

Л. М. Карпов, А. Я. Розанов, Р. О. Файтельберг,
П. Н. Венгржановский, В. М. Малаховская

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЛИПОВОЙ КИСЛОТЫ И ТИАМИНА ПРИ ВСАСЫВАНИИ В ТОНКОМ КИШЕЧНИКЕ СОБАК

Биохимическое действие липовой кислоты достаточно многогранно и затрагивает обмен углеводов, липидов и белков, что в настоящее время объясняется участием этого кофермента совместно с кокарбоксилазой, КоА, НАД и ФАД в каталитических функциях дегидрогеназ α -кетокислот. Суточная потребность человека в липовой кислоте составляет 1—2 мг, а лечебная доза — 10—20 мг [1, 6, 7, 16]. Липовую кислоту часто применяют при лечении заболеваний печени и во многих случаях в сочетании с другими витаминами, например с тиамином. Ранее нами было показано, что совместное инъекционное введение ^{35}S -липоевой кислоты с тиамином увеличивает поступление метки в их органы и ткани [2]. Сходным действием на поступление липоевой кислоты в органы и ткани животных обладают и другие витамины группы В; при этом результат зависит от соотношения доз витаминов и от способа их введения [4, 15]. В специальных исследованиях было показано, что функционально связанные витамины ($\text{B}_1 + \text{ФМН} + \text{B}_3 + \text{РР}$), коферментные дегидрогеназы α -кетокислот, инъекционные крысам совместно с ^{35}S -липоатомом при молярных соотношениях 0,2:1:5:8, существенно увеличивают включение метки в лейкоциты и в ткани пищеварительной системы [12].

С другой стороны, имеются данные о том, что недостаточность тиамина у крыс приводит к снижению содержания липоевой кислоты в их тканях [1], и введение в этом случае повышенных доз липоевой кислоты может привести к токсическому повреждению печени (жировая инфильтрация) [20] или даже к патологической реакции всего организма [17]. Очевидно, таким образом, что между этими двумя витаминами имеется тесная функциональная и метаболическая связь. Из приведенных данных следует, что исследования фармакокинетики этих витаминов при различных дозах и способах введения, а также взаимодействия их между собой представляет значительный теоретический и практический интерес.

Учитывая итоги наших многолетних исследований, мы считаем, что одним из определяющих механизмов взаимодействия липоата и тиамина могут быть транспортно-метаболические их взаимодействия в процессе энтеро-гепатической рециркуляции, включающей и всасывание метаболитов [8, 9, 12, 13]. Такое взаимодействие практически не изучено. Известна только одна работа такого рода [5], в которой показано существование оптимальных соотношений при всасывании витаминов B_1 и РР в кишечнике крыс.

Целью настоящей работы и является изучение кинетики всасывания двух витаминов — B_1 и липоевой кислоты в тонком кишечнике собак и их взаимодействия друг с другом в этом процессе.

Методика

Исследования выполнены на четырех собаках-самцах, которым были установлены фистулы по Тири. Животные подобраны близкими по массе (9—10 кг). Изучаемые меченые препараты тиамина и липоата в разных концентрациях и сочетаниях вводили через фистулу в 5 мл физиологического раствора. Через разные сроки (2, 4, 8, 16 мин), остаток введенного раствора собирали в мерную пробирку и дважды промывали изолированный участок тонкого кишечника физиологическим раствором (по 5 мл). После этого объединенный раствор доводили до 20 мл и из каждой пробы наносили по 1 мл на 4 подложки, добавляя затем по несколько капель концентрированного аммиака. Подложки сушили при 60°C до постоянной массы и рассчитывали радиоактивность

под торцовым счетчиком синтезирована нами. ^{35}S В первой части р всасывания ^{35}S -липоево ратов. Затем, добавляя интенсивность всасывания разных доз намеч брали животных в оп кишечника при использо ски не превышал фон. ний [3] и данными други

В предварительных для последующего всасывания. Показано, что через 16 мин происходит максимум (табл. 1). При этом с возрастом скорость

Таблица 1.
 ^{35}S -липоевая кислота
в изолированную кишку

Время экспозиции, мин	
2	30
4	31
8	32
16	33

Для последующих исследований мы изменяли дозу до 25 мкмоль/л. Обнаружено, что всасывание зависит от доз (см. рис. 1). В пределах изученных доз не выявлено никаких закономерностей в механизмах, эффективности и скорости всасывания. Подобные исследования транспорта и всасывания выполнены в нашей лаборатории.

В случае липоевой кислоты всасывание подчиняющихся кинетике прослежено полностью. Всасывание тановлены незначительными количествами в пределах 20—25 мкмоль/л.

Зависимости всасывания от дозы для ^{35}S -ЛК и ^{35}S -ТЛК. Для первого всасывания 1,5 мкмоль для первого всасывания также подтверждает, что всасывание не только зависит от концентрации, но и от механизмов. На основании исследований следовало бы ожидать, что ^{35}S -ЛК и ^{35}S -ТЛК всасываются одним и тем же механизмом. Мы выяснили, что тиамина всасывается независимо (табл. 2), что тиамина особенно (на 54 %) всасывается ЛК:Т=1:2,5).

под торцовым счетчиком на радиометре УМФ-1500. ^{35}S -липоевая кислота (^{35}S -ЛК) синтезирована нами. ^{35}S -тиамин (^{35}S -Т) фирмы Amersham International.

В первой части работы мы исследовали в сравнительном аспекте зависимость всасывания ^{35}S -липоевой кислоты и ^{35}S -тиамина от времени экспозиции и дозы препаратов. Затем, добавляя разные дозы немеченого тиаминa, мы изучали их влияние на интенсивность всасывания ^{35}S -ЛК. По такой же схеме проводили исследование влияния разных доз намеченой липоевой кислоты на всасывание ^{35}S -тиамина. Повторно брали животных в опыт через 48 ч. Через этот срок в крови животных и в просвете кишечника при использованных дозах препаратов уровень радиоактивности практически не превышал фон. Это согласуется с результатами наших предыдущих исследований [3] и данными других авторов [18].

Результаты и их обсуждение

В предварительных экспериментах установлены оптимальные условия для последующего изучения взаимодействия двух витаминов при всасывании. Показано, что при увеличении времени экспозиции от 2 до 16 мин происходит постепенное увеличение всасывания обоих витаминов (табл. 1). При этом уровень всасывания был выше для ^{35}S -ЛК, а возрастание скорости всасывания — для ^{35}S -Т.

Таблица 1. Влияние времени экспозиции на степень всасывания ^{35}S -липоевой кислоты и ^{35}S -тиамина, введенных через фистулу в изолированную петлю тонкого кишечника собак (дозы 0,5 мкмоль, общий объем 5 мл, $n=8$)

Время экспозиции, мин	^{35}S -липоат		^{35}S -тиамин	
	мкмоль	%	мкмоль	%
2	307,2±3,5	61,5	164,5±7,5	32,9
4	310,0±8,5	62,0	181,5±10,3	36,3
8	320,0±7,5	64,0	231,5±10,0	42,7
16	330,5±11,5	66,1	230,1±7,4	46,0

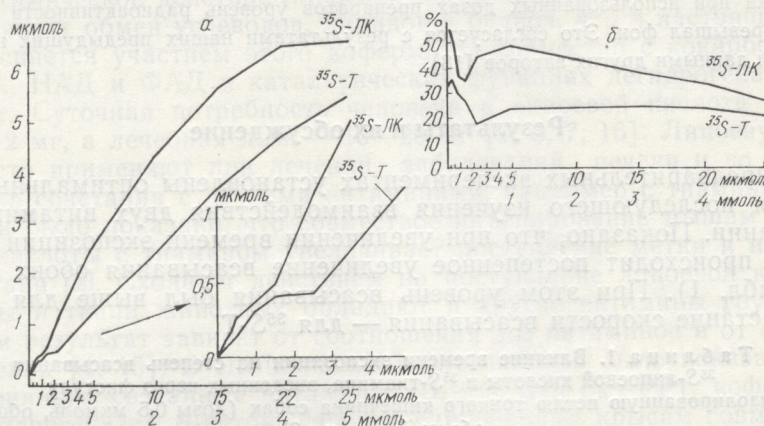
Для последующих экспериментов мы выбрали время экспозиции 8 мин и изменяли дозы препаратов, вводимых в фистулу, от 0,25 до 25 мкмоль/л. Обнаружено, что всасывание обоих соединений нелинейно зависит от доз (см. рисунок, а) и, по-видимому, для каждого из них, в пределах изученных доз, имеется, по крайней мере, по два транспортных механизма, эффективность действия которых зависит от доз (концентраций). Подобные заключения уже делались и раньше при исследованиях транспорта липоевой кислоты через различные биомембраны, выполненных в нашей лаборатории [11, 14].

В случае липоевой кислоты четко обнаруживается два участка, подчиняющихся кинетике Михаэлиса — Ментен, а для тиаминa один прослежен полностью, а другой — частично. Для липоевой кислоты установлены незначительные уменьшения доли всосавшейся метки в пределах 20—25 мкмоль/л (4—5 мг).

Зависимости процента всосавшегося препарата от количества введенного для ^{35}S -ЛК и ^{35}S -Т имеют четкие минимумы при дозах 1,5 мкмоль для первого и при 2,5 — для второго (см. рисунок, б), что также подтверждает сделанные выше заключения. На рисунке представлены не только дозы, но и концентрации препаратов, так как именно концентрации важны для оценки особенностей действия транспортных механизмов. На основании этих данных мы выбрали для дальнейших исследований следующие условия: время экспозиции — 8 мин, дозы ^{35}S -ЛК и ^{35}S -тиамина — 0,5 мкмоль. При этом одновременно с меченым витамином мы вводили разные дозы другого, немеченого. Установлено (табл. 2), что тиамин во всех дозах увеличивал всасывание ^{35}S -ЛК, но особенно (на 54 %) в дозе 1,25 мкмоль (молярное соотношение ^{35}S -ЛК:Т=1:2,5).

Действие различных доз немеченой ЛК на всасывание ^{35}S -тиамина выражено слабее (табл. 3), но также максимально стимулирует его при молярном соотношении ЛК: ^{35}S -Т-1:2,5 (на 31 %). А при соотношении 1:1 всасывание даже уменьшается ниже исходного уровня, т. е. без добавления ЛК.

Полученные результаты позволяют сделать несколько выводов. Во-первых, можно предположить, что наличие оптимального и совпадающего для всасывания обоих витаминов соотношения свидетельствует о



Зависимость всасывания ^{35}S -липоевой кислоты и ^{35}S -тиамина, введенных через фистулу в тонкий кишечник собак, от их доз (время экспозиции — 8 мин, среднее из 8 опытов). а — количество всосавшихся витаминов в мкмоль, б — зависимость количества всосавшихся витаминов от дозы, в %.

взаимосвязи транспорта Т и ЛК. Во-вторых, они подтверждают сделанное выше заключение о наличии двух механизмов всасывания. И наконец, есть основания считать, что в таком же молярном соотношении (1:2,5) или близком к нему, например 1:3, липоевая кислота и тиамин должны входить и в поливитаминные препараты, предназначенные для приема внутрь.

Таблица 2. Влияние различных доз тиамина на всасывание ^{35}S -липоевой кислоты в тонком кишечнике собак (время экспозиции 8 мин, $n=8$)

Дозы препаратов, мкмоль	Молярное отношение ^{35}S -ЛК/Т	Всосалось ^{35}S -ЛК		
		мкмоль	% от введенной дозы	% от исходного уровня
0,5 ^{35}S -ЛК	1:0	$0,230 \pm 0,020$	46	100
+0,25 Т	1:0,5	$0,295 \pm 0,021$	59	128
+1,25 Т	1:2,5	$0,355 \pm 0,030$	71	154
+2,50 Т	1:5,0	$0,245 \pm 0,015$	49	107
+5,00 Т	1:10	$0,265 \pm 0,029$	53	115

Таблица 3. Влияние различных доз липоевой кислоты на всасывание ^{35}S -тиамина в тонком кишечнике собак (время экспозиции 8 мин, $n=8$)

Дозы препаратов, мкмоль	Молярное отношение ^{35}S -Т/ЛК	Молярное отношение ЛК/ ^{35}S -Т	Всосалась ^{35}S -Т		
			мкмоль	% от введенной дозы	% от исходного уровня
0,5 ^{35}S -Т	1:0	—	$0,161 \pm 0,010$	32,3	100
+0,2 ЛК	1:0,4	1:2,5	$0,212 \pm 0,017$	42,4	131
+0,5 ЛК	1:1	1:1	$0,140 \pm 0,015$	28,0	86,5
+1,0 ЛК	1:2	1:0,5	$0,174 \pm 0,020$	34,8	107
+2,0 ЛК	1:4	1:0,25	$0,180 \pm 0,011$	36,0	111,3
+4,0 ЛК	1:8	1:0,125	$0,195 \pm 0,025$	39,0	121

1. Анисимов В. Е. мин N).— Казань
2. Карпов Л. М., Рнинах мишей.— У
3. Карпов Л. М., Рсывания ^{35}S -липосы материалы II Всесошеч. тракте. Одес
4. Карпов Л. М., Флипоевой кислотыных дозировок фМатериалы 3-го 1975, с. 65—67.
5. Кирилук А. Г., Хпри всасывании в
6. Логинов А. С., Исческих заболеваний
7. Островский Ю. Мс. 464—470.
8. Розанов А. Я. Фазее механизмы и би
9. Розанов А. Я. Дивисимость от функс. 27—84.
10. Розанов А. Я., Каргический контрольамин, никотинамид,альные проблемы в
11. Розанов А. Я., Слимными элементами кс. 45—48.
12. Слизовская К. С. Вта тканями, клеткам 1976.—24 с.
13. Степанова Л. Н., пантотената, липоатТез. докл. Всесоюзс. 164—165.
14. Тоцкий В. Н. О мехбиологические стру
15. Филиппова Т. О., Кпоступление ^{35}S -лип№ 2, с. 193—196.
16. Шилов П. И., Яков 1974.—487 с.
17. Gal E. M. Reversal ne-deficient rats.— N
18. Wada M. A study o 1961, N 3, p. 233—242
19. Wada M., Asada M., Vitamins, 1964, 29, N
20. Wirtschafter Z. T., S and Clin. Med., 1962,

Одес. ун-т

1. Анисимов В. Е. Биохимия и клиническое применение липоевой кислоты (витамин N).— Казань: Изд-во Казан. унта, 1969.—198 с.
2. Карпов Л. М., Розанов А. Я. Вплив вітамінів на депонування ^{35}S -ліпоату у тканинах мишей.— Укр. біохім. журн., 1973, 45, № 4, с. 448—452.
3. Карпов Л. М., Розанов А. Я., Филиппова Т. О. и др. Сравнительное изучение всасывания ^{35}S -липоевой кислоты и ее амида в тонком кишечнике собак.— В кн.: Материалы II Всесоюз. симпозиума по физиологии и патологии всасывания в желудоч.-кишеч. тракте. Одесса, 1973, с. 56—58.
4. Карпов Л. М., Филиппова Т. О., Нгуен Ван Зунг и др. Динамика включения ^{35}S -липоевой кислоты в ткани и митохондрии печени белых мышей под влиянием разных дозировок функционально связанных витаминов и их производных.— В кн.: Материалы 3-го Гродненс. симпозиума «Межвитаминные взаимоотношения». Гродно, 1975, с. 65—67.
5. Кирилюк А. Г., Хмелевский Ю. В. Механизмы взаимодействия витаминов B₁ и PP при всасывании в кишечнике крыс.— Вopr. мед. химии, 1978, 24, № 1, с. 67—73.
6. Логинов А. С., Исакова З. С., Бакуленко М. С. Лечение липоевой кислотой хронических заболеваний печени.— Клин. медицина, 1967, № 8, с. 58—61.
7. Островский Ю. М. Липоевая кислота.— В кн.: Витамины. М.: Медицина, 1974, с. 464—470.
8. Розанов А. Я. Фазовая динамика метаболизма в печени коферментных витаминов, ее механизмы и биологическое значение.— Витамины, 1976, вып. 9, с. 34—42.
9. Розанов А. Я. Динамика метаболизма тиамин, его биологическое значение и зависимость от функций пищеварительной системы.— В кн.: Тиамин. М.: Наука, 1978, с. 27—84.
10. Розанов А. Я., Карпов Л. М. Стабильность, биохимическое изучение и фармакологический контроль поливитаминных ампулированных препаратов, содержащих тиамин, никотинамид, ФМН и пиридоксин.— В кн.: Тез. докл. Всесоюз. конф. «Актуальные проблемы витаминологии». М., 1978, т. III, с. 29—30.
11. Розанов А. Я., Слизовская К. С. Кинетика связывания белками плазмы и форменными элементами крови [^{35}S] липоата *in vitro* Укр. биохим. журн., 1977, 49, № 2, с. 45—48.
12. Слизовская К. С. Взаимодействие витаминов в организме при связывании ^{35}S -липоата тканями, клетками и белками крови: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Одесса, 1976.—24 с.
13. Степанова Л. Н., Розанов А. Я., Гунар В. И. Обмен инъекционных тиамин, пантотената, липоата и их ГАМК-производных в пищеварительной системе.— В кн.: Тез. докл. Всесоюз. конф. «Актуальные проблемы витаминологии». М., 1978, с. 164—165.
14. Тоцкий В. Н. О механизмах и путях регуляции проникновения липоевой кислоты в биологические структуры.— Биохимия, 1976, 41, вып. 6, с. 1094—1105.
15. Филиппова Т. О., Карпов Л. М., Розанов А. Я. Действие витаминов группы В на поступление ^{35}S -липоевой кислоты в ткани мышей.— Укр. биохим. журн., 1978, 50, № 2, с. 193—196.
16. Шилов П. И., Яковлев Т. Н. Основы клинической витаминологии.— Л.: Медицина, 1974.—487 с.
17. Gal E. M. Reversal of selective toxicity of (—)- α -lipoic acid by thiamine in thiamine-deficient rats.— Nature, 1965, 207, p. 535—545.
18. Wada M. A study of the metabolism of lipoic acid and lipoamide.— J. Vitaminol., 1961, N 3, p. 233—242.
19. Wada M., Asada M., Ooka S. Effect of lipoic acid on the metabolism in rat liver.— Vitamins, 1964, 29, N 6, p. 521—524.
20. Wirtschafter Z. T., Smith F. J. Effect of lipoic acid on the normal rat liver.— Lab. and Clin. Med., 1962, 60, N 6, p. 649—653.

Одес. ун-т

Поступила 05.06.84