элементы экспериментальной фармакологии*, Москва (2000).
13. С. В. Ствун, А. В. Киселев, В. И. Сергеенко, *Вестн. МГОУ*, № 2, 83 – 93 (2011).
14. И. Н. Тюренков, М. А., Саматруева, Н. Н. Гражданцева и др., *Биомедицина*, **3**, 63 – 68 (2011).
15. Р. Х. Хафизьянова, И. М. Бурькин, Г. Н. Алеева, *Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии*, Казань (2006).

Поступила 01.12.12

THE COMPARATIVE INVESTIGATION OF ANTIHYPOXYTIC ACTIVITY OF GLUTAMINIC AND N-ACETYLGLUTAMINIC ACIDS

L. M. Makarova and V. E. Pogorelyi

Department of Pharmacology and Pathology, Volgograd State Medical University, Pyatigorsk Filiation, pr. Kalinina, 11, Pyatigorsk, 357532, Russia

Comparative study of antihypoxic activity of glutamic and N-acetylglutamic acid in doses of 1, 10, 50 and 100 mg/kg was realized. It was experimentally ascertained that the most apparent antihypoxic action of study objects occurs in conditions of hypobaric hypoxia of acetylated derivative of glutamic acid considerably exceeds glutamic acid.

Key words: hypoxia; glutaminic acid; N-acetylglutamic acid