

УДК 615.2 : 515

© Коллектив авторов

СДВИГИ В СОДЕРЖАНИИ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЕЧЕНОЧНОЙ И СЕРДЕЧНОЙ ТКАНЯХ В УСЛОВИЯХ ОГРАНИЧЕНИЯ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

В.П. Акопян, О.П. Соцкий, Л.Г. Жамгарян*

Ереванский государственный университет, 375025 г. Ереван ул. Корюна, 2;
тел.: (37410)560860; факс.: (37410)521791; эл. почта: zhamharyan@mail.ru

Методом ВЭЖХ изучено содержание свободных аминокислот в тканях печени и сердца белых беспородных крыс на 15, 30 и 45-ые сутки экспериментальной гипокинезии (ГК). Показано, что в печени по мере увеличения срока ГК количество моноаминодикарбоновых кислот – глутамата и аспартата – резко уменьшается. Уровень снижения аспартата по сравнению с глутаматом выражен сильнее. Повышение уровня глицина наблюдается лишь на 30-ые сутки ГК, оставаясь в пределах контрольных величин на 15 и 45 сутки ГК. В печеночной ткани содержание таурина в условиях ГК статистически достоверным изменениям не подвергалось.

В отличие от сдвигов, наблюдаемых в печеночной ткани, в миокарде установлено увеличение содержания моноаминодикарбоновых кислот. Количество таурина во все сроки ГК было снижено по сравнению с контролем, в особенности на 15 сутки ГК. Полученные результаты в сдвигах моноаминодикарбоновых кислот и таурина обсуждаются с позиций их участия в энергетическом обмене этих тканей, нарушенном в условиях ограничения двигательной активности.

Ключевые слова: гипокинезия, аминокислоты, ВЭЖХ, печень, сердце.

ВВЕДЕНИЕ. Известно, что длительное ограничение двигательной активности оказывает отрицательное влияние на организм человека [1]. Постоянное ограничение мышечной активности приводит к хроническому стрессу, сопровождающемуся глубокими нарушениями в обмене веществ. Последние, по мнению клиницистов, способствуют развитию и проявлению патологических состояний, лежащих в основе многих заболеваний, в том числе и сердечно-сосудистых.

Учитывая выше сказанное, становится понятной актуальность исследований, направленных на выяснение патохимических механизмов гипокинезии (ГК) и их коррекцию. В настоящее время для коррекции гомеостаза при стрессах аминокислоты широко используют в качестве лекарственных средств. Теоретическим обоснованием для подобных исследований являются, с одной стороны, данные о количественных сдвигах свободных аминокислот в различных тканях при ГК, свидетельствующих о глубоких нарушениях в белковом обмене, и, с другой стороны, их парентеральное введение в организм, приводящее к нормализации обменных процессов [2, 3].

* - адресат для переписки

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ПЕЧЕНИ И СЕРДЦА ПРИ ГИПОКИНЕЗИИ

Целью настоящего исследования явилось изучение содержания свободных аминокислот: аспартата, глутамата, ГАМК, глицина и таурина в печеночной ткани и миокарде в различные сроки экспериментальной гипокинезии.

МЕТОДИКА. Исследования проводили на 32-х белых беспородных крысах-самцах массой 150-180 г. ГК моделировали помещением крыс в тесные клетки-пеналы. Контролем служили интактные крысы. Животных забивали под эфирным наркозом на 15-ые, 30-ые и 45-ые сутки ГК. Выделенные ткани замораживали в жидком азоте. Гомогенизацию ткани проводили в растворе 0,1 М хлорной кислоты с последующим центрифугированием гомогената ткани в течении 20 минут при 16000 g на холоду. Содержание нейроактивных аминокислот определяли методом ВЭЖХ на хроматографе фирмы "Биохром" (Россия). Хроматографическая система включала стандартную аналитическую колонку 150Т.6мм с носителем "Nucleosil" 100-5 С18, электрохимический детектор "ДЭ-108" и насос "Марафон" серии 2. Условия проведения ВЭЖХ дериватов аминокислот соответствовали методике, описанной в статье Pearson и соавт. [4]. В качестве стандартов аминокислот использовали реактивы фирмы "Sigma" (США). Результаты выражали в мкмоль на 1 г сырой ткани. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2000, а также статистической программы для обработки данных ANNOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Результаты исследования содержания свободных аминокислот в сердечной и печеночной тканях в исследуемые сроки ГК приведены в таблицах 1 и 2. Из данных следует, что в печеночной ткани и миокарде интактных и подопытных животных, используя данную колонку и 0,1 М фосфатный буфер (рН 6,0) в качестве подвижной фазы, нам удалось обнаружить четыре аминокислоты. Статистически достоверное количество ГАМК в этих тканях нами не выявлено. Следует отметить, что и другие исследователи не всегда обнаруживали данную аминокислоту в этих органах [5, 6]. Такой результат, возможно, объясняется, в первую очередь, очень низким уровнем содержания ГАМК в тканях висцеральных органов по сравнению с нервной [6].

Таблица 1. Сдвиги в содержании свободных аминокислот в печеночной ткани белых беспородных крыс в различные сроки гипокинезии.

Аминокислота/ срок ГК	Норма	ГК-15суток	ГК-30суток	ГК-45суток
Аспарагиновая кислота (n=8)	4,35 ± 1,11	0,93 ± 0,16**	0,74 ± 0,08 **	1,4 ± 0,15**
Глутаминовая кислота (n=8)	5,69 ± 1,89	3,33 ± 0,69 *	2,88 ± 0,33*	2,49 ± 0,37 *
Глицин (n=8)	1,66 ± 0,26	1,62 ± 0,17	2,27 ± 0,27 *	1,66 ± 0,27
Таурин (n=8)	3,31 ± 0,54	3,38 ± 0,17	3,47 ± 0,42	3,57 ± 0,56
Σ (сумма аминокислот)	15,01	9,26	9,36	9,12

Примечание: Результаты выражены в мкмоль/г сырой ткани. Представлены средние значения ± ошибка средней. Значимость различий с нормой: * - 0,01 < p < 0,05; ** - p < 0,01. (n) - число исследований.

Таблица 2. Сдвиги в содержании свободных аминокислот в миокарде белых беспородных крыс в экспериментальные сроки гипокинезии.

Аминокислота/ срок ГК	Норма	ГК-15суток	ГК-30суток	ГК-45суток
Аспарагиновая кислота (n=8)	1,28 ±0,37	3,24 ±0,68**	1,49 ± 0,44	1,83 ±0,18 *
Глутаминовая кислота (n=8)	3,96 ±0,31	6,74 ± 1,79*	5,52 ± 0,31**	4,84 ± 0,67*
Глицин (n=8)	0,47 ±0,09	0,72 ± 0,15*	0,75 ± 0,12**	0,67±0,86**
Таурин (n=8)	24,53 ±2,06	12,80 ±2,94**	17,41±1,53**	20,79±2,02*
Σ (сумма аминокислот)	30,24	23,56	25,17	28,13

Примечание: Результаты выражены в мкмоль/г сырой ткани. Представлены средние значения ± ошибка средней. Значимость различий с нормой: * - 0,01<p<0,05; ** - p<0,01.

Как видно из данных таблицы 1, в печеночной ткани из исследуемых аминокислот в норме глутамат содержится в наибольшем количестве, а глицин - в наименьшем. При сопоставлении содержания свободных аминокислот в печеночной ткани интактных животных с их уровнем в соответствующих группах с ГК отчетливо наблюдается выраженное снижение количества моноаминодикарбоновых кислот, при неизменном количестве таурина во все экспериментальные сроки ограничения двигательной активности. Повышение уровня глицина наблюдается лишь на 30-ые сутки ГК, оставаясь в пределах контрольных величин на 15 и 45 сутки ГК.

Важно отметить, что процентное снижение количества аспарагиновой кислоты в печеночной ткани превалирует над глутаминовой во все прослеживаемые сроки ГК. Причем, как видно из полученных результатов, определенной закономерности между степенью падения уровня каждой из этих моноаминодикарбоновых кислот и сроком ограничения двигательной активности не наблюдается.

Так, например, наименьшие количества аспартата регистрируются на 15 и 30-е сутки ГК, в то время как для глутамата в более поздние сроки ГК: на 30 и 45-е сутки. В результате такого спада содержания аспарагиновой и глутаминовой кислот в печеночной ткани у животных, находящихся в условиях ограничения двигательной активности, суммарное количество выявленных свободных аминокислот уменьшается в среднем на 37-39% по сравнению с контрольной группой.

Результаты изучения содержания свободных аминокислот в миокарде белых беспородных крыс в норме и в условиях ГК представлены в таблице 2.

В миокарде выявляются те же аминокислоты, что и в печени, однако в сердечной мышце их количественные уровни заметно отличаются. Так, исследования показывают, что в количественном отношении преобладающей аминокислотой как в норме, так и при ГК в миокарде является таурин [7]. Его содержание в миокарде в 7,4 раза превышает таковое в печени. Кроме того, сердечная ткань интактных животных отличается от печеночной и по содержанию моноаминодикарбоновых кислот [8]. В миокарде их количество намного ниже (см. табл. 1 и 2).

Исследуемые ткани отличаются также и по суммарному содержанию определяемых аминокислот: в сердце их количество в 2 раза выше, чем в печени. При сравнении направленности сдвигов в количестве моноаминодикарбоновых кислот в сердце и печени устанавливается противоположная динамика – увеличение их в сердце и уменьшение в печени во все прослеживаемые сроки ГК.

Аналогичная динамика сдвигов обнаружена в содержании глицина во все сроки ГК. Учитывая важную роль таурина в поддержании электролитного баланса в сердечной ткани, в частности, кальция [9], обращает на себя внимание факт резкого уменьшения количества таурина в сердечной ткани при ГК, особенно выраженное на 15 и 30-ые сутки. Данный факт, по всей вероятности, объясняется подавлением активного транспорта таурина в кардиомиоциты из-за нарушения окислительного фосфорилирования в сердечной ткани при ГК, которое, согласно нашим исследованиям, наиболее снижено на 15-ые сутки (количество таурина падает на 47,8%) [10].

При сопоставлении характера сдвигов в количестве свободных аминокислот в печеночной и сердечной тканях в условиях ограничения двигательной активности установлено, что в миокарде на 15 сутки ГК наблюдаются наиболее резкие количественные изменения в содержании всех исследуемых аминокислот. Наши данные совпадают с литературными, в которых большинство исследователей этот факт связывают с выраженной стрессорной реакцией у экспериментальных животных в данный период хронического стресса.

На правомерность данного мнения указывают также исследования по изучению содержания катехоламинов и свободных жирных кислот в этих тканях и сыворотке крови при ГК, согласно которым наиболее выраженные сдвиги в показателях стресса выявлялись на 15 и 45 сутки [11].

Следует отметить, что в условиях ГК в миокарде, также как и в печени, наблюдается более низкий уровень свободных аминокислот по сравнению с контрольной группой животных. Однако в сердце, в отличие от печени, видна четкая тенденция к нормализации их содержания по мере увеличения срока ГК (см. табл. 1 и 2). Например, если на 15 сутки ГК в миокарде суммарное содержание определяемых аминокислот уменьшается на 22,09%, то уже на 45 сутки – на 6,98% по сравнению с интактной группой. Оценивая возможные механизмы изменения уровня изучаемых свободных аминокислот в этих тканях в условиях ограничения двигательной активности, можно предположить, что они обусловлены не только нарушением процессов синтеза и распада белков, но и участием в целом ряде адаптационных процессов, направленных на сглаживание отрицательных воздействий ГК на организм.

Так, уменьшение содержания аминокислот в печёночной ткани в определенной степени можно объяснить усилением в ней некоторых синтетических процессов: в частности, синтеза белков крови. Такое предположение подтверждается исследованиями по изучению динамики сдвигов в уровне альбумина плазмы при ГК [12]. Установлено, что в течение длительного срока ограничения двигательной активности (45-49 суток) количество альбумина в плазме крови сохраняется на уровне контрольных величин на фоне преобладания в организме катаболических процессов. Однако более вероятной причиной падения уровня моноаминодикарбоновых кислот в печени при ГК можно считать активацию процессов глюконеогенеза и реакций трансаминирования [13]. Активация глюконеогенеза в печеночной ткани, которая считается основной глюконеогенной тканью, приводит к использованию большого количества оксалоацетата. В условиях "напряжения" организма источником оксалоацетата, кроме цикла трикарбоновых кислот, является его образование из аспарагиновой кислоты в результате трансаминирования с 2-оксоглутаратом. Этот путь, возможно, и является основной причиной резкого уменьшения количества аспарагиновой кислоты в печени при ГК.

Так как в результате данной реакции образуется эквивалентное количество глутаминовой кислоты, то мы не наблюдаем выраженное ее уменьшение в печеночной ткани по сравнению с аспарагиновой. Тем не менее снижение глутаминовой кислоты по сравнению с контролем наблюдается во все прослеживаемые сроки ГК, особенно на 30 и 45-ые сутки ГК. Учитывая важную роль глутамата в энергетическом обмене клетки в условиях повышенного содержания ацетил-СоА (вследствие активации липолиза при ГК), являющегося одним из ингибиторов ферментов цикла Кребса, можно допустить, что уменьшение ее содержания частично обуславливается активацией ГАМК-шунта в этом органе. Такая перестройка метаболизма в конечном итоге приводит к увеличению продукции сукцината, который сукцинатаксидазным путем окисления субстрата улучшает энергоснабжение клетки в экстремальных условиях [14]. Не исключено также, что другой вероятной причиной уменьшения содержания моноаминодикарбоновых кислот в печени при ГК может быть активация аминотрансфераз, в частности аспартат-аминотрансферазы (АсАТ), что было установлено исследованиями Тиграняна и сотрудников [14].

В условиях ограничения двигательной активности в сердце обратную динамику изменений этих аминокислот в сердце мы склонны объяснить резким нарушением в ней энергетических процессов, в которых они принимают самое активное участие [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ. Таким образом, результаты исследования количественных сдвигов в содержании свободных аминокислот (аспартата, глутамата, глицина и таурина) свидетельствуют о том, что ограничение двигательной активности вызывает выраженные сдвиги в содержании моноаминодикарбоновых кислот не только в мозговой, но и в тканях висцеральных органов, где последние осуществляют взаимосвязь между синтетическими и энергетическими обменными процессами, нарушение которых и приводит к развитию патобиохимических состояний, наблюдающихся в условиях ГК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акопян В.П. (1999) Гипокинезия и мозговое кровообращение, Медицина, М.
2. Федоров И.В. (1982) Обмен веществ при гиподинамии, Наука, М.
3. Хныченко Л.К. (2001) Пат. физиол. экспер. терапия, №4, 16-18.
4. Pearson S.J., Czudek C., Mercer K., Reynolds G.P. (1991) J. Neural. Transm. [Gen Sect], **86**, 151-157.
5. Меерсон Ф.З., Лившиц Р.И., Павлова В.И. (1981) Вопр. мед. химии, **27**(1), 35-39.
6. Waagepetersen H., Sonnewald U., Schousboe A. (1999) J. Neurochem., **73**, 1335-1342.
7. Шустова Т.И., Машикова Н.Ю. и др. (1986) Вопр. мед. химии, **32**(4), 113-116.
8. Song D., O'Regan M.H., Phillis J.W. (1998) Eur. J. Pharmacol., **351**, 313-322.
9. Hanna J., Chahine R., Aftimos G., Nader M., Mounayar A., Esseily F., Chamat S. (2004) Exp. Toxicol. Pathol., **56**, 189-194.
10. Соцкий О.П., Акопян В.П., Жамгарян Л.Г., Жамгарян А.Г. (2002) Вопр. мед. химии, **48**(5), 485-489.
11. Соцкий О.П., Карапетян В.А. и др. (2004) Мед. наука Армении, **XLIV**(1), 21-25.
12. Лорян И.Ж. (2004) Мед. наука Армении, **XLIV**(1), 39-42.
13. Лукьянова Л.Д. (2004) Пат. физиол. экспер. терапия, **2**, 2-10.
14. Тигранян Р.А. (1985) Метаболические аспекты проблемы стресса в космическом полете, Наука, М.
15. Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н. (1980) Гипокинезия, Медицина, М.

Поступила: 31. 03. 2006.

CHANGES IN FREE AMINO ACID CONTENTS IN THE LIVER AND HEART UNDER THE
CONDITIONS OF RESTRICTED MOVEMENT ACTIVITY

V.P. Hakobyan, O.P. Sotskiy, L.G. Zhamharyan

Yerevan State Medical University, Koryuna ul., 2, Yerevan, 375025 Armenia; tel.: (37410) 560860;
e-mail: zhamharyan@mail.ru

The contents of the free amino acid in the liver and heart tissues were investigated under conditions of experimental hypokinesia on 15th, 30th and 45th days by means of HPLC method.

The content of glutamate and aspartate in the liver tissue was sharply decreased with the increase of the hypokinesia period. The degree of the decrease of aspartate was more pronounced than glutamate. The level of glycine in the liver remained unchanged on 15th and 45th days of hypokinesia but increased on the 30th day compared with control animals. There were insignificant changes in taurine content.

In contrast to the liver tissue the contents of monoaminodicarbonic acids were increased in the myocardium. The content of taurine was decreased over the whole period of restricted movement activity compared with control, especially on the 15th day of hypokinesia.

The changes of free amino acids are discussed in terms of their participation in energy metabolism of both tissues during the restricted movement activity.

Key words: hypokinesia, amino acids, HPLC, liver, heart.