

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ НОВОГО АМИНОКИСЛОТНОГО ПРЕПАРАТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БЕЛКОВО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Каримов Х.Я., Шевченко Л.И., Алимов Т.Р., Исроилов А.А., Рўзиев У.С., Лубенцова О.В.

ЯНГИ АМИНОКИСЛОТАЛИ ДОРИ ВОСИТАСИНИНГ САМАРДОРЛИГИНИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛ ОҚСИЛ-ЭНЕРГИЯ ТАНҚИСЛИК ШАРОИТИДА БАҲОЛАШ

Каримов Х.Я., Шевченко Л.И., Алимов Т.Р., Исроилов А.А., Рўзиев У.С., Лубенцова О.В.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF THE NEW AMINO ACID DRUG IN EXPERIMENTAL PROTEIN-ENERGY DEFICIENCY

Karimov H.Ya., Shevchenko L.I., Alimov T.R., Isroilov A.A., Ruziev U.S., Lubentsova O.V.

Научно-исследовательский институт гематологии и переливания крови

Мақсад: янги аминокислота сақловчи дори воситасини оқсил - энергетик танқислик моделида гомеостаз бузилишлигини урганилди. **Материал ва усуллар:** оқсил танқислик модели тана вазни 180-220 г бўлган 60-та нар каламушда ишлаб чиқилган. Ҳайвонлар ҳар бири 15та каламушдан иборат 4 гуруҳга бўлинди: I гуруҳ (назорат) – интакт соғлом ҳайвонлар, II, III ва IV гуруҳлар – оқсилсиз парҳез сақлаган ҳайвонлар гуруҳи бўлиб. Улардан III гуруҳдаги ҳайвонларга тажрибанинг 22чи кунидан бошлаб таққослаш препарати Инфезол-40, IV гуруҳдаги ҳайвонларга янги қон ўрнини босувчи препарат, ҳар бир тана вазнига 10 мл/кг ҳисобида юборилган. **Натижалар:** оқсил танқислик моделида ўтказилган изланиш натижаси янги қон ўрнини босувчи препарат оқсил метаболизмини энергия алмашинувини ва электролит мувозанатини тиклашини кўрсатди. Янги ишлаб чиқилган қон ўрнини босувчи препарат ва Инфезол-40 қабул қилгандаги таъсирини таққослаш тажрибаси шуни кўрсатдики, ҳар иккала препарат 10 кун давомида ҳайвонлар тана вазнини, оқсил алмашинувчисини ва электролит мувозанатини бир хилда тиклаган. Шу билан бирга, Инфезол-40 препаратига нисбатан янги қон ўрнини босувчи препарат қабул қилганда энергия алмашинуви тикланиш кўрсаткичлари анча юқори бўлган. **Хулосалар:** оқсил танқислик моделида янги ишлаб чиқилган қон ўрнини босувчи препаратни қўлланилиши, оқсил ва энергия алмашинувини Инфезол-40 қабул қилгандигига нисбатан юқори даражада тикланишини кўрсатди.

Калит сўзлар: аминокислота воситалари протеин танқислик модели, оқсил алмашинуви, электролит мувозанати, энергия алмашинуви.

Objective: To evaluate the effectiveness of the new amino acid remedy for correcting homeostasis disorders in a protein starvation model. **Material and Methods:** The model of protein starvation was reproduced in 60 male rats weighing 180-200 g, which were divided into four groups of 15 animals each: group 1 (control) – intact animals, 2nd, 3rd and 4 1st — protein-free diet, starting from the 11th day, animals of the 3rd group were injected with the comparison drug infezol 40, 4th – a new blood substitute at a dose of 10 ml/kg of body weight. **Results:** A new blood substitute restores protein, energy metabolism and electrolyte balance. The studied drug and infezol 40 restored the mass, protein metabolism, and electrolyte balance in approximately the same way over 10 days. However, when using a new blood substitute, energy metabolism was restored to a greater extent due to the antioxidant complex with energy activity. **Conclusions:** The use of a new blood substitute restores the parameters of protein and energy metabolism, as well as electrolyte balance, exceeding the effectiveness of infezol-40.

Key words: amino acid agent, protein starvation model, protein metabolism, electrolyte balance, energy metabolism.

Одним из важных направлений современной медицины является совершенствование средств метаболической коррекции гомеостаза при критических состояниях [7-9]. От решения этой проблемы во многом зависит течение и исход тяжелых заболеваний различной этиологии, связанных с нарушением белково-энергетического обмена [1-3].

Успехи молекулярной биологии и экспериментальной фармакологии последних лет позволили определить механизмы метаболических и

функциональных процессов на уровне клетки и субклеточных структур, которые дают возможность разрабатывать современные патогенетически обоснованные средства воздействия на каскад изменений гомеостаза при тяжелых патологических процессах [4,5,10,12]. Основным действием этих средств является коррекция метаболического гомеостаза, энергетического и пластического обмена, при заболеваниях, обусловленных белково-энергетической недостаточностью [11,12].

Нами разработан новый отечественный препарат, содержащий аминокислоты и антиоксидантный комплекс энергетического действия.

Цель исследования

Изучение эффективности действия нового аминокислотного средства коррекции нарушений гомеостаза на модели белкового голодания.

Материал и методы

Модель белкового голодания воспроизводили у 60 крыс-самцов массой 80-200 г. Животные были разделены на четыре группы по 15 особей в каждой. В 1-ю группу (контроль) входили интактные животные, которые содержались на виварном корме: пшеничная мука – 12%, сухари – 10%, просо – 6%, крупа овсяная – 36%, молоко – 8%, солевая смесь – 10%, рыбная мука – 25% дрожжи кормовые – 2,5%.

Животные 2-й группы содержались на безбелковом рационе питания в течение 10 дней. Безбелковый рацион включал крахмал и сахарозу – 75%, растительное масло – 15%, рыбий жир – 1%, витаминную смесь – 4%, солевую смесь – 5%.

Спустя 10 дней подопытных крыс 1-й и 2-й групп декапитировали. Животным 3-й группы после 10-дневного безбелкового рациона питания, начиная с 11-го дня, внутривенно вводили препарат сравнения Инфезол 40, который по аминокислотному составу был примерно таким же, как и изучаемый новый кровезаменитель, который получали животные 4-й группы. Препараты вводили из расчета в дозе 10 мл/кг массы в течение 10 суток, после чего производили забой животных.

В эксперименте были изучены показатели белкового, энергетического обмена и электролитного баланса.

Показатели белкового обмена: общий белок сыворотки крови, альбумин и глобулин в сыворотке крови.

Концентрацию общего белка сыворотки крови и альбумина определяли методом биохимического анализа с использованием тест-систем HUMAN (Германия). Измерения проводили на полуавтоматическом биохимическом анализаторе ВА88А (Mindray, Китай).

Белковые фракции определяли турбидиметрическим методом по общепринятой методике.

Из показателей состояния энергетического обмена определяли содержание АТФ, активность натрий-калиевой- (Na^+, K^+)- и магниевой- (Mg^{2+}) АТФаз, концентрацию глюкозы, активность креатинфосфокиназы (КФК) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в крови.

Концентрацию глюкозы, КФК и ЛДГ исследовали методом биохимического анализа с использованием тест-систем HUMAN (Германия). Результаты измеряли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе ВА88А (Mindray, Китай).

Содержание АТФ в крови подопытных животных исследовали биохимическим методом исследования при помощи тест-систем (Boehringer, Mannheim, Германия). Активность АТФаз определяли по методу Каззенова и соавторов [6]. Предварительно отделенные от плазмы и отмытые 3 раза буфером, содержащим 0,145 мМ NaCl, 10мМ трис-HCl, (рН 7.4), эритроциты обрабатывали 1% твином-20 в 0,25 М сахарозе

на трис-HCl буфере (объеме 1:1, экспозиция 60 мин при 20°C). Активность Na^+, K^+ -АТФазы вычисляли по методу А.М. Каззенова и соавт. [6] по приросту неорганического фосфора (Фн, чувствительность 0,01 мкМ) в среде инкубации и рассчитывали по разнице между активностью АТФаз без ингибитора в присутствии ингибитора – 1 мМ уабаина. Активность выражали в мкмоль Фн в ч на мл клеток (с учетом гематокрита подготовленной суспензии эритроцитов). Были использованы следующие реагенты: ЭДТА, АТФ и уабаин (Sigma) и другие реактивы (Россия). Измерения производили на спектрофотометре UNICO 2800 (United Products and Instrument, Inc., США).

Были изучены параметры электролитного баланса, в том числе концентрация общего натрия (Na^+) и калия (K^+) в крови методом биохимического анализа с использованием тест-систем HUMAN (Германия) с измерением результатов на полуавтоматическом биохимическом анализаторе ВА88А (Mindray, Китай).

Цифровые данные были подвергнуты статистической обработке по Е.В. Гублеру с применением специального пакета программ на персональном компьютере с помощью программ Excel и Biostat. Критерием статистической достоверности служило $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенного на модели белкового голодания исследования показали, что новый кровезаменитель восстанавливает белковый, энергетический обмен и электролитный баланс. Как видно из таблицы 1, введение нового кровезаменителя приводило к восстановлению массы тела на 49,0% ($p < 0,0001$). Сравнение нового кровезаменителя и Инфезола 40 показало, что они примерно одинаково восстанавливали массу тела, белковый обмен и электролитный баланс в течение 10 суток.

Содержание общего белка в плазме крови у животных 2-й группы, не получавших кровезаменители при экспериментальном белковом голодании снизилось на 15,3% ($p < 0,0001$). Введение нового кровезаменителя животным 4-й группы приводило к повышению концентрации общего белка на 24,3% ($p < 0,0001$), а применение препарата Инфезол 40 в 3-й группе – на 23,6% ($p < 0,0001$).

При этом введение нового кровезаменителя и препарата Инфезол 40 приводило к восстановлению общего белка до исходных значений, что свидетельствует, что новый кровезаменитель не уступает зарубежному аналогу.

Исследование белковых фракций, при белковом голодании показало, что при содержании крыс в течение 10 дней на безбелковой диете содержание альбумина уменьшается примерно на 20,9% ($p < 0,0001$). Применение нового кровезаменителя повышало содержание альбумина в крови по сравнению со 2-й группой на 12,7% ($p < 0,05$). Введение препарата Инфезол 40 приводило к повышению содержания альбумина в плазме крови подопытных животных на 11,8% ($p < 0,02$).

После белкового голодания у крыс 2-й группы содержание 2-й, 3-й, 4-й и 5-й фракций глобу-

линов снизилось соответственно на 20,6 ($p < 0,05$), 42,7 ($p < 0,0001$), 71,5 ($p < 0,0001$) и 58,4% ($p < 0,0001$). После применения нового кровезаменителя у животных 4-й группы содержание только 4-й и 5-й фракции глобулинов увеличилось соответственно на 40,6 ($p < 0,0001$) и 28,4% ($p < 0,01$). Уровень 2-й и 3-й фракций глобулинов за 10 дней питания препаратами не претерпевают значительных изменений, причем содержание 3-й фракции даже статистически незначимо уменьшилось. Белки 4-й и 5-й фракции синтезируются более активно, чем 2-й и 3-й, но их содержание в конце курса применения кровезаменителя не превышает общего уровня глобулинов. В целом восстановление глобулинов протекает медленнее, чем альбуминов. После применения нового кровезаменителя содержание фракций глобулинов было сопоставимо с таковым после применения препарата Инфезол 40 у животных 3-й группы.

Изучение влияния нового кровезаменителя на показатели энергетического обмена при белковом голодании показали, что у крыс 2-й группы содержание АТФ по сравнению с таковым в 1-й группе снижалось на 22,3% ($p < 0,05$) (табл. 2). После применения нового кровезаменителя у животных 4-й группы уровень АТФ в крови увеличился 37,3% ($p < 0,0001$). Введение же препарата Инфезол 40 в 3-й группе приводило к восстановлению АТФ и его повышению на 26,6% ($p < 0,0001$) (табл. 2). После применения нового кровезаменителя содержание у животных 4-й группы было на 14,6% выше, чем крыс 3-й группы, получавших препарат Инфезол 40 ($p < 0,05$).

Активность Na^+ , K^+ -АТФазы при белковом голодании у животных 2-й группы снижалась на 34,6% ($p < 0,0002$). Инфузия нового кровезаменителя способствовала увеличению этого показателя по сравнению со 2-й группой на 36,5% ($p < 0,0001$).

При белковом голодании активность Mg^{2+} -АТФазы снижалась на 27,7% ($p < 0,01$), а применение нового кровезаменителя восстанавливало её до исходных значений ($p < 0,0001$). После введения препарата Инфезол 40 такого восстановления не наблюдалось.

При белковом голодании активность КФК снижалась на 29,2%, а после применения нового кровезаменителя повышалась до исходного уровня – на 30,3% ($p < 0,01$). В то же время введение препарата Инфезол 40 привело к восстановлению концентрации КФК в плазме крови крыс на 22,2% ($p < 0,05$).

Концентрация глюкозы на фоне белкового голодания по сравнению с интактными животными понижалась на 54,8% ($p < 0,0001$). После инфузии нового кровезаменителя содержание глюкозы в крови подопытных животных выросло на 47,2% ($p < 0,0001$), а после применения препарата Инфезол 40 – всего на 30,0% ($p < 0,0002$).

При белковом голодании активность ЛДГ снижалась на 16,5% ($p < 0,02$). После применения нового кровезаменителя этот показатель восстанавливался до исходного уровня ($p < 0,02$), а после инфузии препарата Инфезол 40 – только на 12,8% ($p < 0,05$).

Исследование электролитов при белковом голодании показало, что содержание ионов натрия и калия после вве-

дения нового кровезаменителя и препарата Инфезол 40 восстанавливалось в одинаковой степени.

Таким образом, при белковом голодании можно наблюдать снижение количественных значений основных параметров, характеризующих белковый, энергетический обмен, а также параметров электролитного баланса. При использовании нового кровезаменителя показатели белкового обмена и электролитного баланса восстанавливались приблизительно в такой же степени, как и при использовании препарата Инфезол 40. В то же время при применении нового кровезаменителя происходило восстановление показателей энергетического обмена в большей степени, чем после инфузий препарата Инфезол 40. Это связано с введением в новый кровезаменитель антиоксидантного комплекса с энергетической активностью, способного нормализовать не только белковый, пластический обмен и электролитный баланс, но и активно восстанавливать энергетический метаболизм в клетке.

Выводы

Новый кровезаменитель на модели белкового голодания по эффективности влияния на показатели белкового обмена и электролитного баланса не уступая зарубежному аналогу (Инфезол-40).

Введение нового кровезаменителя приводит к более выраженному, чем после применения препарата Инфезол-40 восстановлению показателей энергетического обмена.

Литература

1. Бровкина И.Л., Конопля А.И., Прокопенко Л.Г. Эргопротекторная эффективность витаминов, активирующих антиоксидантные, энергетические и анаболические процессы при голодании // Человек и его здоровье. – 2012. – №1. – С. 5-9.
2. Волощук О.Н., Копыльчук Г.П., Бадяк О.Д. Активность митохондриальных энзимов малат-аспартатного шунта в печени в условиях алиментарной депривации протеина // Журн. фундамент. медицины и биол. – 2015. – №2. – С. 33-37.
3. Гунина Л. Окислительный стресс и адаптация: метаболические аспекты влияния физических нагрузок // Наука в олимпийском спорте. – 2013. – №4. – С. 19-25.
4. Поляковская О.В., Далингер А.Е., Инфузионная терапия: некоторые аспекты в современных условиях // Травма. – 2014. – Т. 15, №5. – С. 11-14.
5. Селиванова А.В., Лазаренко М.И., Марченков Ю.В., Бутров А.В. Изменения обмена веществ у пациентов с тяжелой механической травмой // Мед. алфавит. Неотложная медицина. – 2013. – №4. – С. 16-19.
6. Скверчинская Е. А., Тавровская Т. В., Новожилов А. В. Активность Na^+ , K^+ -АТФазы эритроцитов крыс при продолжительном алиментарном голодании // Журн. эволюционной биохим. и физиол. – 2013. – Т. 49, №2.
7. Черний В.И., Колесников А.Н., Олейников К.Н. и др. Рациональная инфузионная терапия. – Донецк: Друк ТОВ «Каштан», 2012. – 183 с.
8. Черний В.И., Колесников А.Н., Стасюк В.Н., Чернуцкий С.О. Применение препарата Гекотон в остром периоде ишемического инсульта и при сочетанной травме, сопровождающейся тяжелым повреждением головного мозга // Український нейрохірургічний журн. – 2015. – №1. – С. 72-78.
9. Черний В.И. Сбалансированная инфузионная терапия в периоперационном периоде. Методы жидкостной реанимации периоперационной кровопотери // Меди-

цина неотложных состояний. – 2015. – №2 (65). С. 37-43.

10. Черный В.И. Актуальные аспекты инфузионной терапии // Медицина неотложных состояний. – 2015. – №3 (66). – С. 43-53.

11. Eren M., Place A.T., Thomas P.M. et al. PAI-1 is a critical regulator of FGF23 homeostasis // Sci. Adv. – 2017. – Vol. 3, №9. – P. e1603259.

12. Hu H., Liu D., Li P. Methane delays the senescence and browning in daylily buds by re-established redox homeostasis // J. Sci. Food Agric. – 2018. – Vol. 98, №5. – P. 1977-1987.

Таблица 1

Показатели фракций белков плазмы крови при белковом голодании и после применения нового кровезаменителя, М±т

| Показатель | Группа | | | |
|---------------------|-----------------------------|--------------------------------------|---|---|
| | 1-я (исходные данные), n=15 | 2-я (белковое голодание), n=15 | 3-я (Инфезол 40), n=15 | 4-я (новый кровезаменитель), n=15 |
| Масса, %1 | 100,0±2,0 | 54,7±1,8 ^a ар<0,0001 | 100,3±2,2 ^b бр>0,0001 | 103,7±2,6 ^b бр>0,0001 |
| Общий белок | 5,11±0,1 | 4,33±0,14 ^a ар<0,0001 | 5,67±0,12 ^{ab} ар<0,0002 ^р<0,0001 | 5,72±0,16 ^{ab} ар<0,01 бр<0,0001 |
| Альбумины фракция I | 606,3±19,3 | 479,5±18,6 ^a ар<0,0001 | 543,4±16,9 ^b ар<0,05 бр<0,02 | 549,4±22,0 ^b бр<0,05 |
| Глобулины: | | | | |
| Фракция 2 | 124,1±11,2 | 98,5±4,1 ^a ар<0,05 | 98,2±2,6 ^a ар<0,05 | 100,3±10,2 |
| Фракция 3 | 267,9±11,6 | 153,6±16,1 ^a ар<0,0001 | 134,3±6,1 ^a ар<0,0001 | 132,3±4,1 ^a ар<0,0001 |
| Фракция 4 | 157,6±5,0 | 44,9±2,6 ^a ар<0,0001 | 75,3±5,1 ^{ab} абр<0,0001 | 75,6±6,3 ^{ab} абр<0,0001 |
| Фракция 5 | 140,9±12,4 | 58,6±3,3 ар<0,00001 | 80,3±9,8 ^{ab} ар<0,00001 бр<0,05 | 81,8±7,2 ^{ab} ар<0,00001 бр<0,01 |

Примечание. 1 – Масса крыс, выраженная в процентах от исходной; р<0,05: а – по сравнению с исходными данными (1-я гр.); б – по сравнению с данными животных с безбелковой диетой (2-я гр.).

Таблица 2

Энергетические показатели в эритроцитах и концентрации электролитов в плазме крови при белковом голодании и инфузии нового кровезаменителя, М±т

| Показатель | 1-я (исходные данные), n=15 | 2-я (белковое голодание), n=15 | 3-я (Инфезол-40) n=15 | 4-я (новый кровезаменитель), n=15 |
|--|-----------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|---|
| АТФ, усл. ед. | 6,48±0,23 | 5,03±0,25 ^a р<0,05 | 6,85±0,30 ^b бр<0,0001 | 8,02±0,446 ^b бр<0,0001 вр<0,05 |
| Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза, мкмольФн /ч/мл | 16,2±1,3 | 10,6±0,9 ^a ар<0,0002 | 14,1±1,1 ^b бр<0,05 | 16,7±1,1 ^b бр<0,0001 |
| Mg ²⁺ -АТФаза, мкмольФн /ч/мл | 27,1±2,4 | 19,6±1,2 ^a ар<0,01 | 22,8±1,3 | 27,1±1,46 ^b бр<0,0001 вр<0,05 |
| Na ⁺ плазма, мМ | 141,4±1,1 | 137,9±0,9 ^a р<0,05 | 140,8±1,0 ^b бр>0,05 | 141,3±1,2 ^b бр<0,05 |
| K ⁺ плазма, мМ | 5,31±0,12 | 4,12±0,09 ^a ар<0,0001 | 5,20±0,10 ^a ^р<0,0001 | 5,29±0,10 бр<0,0001 |
| Креатинфосфокиназа (КФК), Е/л | 198,2±18,2 | 140,4±12,4 ^a ар<0,02 | 180,5±13,8 ^b бр<0,05 | 201,5±17,1 ^b бр<0,01 |
| Лактатдегидрогеназа (ЛДГ), Е/л | 448,5±21,5 | 374,5±17,2 ^a ар<0,02 | 429,5±15,8 ^b бр<0,05 | 446,5±20,5 ^b бр<0,02 |
| Глюкоза, моль/л | 6,2±0,26 | 2,8±0,22 ^a ар<0,0001 | 4,0±0,27 ^b бр<0,0002 | 5,3±0,316 ^b бр<0,0001, вр<0,01 |

Примечание. р<0,05: а – по сравнению с исходными данными (1-я гр.); б – по сравнению с данными животных при голодании; в – по сравнению с данными крыс после инфузии препарата Инфезол 40.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЕЙСТВИЯ НОВОГО АМИНОКИСЛОТНОГО ПРЕПАРАТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БЕЛКОВО-ЭНЕРГЕТИЧЕСКОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Каримов Х.Я., Шевченко Л.И., Алимов Т.Р., Исроилов А.А, Рузиев У.С., Лубенцова О.В.

Цель: оценка эффективности действия нового аминокислотного средства коррекции нарушений гомеостаза на модели белкового голодания. **Материал и методы:** модель белкового голодания воспроизводили у 60 крыс-самцов массой 180-200 г, которых разделили на четыре группы по 15 особей в каждой: 1-я группа (контроль) – интактные животные, 2-я, 3-я и 4-я – безбелковый рацион питания, начиная с 11-го дня животным 3-й группы вводили препарат сравнения Инфезол 40, 4-й – новый кровезаменитель в дозе 10 мл/кг массы. **Результаты:** новый кровезаменитель восстанавливает белковый, энергетический обмен и электролитный баланс. Изучаемый препарат и Инфезол 40 примерно одинаково восстанавливали массу, белковый обмен и электролитный баланс в течение 10 суток. Однако при применении нового кровезаменителя показатели энергетического обмена восстанавливались в большей степени благодаря антиоксидантному комплексу с энергетической активностью. **Выводы:** применение нового кровезаменителя восстанавливает параметры белкового и энергетического обмена, а также электролитного баланса, превосходя по эффективности Инфезол-40.

Ключевые слова: аминокислотное средство, модель белкового голодания, белковый обмен, электролитный баланс, энергетический обмен.