

ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТА «АКТОВЕГИН» НА МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ОБМЕН ФОРМЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ КРОВИ**Гулевский А. К., Жаркова Е. Е., Горина О. Л., Моисеева Н. Н.***Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, Харьков, Украина**evzharkova92@gmail.com*

Известно, что препарат «Актовегин[®]» («Такеда», Япония) является одним из самых продаваемых лекарственных средств в мире, по своей химической природе представляющий собой высокоочищенный гемодиализат, который получают методом ультрафильтрации из крови молочных телят. Препарат содержит низкомолекулярные соединения: электролиты, промежуточные продукты жирового и углеводного обмена, макро- и микроэлементы. Молекулярная масса всех соединений, входящих в состав препарата «Актовегин» не превышает 5 кДа. По данным литературы, он стимулирует транспорт глюкозы и ее ресинтез внутри клетки, не влияя при этом на рецепторы инсулина [3]. Показано, что транспорт глюкозы в клетках активируется в результате взаимодействия с ее переносчиками в плазматической мембране [1]. Механизм действия препарата «Актовегин» связан с имеющимися в его составе компонентами. В частности, по данным [4]: аланин и лейцин активируют пластический и энергетический обмен; холин и глутамат активируют нейротрансмиссию в результате влияния на обмен нейромедиаторов; аденозин активирует пластические свойства пуриновых и пиримидиновых оснований, что влияет на синтез нуклеиновых кислот и захват свободных радикалов; гипоксантинтрансфераза активирует ферментные реакции приводящие к увеличению содержания АТФ. Также к механизмам действия относят активацию липолиза. Эти данные были получены на клетках печени, почек, миокарда, жировых и др. клетках. Вместе с тем сведения о влиянии и механизмах действия препарата «Актовегин» на морфо-функциональные свойства и энергетический обмен форменных элементов крови: эритроцитов и лейкоцитов остаются во многом не ясными.

В связи с вышеизложенным, в наших исследованиях было изучено «омолаживающее» действие препарата «Актовегин» на эритроциты донорской крови человека подвергнутые гипотермическому хранению на протяжении 21 суток при 2-4°C и изучены некоторые механизмы этого феномена. Длительное хранение эритроцитов нами было использовано с целью истощения их энергетического ресурса по содержанию АТФ и содержания регулятора их дыхательной функции 2,3-ДФГ. При этом было установлено, что добавление препарата «Актовегин» в оптимальной концентрации к донорской крови человека и последующая инкубация при 37°C на протяжении часа, способствуют увеличению дискоидных форм эритроцитов, а также увеличению сатурации в них. При этом, в экспериментах показано, что в клетках увеличивается содержание оксигемоглобина и уменьшается содержание дезоксигемоглобина. Также, нами было установлено, что препарат «Актовегин» стимулирует гликолиз, что приводит к увеличению содержания АТФ в 1,7-2 раза и 2,3-ДФГ в 1,3-1,75 раза в зависимости от сроков гипотермического хранения (рис. 1.). Эти данные коррелируют с данными полученными ранее в опытах Valeri, Аграненко, Тибиловой и др, которые установили, что «омолаживающие» растворы, содержащие аденин, инозин, рибоксин и др. метаболиты способствуют восстановлению эритроцитов в донорской крови человека АТФ и 2,3-ДФГ.

Нами было также установлено, что механизм действия препарата «Актовегин» на эритроциты связан не только с влиянием на метаболизм макроэргов непосредственным действием на процессы гликолиза, но и влиянием отдельных компонентов этого препарата на опиатные рецепторы. Об этом факте свидетельствуют данные использования ингибитора опиатных рецепторов «Налоксон». А именно, при инкубации донорской крови человека, где в качестве реабилитирующей среды использовали препарат «Актовегин», с добавлением препарата «Налоксон» восстановление таких показателей как АТФ и 2,3-ДФГ сокращалось в 1,5-2 раза по сравнению с контролем. Полученные данные позволяют предположить, что в механизме действия препарата «Актовегин» участвуют определенные компоненты, входящие в его состав.

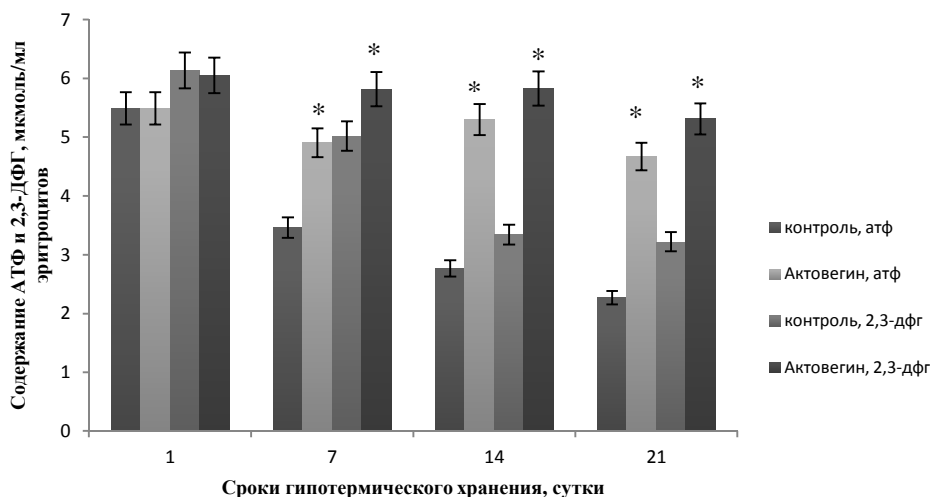


Рис. 1. Влияние препарата «Актовегин» На содержание АТФ и 2,3-ДФГ донорской крови человека на разные сутки гипотермического хранения n=5. * – отличия достоверны в сравнении с контролем (p<0,05)

Наши исследования с использованием гель-проникающей хроматографии на пластиковой колонке [2] (рис. 2) и аналитической биохимии показали, что препарат «Актовегин» является многокомпонентным и содержит ряд низкомолекулярных веществ.

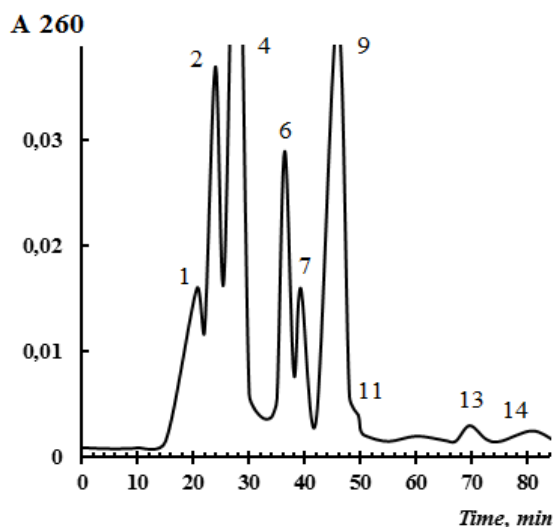


Рис. 2. Гель-проникающая хроматография препарата «Актовегин» на колонке, заполненной поливиниловым гелем Toyopeas 1HW-40 Fine (ToyoSoda, Japan) в фосфатно-солевом буфере (Na₂HPO₄30 мМ, NaCl200 мМ, рН 7,6). 1-14- собранные фракции низкомолекулярных компонентов

В частности, согласно полученными нами данными, в состав препарата «Актовегин» входят (1 мг/мл): 1,064 пкг/мл эстрадиол; 0,023 пкмоль/л трийодтиронин свободный; 0,341 нмоль/л кортизол; □0,0005 нг/мл прогестерон; □0,002 ммоль/л кальций ионизированный; 0,0043 ммоль/л магний; 0,102 ммоль/л фосфор; □0,002 мкмоль/л цинк; 0,305 ммоль/л глюкоза; 0,885 ммоль/л лактат; 8,225 мкмоль/л креатинин; 1,3 мг/л уоновая кислота; 30 мг/л гликопротеины; 0,3 мкмоль/л АТФ.

Также в настоящей работе в экспериментах *in vitro* было установлено стимулирующее влияние препарата «Актовегин» на показатели фагоцитарной активности лейкоцитов донорской крови, а именно на поглотительную и переваривающую способности. Инкубация лейкоконцентрата с препаратом в оптимальной концентрации приводила к достоверному

повышению фагоцитарного числа (показателя, характеризующего количество поглощенных микробных тел) нейтрофилов в 1,37 раз и индекса завершенности фагоцитоза (показателя переваривающей активности) – в 1,3 раз по сравнению с контрольными значениями. Эксперименты, проведенные в присутствии ингибитора гликолиза йодоацетата натрия, позволили предположить, что стимулирующее действие препарата «Актовегин» на поглотительную и переваривающую активность проявляется в повышении энергетического потенциала фагоцитов и, как следствие, их функциональной активности. Так, после введения ингибитора в среду инкубации регистрировали достоверное снижение всех показателей фагоцитарной активности нейтрофилов. Установлено, что одновременная инкубация суспензии лейкоцитов с гликолитическим ингибитором и препаратом повышала показатели фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа нейтрофилов до исходных значений контрольных образцов. При этом показатель переваривающей способности (ИЗФ) после инкубации с препаратом «Актовегин» и ингибитором увеличивался в 2,25 раз по сравнению с аналогичным показателем в пробах, инкубируемых только с йодоацетатом натрия (рис. 3).

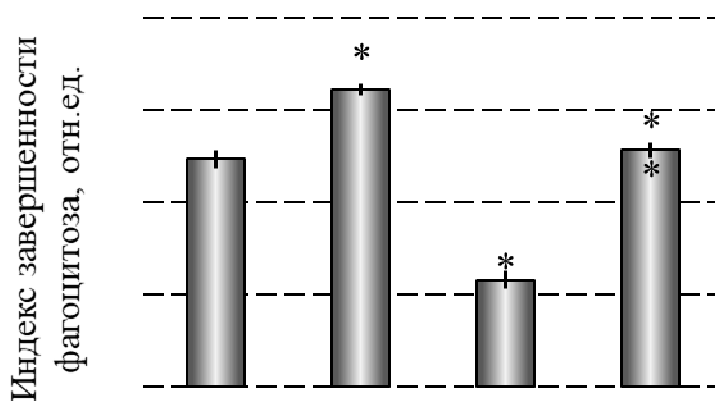


Рис. 3. Влияние препарата «Актовегин» на переваривающую активность (индекс завершенности фагоцитоза) нейтрофилов концентрата лейкоцитов из донорской крови без и в присутствии йодоацетата натрия (1 мМ), n=5. * – отличия достоверны в сравнении с контролем ($p<0,05$); ** – отличия достоверны в сравнении с вариантом инкубации лейкоцитов с йодоацетатом натрия ($p<0,05$)

Таким образом, в результате проведенных исследований удалось выяснить, что: препарат «Актовегин» оказывает «омолаживающее» действие на эритроциты донорской крови человека, стимулируя накопления АТФ и 2,3-ДФГ; препарат «Актовегин» увеличивает сатурацию эритроцитов и накопление оксигемоглобина; механизм «омолаживающего» действия связан с активацией гликолиза и пентозо-фосфатного шунта Раппопорта как при непосредственном действии, так и в результате взаимодействия с опиатными рецепторами.

Препарат «Актовегин» в оптимальной концентрации достоверно повышает показатель фагоцитарной активности лейкоцитов – фагоцитарный индекс.

Література

1. Obermaier-Kuser В., Muchibacher Ch., Mushack J. et al. Further evidence for a two-step model of glucose transport regulation // *Biochem. J.* – 1989. – 261. – P. 699-705.
2. Клінічна лабораторна діагностика: практичні заняття з клінічної біохімії / Л.П. Аксененко, З.С. Баркаган, З.П. Гетте та ін. / За ред. М.А. Базарнової, З.П. Гетте. – К.: Вища школа, 1994. – 423 с.
3. Коган А.Х., Кудрин А.Н., Кактурский Л.В. и др. Свободнорадикальные перекисные механизмы патогенеза ишемии и ИМ и их фармакологическая регуляция // *Патофизиология.* – 1992. – № 2. – С.5-15.
4. Нордвик Б. Механизм действия и клиническое применение препарата актовегина. *Актовегин. Новые аспекты клинического применения.* – М., 2002. – С 18-24.