

УДК: 547.262.099:612.398.192:612.17

## ЭФФЕКТЫ АМИНОКИСЛОТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ НА СПЕКТР НЕЙРОАКТИВНЫХ АМИНОКИСЛОТ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Е.М. Дорошенко, Ю.Е. Разводовский, В.Ю. Смирнов, В.М. Шейбак

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

*Введение аминокислотных композиций, содержащих таурин и аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ) (композиция 1), такой же композиции с триптофаном (композиция 2), таурин, лейцин, соли цинка и магния (композиция 3) на протяжении 10 суток крысам в состоянии хронической алкогольной интоксикации приводит к устранению или ослаблению ряда проявлений дисбаланса уровней нейроактивных аминокислот в отделах головного мозга крыс. Композиция 3 обладает более выраженным влиянием на спектр исследованных соединений, так как сходные по выраженности эффекты получены при дозе в 4 раза меньшей, чем для композиций 1 и 2. Все исследованные композиции вызвали выраженное снижение уровня гистидина в гипоталамусе, стриатуме и стволе мозга. После введения любой из композиций повышение уровня таурина во всех исследованных отделах мозга не было зарегистрировано.*

**Ключевые слова:** алкогольная интоксикация, трансмиссерные аминокислоты, таурин, АРУЦ, цинк, магний, таурин, триптофан

*Administration of amino acid compositions containing taurine, branched-chain amino acids (BCAA) (composition 1), the same composition supplemented with tryptophan (composition 2), taurine, leucine, zinc and magnesium salts (composition 3) to rats undergoing chronic alcohol intoxication for 10 days leads to alleviation or elimination of a number of signs of neuroactive amino acid imbalance in rat brain structures. Composition 3 was found to possess more pronounced influence on the pool of the compounds determined, since the effects were similarly expressed with dosage only 4 times less than those for compositions 1 and 2. All compositions tested were found to evoke pronounced decrease of histidine levels in hypothalamus, midbrain and striatum. Administration of any composition tested induced no increase in taurine concentration in any brain region studied.*

**Key words:** alcohol intoxication, transmitter amino acids, taurine, BCAA, zinc, magnesium, taurine, tryptophan.

Аминокислотный дисбаланс играет важную роль в патогенезе нейрхимических сдвигов в ЦНС, которыми сопровождается хроническая алкогольная интоксикация [1, 3, 13]. Коррекция дисбаланса содержания аминокислот и их производных может считаться необходимым компонентом метаболической терапии опийной зависимости. Незаменимая аминокислота L-триптофан обладает снотворным действием, вызывает состояние сонливости и уменьшает латентный период при засыпании, в связи с чем это соединение применялось в качестве снотворного. Действие этого соединения как снотворного, не изменяющего соотношение фаз медленного и быстрого сна, а также возможность стимуляции серотониновой системы, побудило исследователей к применению его в качестве антинаркотического препарата [5].

Ранее нами было продемонстрировано, что триптофан при его применении крысам в дозе 50 мг/кг вызывает выраженную активацию серотониновой системы за счет усиления как синтеза, так и распада медиатора, повышение содержания 5-НТР в исследованных отделах мозга. Кроме этого, введение триптофана вызывало снижение содержания тирозина в гипоталамусе, что, вероятно, объясняется конкурентными взаимоотношениями на уровне системы транспорта ароматических аминокислот. Триптофан не оказывал существенного влияния на системы аминокислот-трансмисмитеров [8]. На фоне синдрома отмены этанола также была обнаружена способность триптофана кор-

ригировать нарушения в функционировании серотонинергической системы [1, 3, 14, 15].

Одним из наиболее перспективных направлений в области разработок новых лекарственных препаратов гепатопротекторного и антиоксидантного действия являются поиск новых препаратов на основе субстанций природного происхождения, включая аминокислоты и их производные, которым свойственны практически полное отсутствие побочных эффектов, высокий терапевтический индекс, возможность длительного приёма, коррекция метаболического дисбаланса и гомеостаза, а также модуляция эффектов других лекарственных препаратов и препятствие проявлению их побочного действия [1, 2, 6].

Терапевтическое действие аминокислот с разветвлённой углеводородной цепью (АРУЦ) – L-изолейцина, L-валина и L-лейцина при лечении хронических заболеваний печени и осложняющей их печёночной энцефалопатии основано на незаменимости АРУЦ для организма человека и органоспецифичности их метаболических превращений разветвлённых аминокислот в печени и мышечной ткани, которая определяет ключевое значение L-изолейцина, L-валина и L-лейцина в реакциях глюконеогенеза и энергопродукции в ситуациях сочетанного поражения печени и ЦНС. Кроме того, особенности промежуточного обмена этих аминокислот позволяют активизировать процессы детоксикации на фоне печёночной недостаточности и энцефалопатии [3, 4, 6, 7].

Одновременно, на основании данных о гепатопротекторных, радиозащитных и антиоксидантных свойствах таурина, в настоящее время не вызывает сомнений целесообразность включения его в состав комплексных аминокислотных препаратов для лечения сочетанной патологии печени и ЦНС [17], что позволит реализовать свойственные таурину эффекты, а также активировать процессы транспорта АРУЦ из крови в ткани [9-12, 16].

Есть основания полагать, что таурин и цинк являются синергистами в способности ослаблять активность систем возбуждающих аминокислот-трансмисмиттеров в мозге. Показано, что потенцирование NMDA-рецепторов в культуре нервных клеток при внесении в среду инкубации глутамата и цистеина заметно уменьшается в присутствии катионов цинка или после предварительной обработки культуры клеток солями цинка [21]. Цинк является также одним из нейропротективных факторов, взаимодействующих с факторами роста нервов и цитокинами. Он может выступать кофактором многих нейропротекторов, облегчая их проникновение через гематоэнцефалический барьер и изменяя сродство лигандов к рецепторам [18]. Цинк связан с рядом функционально важных клеточных белков, изменяет метаболическую активность клетки, обладает антиоксидантными свойствами, регулирует апоптоз, изменяет экспрессию генов, защищает клетки от нейротоксических веществ, способствует пролиферации клеток и его содержание изменяется при различных патологических состояниях ЦНС [19, 20]. Известно, что при алкогольной интоксикации может наблюдаться гипомagnesия, которая может быть сходной по своим клиническим и биохимическим проявлениям с гиперкальциемией [22], а с другой стороны, таурин рассматривают как «тотальный антагонист кальция» [11]. Все это позволяет предположить, что часть эффектов таурина может быть усилена его совместным введением с ионами магния.

Цель работы: определить направленность влияния композиций аминокислот, содержащих таурин, на спектр нейрорактивных аминокислот и родственных соединений, в том числе предшественников нейротрансмисмиттеров, в отделах головного мозга крыс и сравнить два подхода к дальнейшей оптимизации таких композиций: добавление триптофана и устранение валина и изолейцина при введении в состав ионов цинка и магния.

#### Материалы и методы

В эксперименте использованы 32 белые крысы гетерогенной популяции, находящиеся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Хроническую алкогольную интоксикацию (ХАИ) моделировали 28-дневным внутривенным введением раствора этанола. В течение последних 10 суток алкоголизации внутрижелудочно вводили исследуемые композиции аминокислот. Состав исходной композиции 1: Tau:Val:Ile:Leu – 0,25:0,125:0,125:0,5, композиции 2: Tau:Val:Ile:Leu:Trp – 0,25:0,125:0,125:0,5:0,2, композиция 3: Tau:Leu:ZnSO<sub>4</sub>:MgSO<sub>4</sub> 100:100:25:25. Композиции АК вводили на фоне субхронической алкоголизации. Дозы препаратов составляли: композиции 1 по 500 мг/кг 2 раза в сутки; композиции 2 по 600 мг/кг 2 раза в сутки, композицию 3 по 125 мг/кг 2 раза в сутки.

Введение препаратов через 30 мин после введения этанола. Концентрации растворов и объем введения: композиция 1: 1 г/40 мл воды, 20 мг/кг; композиция 2: 1,2 г/40 мл воды, 20 мг/кг; композиция 3: 1 г/40 мл воды, 5 мг/кг; этанол: 25% раствор, 14 мг/кг. За 12 ч до забоя – голодание. Последнее введение препаратов: за 12 ч до забоя.

Определение свободных аминокислот (АК) проводили в хлорнокислых экстрактах отделов головного мозга (отделы мозга гомогенизировали в соотношении 1:10 в 0,2 М HClO<sub>4</sub>, содержащей 1 мМ гомотаурина и 1 мкМ ванилиновой кислоты (внутренние стандарты), 20 мг/л ЭДТА и 50 мг/л метабисульфата натрия, затем центрифугировали на холоду при 20000 g 15 мин, после чего супернатант немедленно отделяли от осадка) методом обращеннофазной ВЭЖХ производных аминокислот с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Условия определения: колонка Диасорб 130 C<sub>16</sub>T, 3x150 мм; подвижная фаза: 0,1 М Na-ацетатный буфер pH 5,7 / 50% метанол 100 / 54 (об/об). Скорость потока 0,8 мл/мин, температура колонки 30°C. Дериватизация: смешивание пробы с 5 объемами 0,4% раствора о-фталеевого альдегида и 0,3% 3-меркаптопропионовой кислоты в 0,4 М Na-боратном буфере, pH 9,4, затем нейтрализация добавлением равного объема 0,1 М хлорной кислоты. Определение ароматических АК (тирозина и триптофана) проводили методом ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции (280/320 нм для тирозина и 280/340 нм – для триптофана). Условия определения: колонка Сепарон SGX C<sub>18</sub>, 8 мкм, подвижная фаза: 0,1 М NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 17 мМ СН<sub>3</sub>COOH, 20 мг/л ЭДТА, 180 мг/л октилсульфоната натрия, 230 мг/л гептилсульфоната натрия. Скорость потока 0,5 мл/мин, температура колонки 27°C. Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработка данных – с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Обработка данных: Т-тест с учетом различий дисперсий в группах, пошаговый дискриминантный анализ и факторный анализ были реализованы с помощью программы Statistica 7.0.

#### Результаты и обсуждение

ХАИ в гипоталамусе вызывала повышение уровня Glu, снижение – Asn, His, Thr (рис. 1). Введение композиции 1 на фоне ХАИ в гипоталамусе предотвращало повышение уровней Glu и снижение Thr, однако сохранялось снижение уровней Asn, His (уровень последнего соединения снижался дополнительно по отношению к ХАИ), появлялось снижение уровня Trp. По сравнению с ХАИ: снижались уровни His, Gln, Trp и Trp. Введение композиции 2 в этой же ситуации предотвращало повышение уровня Glu, сохранялось снижение уровней Asn, Thr и His (уровень последнего соединения был достоверно ниже, чем при ХАИ, как и после введения композиции 1), появлялось снижение уровней PEA, Gln, Arg и Tau, а также повышение – Trp, которые отсутствовали при ХАИ. По сравнению с ХАИ: снижались уровни His, Glu, Gln, Arg, Trp и повышался – Trp. Наконец, композиция 3 в гипоталамусе также предотвращала повышение уровня Glu, а также снижение – Thr, уровни Asn и His из-

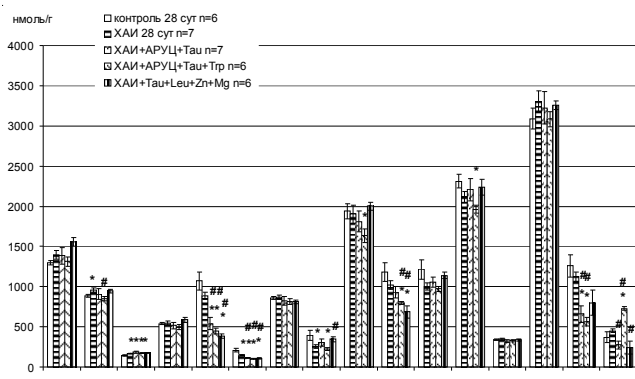


Рис. 1. Уровни аминокислот в гипоталамусе крыс при ХАИ и введении на этом фоне композиций, содержащих АРУЦ, таурин и триптофан, ионы цинка и магния

менялись таким же образом, как и после первых двух композиций, появлялось снижение уровней Gln и Arg. По сравнению с ХАИ: повышались концентрации Thr, betaAla, снижались – His, Gln, Arg и Trp. Таким образом, прослеживается ряд общих эффектов всех исследуемых композиций, среди которых – предотвращение повышения уровня основного возбуждающего медиатора – глутамата.

Влияние исследуемых композиций на фонд свободных аминокислот и родственных соединений в гипоталамусе можно проследить при дискриминантном анализе, позволяющем перейти к рассмотрению малого набора переменных (корней дискриминантных функций). По значению показателя лямбды Уилкса (0,00023) можно судить о хорошей дискриминации, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100% корректности обучающих выборок для всех групп. Наиболее значимыми соединениями по значению критерия Фишера (вносящими наибольший вклад в общую дисперсию), были уровни глутамина, триптофана, тирозина, аспарагина, гистидина ( $F = 18,60; 13,33; 29,54; 4,36$  и  $4,13$  соответственно). График проекции отдельных реализаций на плоскость двух главных компонент (корней) показывает, что влияние препаратов, в частности, композиции 2 (АРУЦ+Тау+Трп), в отношении аминокислотного фонда более выражено, чем влияние ХАИ. Однако рассмотрение структуры корней показывает, что оба корня наиболее чувствительны (что опреде-

ляется значением коэффициентов в табл. 1) к уровням Trp и Asn. Поэтому наибольшее удаление от контрольной группы и ХАИ относительно обоих компонент (Root 1 и 2) наблюдается для композиции 2. Интересно в этом отношении влияние композиции 3. Ее влияние оказывается наиболее близко к композиции 1, но существенно отличается от такового для композиции 2. Это может говорить о том, что для этих трех композиций наличие таурина является общим моментом, определяющим направленность их влияния на фонд аминокислот при ХАИ (по второй компоненте – Root 2).

Таблица 1. Стандартизированные коэффициенты для канонических переменных, гипоталамус

	Root 1	Root 2	Root 3	Root 4
Gln	-0,68550	0,30203	0,09889	0,21809
Trp	<b>2,82495</b>	<b>1,13209</b>	0,14422	-0,16802
Tyr	-1,41943	-0,50134	1,12184	0,13008
Asn	<b>1,59310</b>	<b>-1,46403</b>	-1,06877	0,50614
His	-0,93557	0,57996	-1,20734	-0,52400
Glu	-0,18755	-0,37562	2,17967	-0,08291
Arg	-0,39913	0,05164	-0,13616	1,37116
PEA	1,12183	0,31863	0,31240	-0,79587
Tau	-1,17048	0,07023	-1,50779	0,01527
Thr	0,54565	-0,56348	1,20735	0,39089
betaAla	0,03930	-0,35357	-1,04258	-1,35531
Gly	-0,31567	-0,39184	-1,67550	0,69856
Ala	-0,49648	0,66987	1,03437	-0,87558
GABA	-1,36027	0,93889	1,23373	0,95918
Eigenval	53,30724	6,97735	2,92919	1,58123
Cum.Prop	0,82271	0,93039	0,97560	1,00000

В больших полушариях при ХАИ снижался уровень His. При введении на фоне ХАИ композиции 1 снижение уровня His сохранялось, появлялось снижение уровня Gln, повышение – betaAla. По сравнению с ХАИ: снижался уровень Trp. После введения композиции 2 наблюдались те же эффекты, а также повышение уровня Trp. По сравнению с ХАИ: снижался уровень Gln, повышались – Asp и Trp. После введения композиции 3 на фоне ХАИ также оставался сниженным уровень His, появлялось снижение уровня Gln. По сравнению с ХАИ снижался уровень Gln (рисунок 3).

Влияние исследуемых препаратов на фонд свободных аминокислот и родственных соединений в коре можно проследить при дискриминантном анализе. По значению показателя лямбды Уилкса (0,00025,  $p < 0,00001$ ) можно судить о хорошей дискриминации, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100% корректности обучающих выборок для всех групп. Наиболее значимыми соединениями по значению критерия Фишера (вносящими наибольший вклад в общую дисперсию), были уровни глутамина, триптофана, ГАМК и аргинина ( $F = 7,59; 7,53; 3,18$  и  $4,22$  соответственно;  $p < 0,05$ ). График проекции отдельных реализаций на плоскость двух главных компонент (корней), представленный на рис 4, показывает, что влияние всех трех композиций в отношении аминокислотного фонда существенно отличается от влияния ХАИ и выглядит по направленности сходным. Рассмотрение структуры корней показывает (таблица 2), что первый корень определяется (по коэффициентам в табл. 4) уровнями PEA, Tau и Ala, второй (относительно менее значимый, но именно по нему прослеживается различие между эффектами ХАИ и исследованных композиций) – уровнями Glu, PEA и Tau. Это может говорить о том, что для этих трех композиций наличие таурина является определяющим направленность их

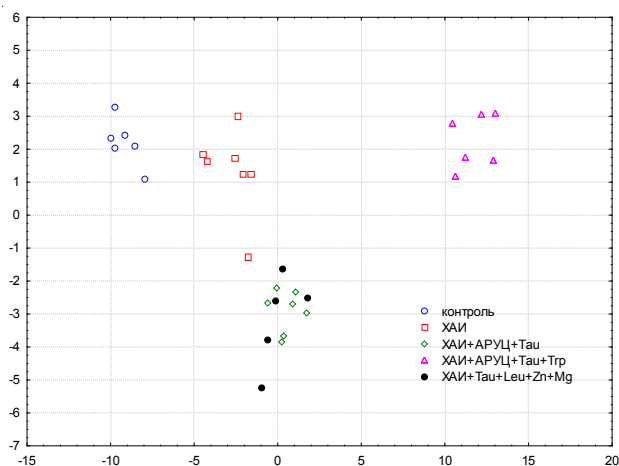


Рис. 2. Расположение реализаций на плоскости двух главных компонент, гипоталамус

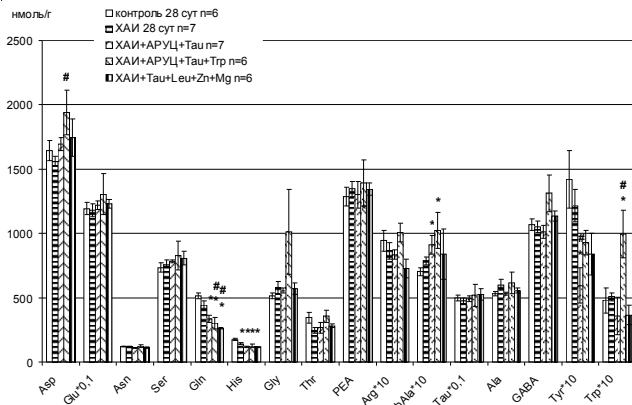


Рис. 3. Уровни аминокислот в больших полушариях крыс при ХАИ и введении на этом фоне композиций, содержащих АРУЦ, таурин и триптофан, ионы цинка и магния

влияния на фонд аминокислот при ХАИ.

**В мозжке** при ХАИ наблюдалось снижение уровня Asn и GABA. Введение на фоне ХАИ композиции 1 предотвращало снижение уровня GABA, но оставался сниженным уровень Asn, появлялось снижение уровня Gln. По сравнению с ХАИ наблюдалось повышение уровня  $\beta$ Ala, снижение – Trp. Композиция 2 также предотвращала снижение уровня Asn и GABA, появлялось повышение уровня PEA. По сравнению с ХАИ: повышались уровни  $\beta$ Ala, Gln, PEA, Tau, GABA, но не повышался уровень Trp. Композиция 3 предотвращала снижение уровня GABA, но не Asn, появлялось повышение уровней Asp,  $\beta$ Ala, GABA. По сравнению с ХАИ: повышались уровни Asp, GABA,  $\beta$ Ala (рис. 5).

Значение лямбды Уилкса (0,00016,  $p < 0,00001$ ) при дискриминантном анализе свидетельствует о хорошей дискриминации, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100% корректности обучающих выборок для всех групп. Наиболее значимыми соединениями по значению критерия Фишера (вносящими наибольший вклад в общую дисперсию), были уровни  $\beta$ -аланина, аспарагина, глутамата, глутамина, треонина, тирозина, ГАМК и аргинина ( $F = 6,21; 16,40; 13,36; 2,97; 4,21; 3,10; 4,10$  и  $6,08$  соответственно; для всех этих переменных  $p < 0,05$ ). График проекции отдельных реализаций на плоскость двух главных компонент (корней) показывает, что влияние препаратов, в частности, композиции 3, в отношении аминокислотного фонда более выражено, чем влияние ХАИ, а корригирующее влияние композиции 2 отличает-

Таблица 2. Стандартизированные коэффициенты для канонических переменных, большие полушария

	Root 1	Root 2	Root 3	Root 4
Gln	0,80959	-1,25999	0,78775	0,41611
Trp	3,64624	-0,56449	0,51515	0,78249
$\beta$ Ala	3,67740	0,01411	0,10469	0,70508
His	-3,37011	-0,14669	0,12996	0,18814
Ala	<b>7,10642</b>	-1,16696	-0,69373	-0,26256
GABA	-6,19783	1,48261	5,20855	-1,63564
Glu	-4,33465	<b>3,19042</b>	-5,68134	2,14110
PEA	<b>11,89184</b>	<b>-2,49931</b>	2,06315	-0,59533
Asn	-3,29659	-0,69416	0,70336	-0,99547
Tyr	2,54410	-0,08432	-0,51633	-0,62532
Tau	<b>-9,04470</b>	<b>1,88561</b>	-2,91141	-0,45726
Arg	-1,81138	-0,41922	0,41050	0,69834
Gly	-1,35874	1,41886	-0,89179	-0,27220
Eigenval	39,06042	10,37482	4,40338	0,61955
Cum.Prop	0,71726	0,90777	0,98862	1,00000

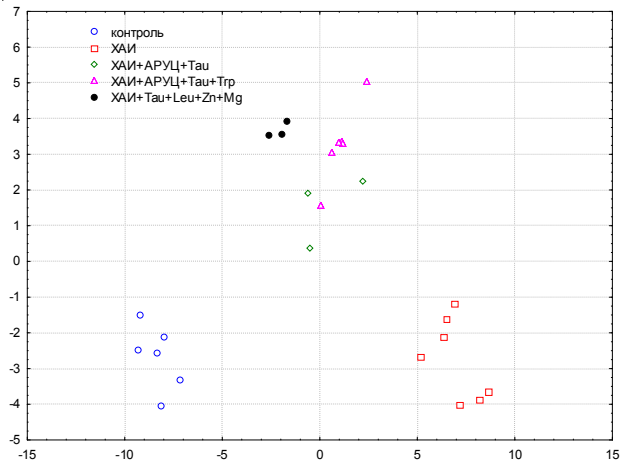


Рис. 4. Расположение реализаций на плоскости двух главных компонент, большие полушария

ся от такового у композиции 1 большей выраженностью (рис. 6).

Рассмотрение структуры корней показывает, что первый корень наиболее чувствителен (что определяется значением коэффициентов в табл. 3) к уровням Glu и Asn, второй – к Tau и Gly. Второй корень выявляет отличие группы с введением композиции 3 от ХАИ и введения других исследуемых композиций, первый – эффекты ХАИ и примененной коррекции. Поэтому наибольшее удаление от контрольной группы и ХАИ относительно обеих компонент (Root 1 и 2) наблюдается для композиции 3.

В этом случае особенно отчетливо видно, что одними из наиболее информативных показателей в исследуемом пуле являются уровни тирозина и триптофана, что особенно интересно, так как только в мозжке введением композиции 2, единственной, в составе которой имеется триптофан, не удалось повысить уровень предшественника в серотониновой системе.

**В среднем мозге** при ХАИ имело место повышение уровней Asp, Glu, снижение – Thr, Arg,  $\beta$ Ala, но, в отличие от других исследованных отделов мозга, повышался уровень GABA.

Введение композиции 1 предотвращало повышение уровней Asp, Glu и GABA, оставались сниженными – Thr, Arg,  $\beta$ Ala, появлялось снижение уровня His, повышение – Gly, Trp. По сравнению с ХАИ имело место достоверное снижение концентраций Asn, His, PEA, Thr (дополнительное к имевшему место при ХАИ), снижались также уровни

Таблица 3. Стандартизированные коэффициенты для канонических переменных, мозжечок

	Root 1	Root 2	Root 3	Root 4
$\beta$ Ala	-2,26185	2,60060	0,70889	0,92960
Asn	<b>7,45098</b>	1,19866	-0,60935	0,45349
Glu	<b>-7,61048</b>	1,67146	2,04904	-2,99302
Gln	1,22174	-0,62807	-2,01915	0,49085
Thr	-1,24470	0,52819	1,17986	0,48666
Tau	1,62688	<b>-4,53000</b>	-1,79405	1,57631
Trp	0,25440	-2,21936	-0,59927	0,41068
Tyr	-0,85321	1,58730	0,50298	-0,99110
Gly	-0,92843	<b>-3,51901</b>	0,67070	1,15049
GABA	2,37011	3,28851	0,64537	-0,70350
PEA	-3,45200	-0,81416	-1,30306	-0,02081
Arg	2,00371	0,49212	1,47567	0,28181
Ala	1,28426	0,82852	-0,90030	-0,85315
Eigenval	70,54502	6,39953	4,54560	1,09404
Cum.Prop	0,85422	0,93171	0,98675	1,00000

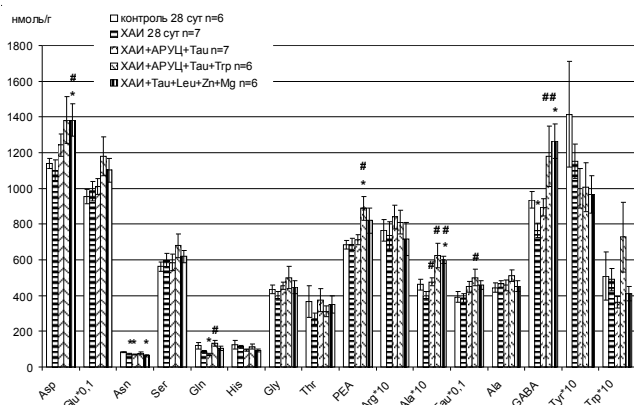


Рис. 5. Уровни аминокислот в мозжечке крыс при ХАИ и введении на этом фоне композиций, содержащих АРУЦ, таурин и триптофан, ионы цинка и магния Туг и Трп.

Введение композиции 2 предотвращало повышение уровней Asp, Glu, но сохранялось повышение уровня GABA и снижение уровней Thr, Arg, βAla, появлялось снижение уровней Asp, Asn, His, повышение – Туг и Трп. По сравнению с ХАИ: снижались уровни Asn, His, PEA, Thr и Arg (уровни последних двух соединений при ХАИ уже были достоверно ниже контрольных), а также GABA, снижался уровень Туг и повышался – Трп.

Введение композиции 3, как и композиции 1, предотвращало повышение уровней Asp, Glu и GABA, сохранялось снижение – Thr, Arg, βAla, а также появлялось снижение уровней Asp, Asn, Ser, Gln, His, PEA, Ala и повышение – Gly, Tyr. По сравнению с ХАИ: имело место снижение уровней Asp, Glu, Asn, Ser, His, PEA, Thr и Arg (уровни последних двух соединений при ХАИ уже были достоверно ниже контрольных), Ala, а также снижались уровни Туг и Трп (рисунок 7).

Значение лямбды Уилкса (0,00005,  $p < 0,00001$ ) при дискриминантном анализе свидетельствует о хорошей дискриминации, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100% корректности обучающих выборок для всех групп. Наиболее значимыми соединениями по значению критерия Фишера (вносящими наибольший вклад в общую дисперсию), были уровни треонина, β-аланина, триптофана, тирозина, аспартата, гистидина и глицина ( $F = 43,63; 18,86; 15,37; 18,26; 8,47; 5,28$  и  $5,07$  соответственно; для всех этих переменных  $p < 0,05$ ). График проекции отдельных реализаций на плоскость двух главных компонент (корней) показывает, что влияние препаратов, в отношении ами-

Таблица 3. Стандартизированные коэффициенты для канонических переменных, мозжечок

	Root 1	Root 2	Root 3	Root 4
βAla	-2,26185	2,60060	0,70889	0,92960
Asn	<b>-7,45098</b>	1,19866	-0,60935	0,45349
Glu	<b>-7,61048</b>	1,67146	2,04904	-2,99302
Gln	1,22174	-0,62807	-2,01915	0,49085
Thr	-1,24470	0,52819	1,17986	0,48666
Tau	1,62688	<b>-4,53000</b>	-1,79405	1,57631
Trp	0,25440	-2,21936	-0,59927	0,41068
Tyr	-0,85321	1,58730	0,50298	-0,99110
Gly	-0,92843	<b>-3,51901</b>	0,67070	1,15049
GABA	2,37011	3,28851	0,64537	-0,70350
PEA	-3,45200	-0,81416	-1,30306	-0,02081
Arg	2,00371	0,49212	1,47567	0,28181
Ala	1,28426	0,82852	-0,90030	-0,85315
Eigenval	70,54502	6,39953	4,54560	1,09404
Cum.Prop	0,85422	0,93171	0,98675	1,00000

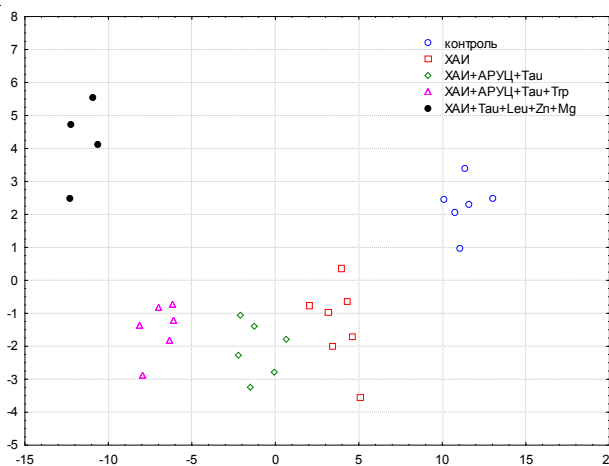


Рис. 6. Расположение реализаций на плоскости двух главных компонент, мозжечок

нокислотного фонда, носит нормализующий характер по отношению к ХАИ, а корригирующее влияние композиции 2 отличается от такового у композиции 1 большей выраженностью (рисунок 8). Рассмотрение структуры корней показывает, что первый корень наиболее чувствителен (что определяется значением коэффициентов в табл. 4) к уровням Туг и Asp, второй – к уровням Туг и Трп. Второй корень выявляет отличие группы с введением композиции 1 от композиции 2 (очевидна различная направленность их влияния на уровень предшественника в серотониновой системе), первый – эффекты ХАИ и примененной коррекции. Поэтому наибольшее удаление от контрольной группы и ХАИ относительно обеих компонент (Root 1 и 2) наблюдается для композиций 3 и 2.

В этом случае, как и для мозжечка, отчетливо видно, что одними из наиболее информативных показателей в исследуемом пуле являются уровни тирозина и триптофана (таблица 4).

**В стриатуме** при ХАИ имело место снижение уровня GABA. Введение композиции 1 его предотвращало, но появлялось резкое повышение уровней Asp, Glu, Asn, Ser, His, Thr, PEA, Arg, Ala, Tyr. По сравнению с ХАИ повышались уровни Asp, Glu, Asn, Ser, His, Thr, PEA, Arg, снижались – Туг, Трп, т.е. устранялось резкое обеднение аминокислотного пула, имевшее место при ХАИ. Введение композиции 2 не устраняло снижения уровня GABA, но появлялось резкое повышение уровней Asp, Glu, Asn, Ser, Gln, His, Thr, PEA, βAla, Ala, Tyr. По сравнению с ХАИ: повышались уровни Asp, Glu, Asn, Ser, His, Thr, PEA, βAla, Ala и Трп, снижался – Туг. Композиция 3 предотвращала снижение уровня

Таблица 4. Стандартизированные коэффициенты для канонических переменных, средний мозг

	Root 1	Root 2	Root 3	Root 4
Thr	-0,15658	0,13606	-0,22476	0,47068
bAla	0,96445	-0,64736	-1,12955	-0,23939
Trp	1,15416	<b>2,79138</b>	-0,66383	-0,06881
Tyr	<b>-2,15544</b>	<b>-2,01100</b>	1,26484	-1,15586
Asp	<b>-1,80786</b>	1,69400	0,72788	1,33923
His	-0,83737	0,12304	0,10621	-0,88401
Gly	1,10887	-0,34748	0,10746	1,03531
Gln	-0,42229	-0,78167	0,51224	0,16915
Arg	-0,55020	0,92098	-0,61998	0,58386
Tau	0,02119	-0,91041	0,51674	-0,94945
Asn	<b>1,47829</b>	-1,13619	-0,63625	-1,19172
PEA	-0,56655	0,45319	0,07710	-0,07209
Eigenval	30,72850	19,62019	8,42239	2,30787
Cum.Prop	0,50309	0,82432	0,96222	1,00000

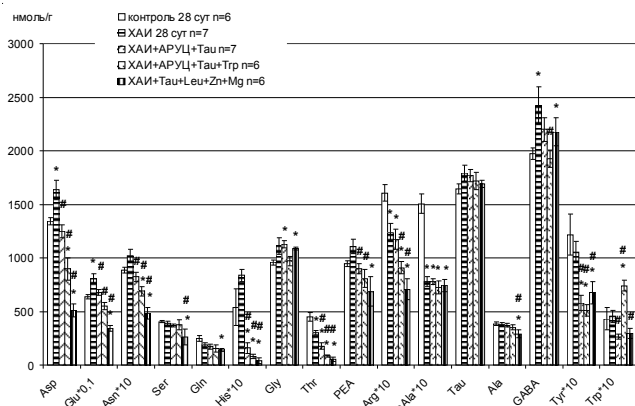


Рис. 7. Уровни аминокислот в среднем мозге крыс при ХАИ и введении на этом фоне композиций, содержащих АРУЦ, таурин и триптофан, ионы цинка и магния

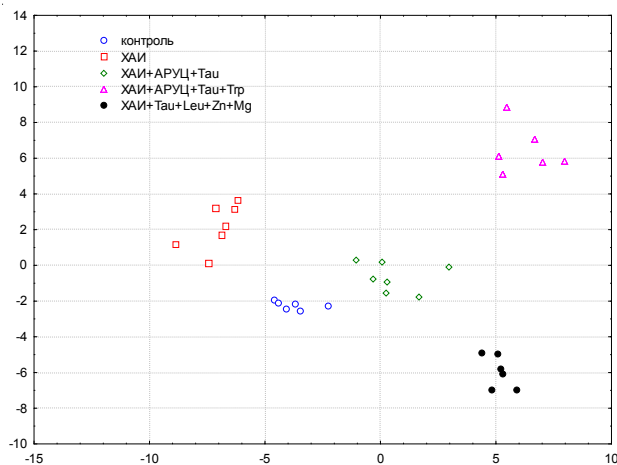


Рис. 8. Расположение реализаций на плоскости двух главных компонент, средний мозг

GABA, а также вызвала существенное повышение уровней Asp, Glu, Asn, Ser, His, Thr, PEA, Arg, Ala, Tyr, но **снижение** уровня Gly. По сравнению с ХАИ композиция 3 вызвала повышение уровней Asp, Glu, Asn, Ser, His, Thr, PEA и Ala (рис. 9).

При дискриминантном анализе значение лямбды Уилкса (0,00054,  $p < 0,00001$ ) свидетельствует о хорошей дискриминации, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 83,33% корректной классификации в контроле, 85,71% – в группе ХАИ и 100% корректности обучающих выборок для групп с введением аминокислотных композиций. Наиболее значимыми соединениями по значению критерия Фишера (вносящими наибольший вклад в общую дисперсию) при пошаговом анализе, были уровни аспартата, триптофана, тирозина, аргинина, аланина, глицина и гистидина ( $F = 21,42; 5,64; 9,23; 9,86; 3,83; 4,27$  и  $3,89$  соответственно; для всех этих переменных  $p < 0,05$ ). График проекции отдельных реализаций на плоскость двух главных компонент (корней) показывает, что влияние ХАИ в отношении аминокислотного фонда в этом отделе мозга оказалось наименьшим, а действие исследуемых композиций выражено отчетливо, причем действие композиции 2 отличается по направленности от действия композиций 1 и 3 (рисунок 10).

Рассмотрение структуры корней показывает, что первый корень наиболее чувствителен (что определяется значением коэффициентов в табл. 5)

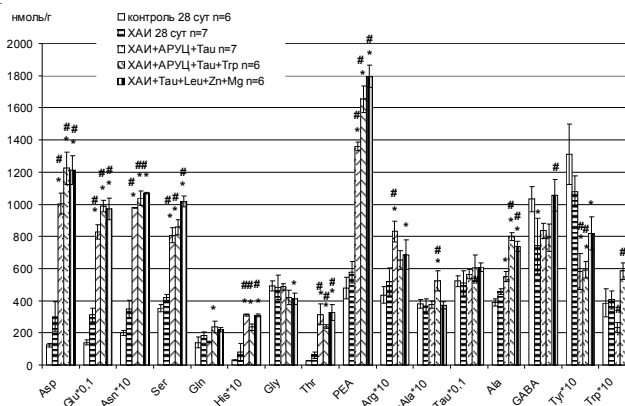


Рис. 9. Уровни аминокислот в стриатуме крыс при ХАИ и введении на этом фоне композиций, содержащих АРУЦ, таурин и триптофан, ионы цинка и магния

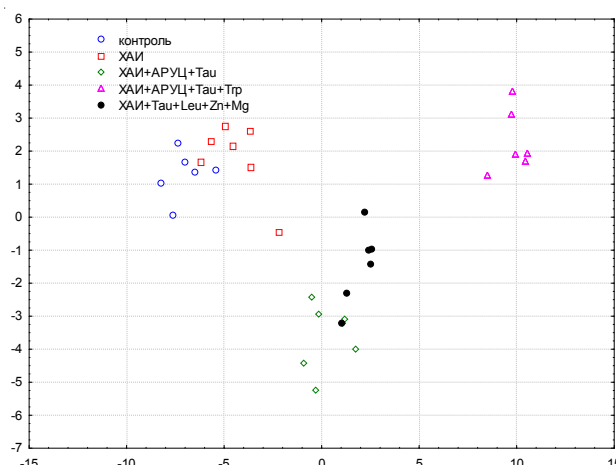


Рис. 10. Расположение реализаций на плоскости двух главных компонент, стриатум

к уровням Tyr, Trp и Asp, второй – к уровням Ala и His. Второй корень выявляет отличие группы с введением композиции 3 от композиций 1 и 2, первый – отличие групп с введением композиций 1 и 3 от остальных.

В этом случае также отчетливо видно, что одними из наиболее информативных показателей в исследуемом пуле являются уровни тирозина и триптофана, а также Asp (табл. 5).

Поскольку в стриатуме введение композиции 3 вызвало наиболее выраженный аминокислотный дисбаланс, мы определили также факторные нагрузки, если описывать совокупность определяемых показателей в эксперименте действием двух факторов.

Таблица 5. Стандартизированные коэффициенты для канонических переменных, стриатум

	Root 1	Root 2	Root 3	Root 4
Asp	3,47254	0,66940	-3,24392	-3,12426
Trp	2,92696	0,18539	-1,06125	-1,10483
Tyr	-2,47170	0,00741	1,15101	0,77309
Arg	-2,46116	0,24261	-0,30337	0,69569
Ala	-0,33966	1,32002	2,24395	1,28905
Gly	1,09595	-1,06684	-0,62509	0,03265
His	0,00181	-1,51591	-0,39077	-0,66768
GABA	-0,37860	-0,47614	1,17007	-0,51025
PEA	1,62248	-0,62010	0,94821	-0,44674
Tau	0,03706	0,58704	-2,33709	-1,06765
Thr	0,40310	-0,90699	0,59982	-0,20452
Glu	-2,36749	-0,27903	1,96491	3,82670
Eigenval	38,40264	6,23613	3,82410	0,35475
Cum.Prop	0,78666	0,91440	0,99273	1,00000

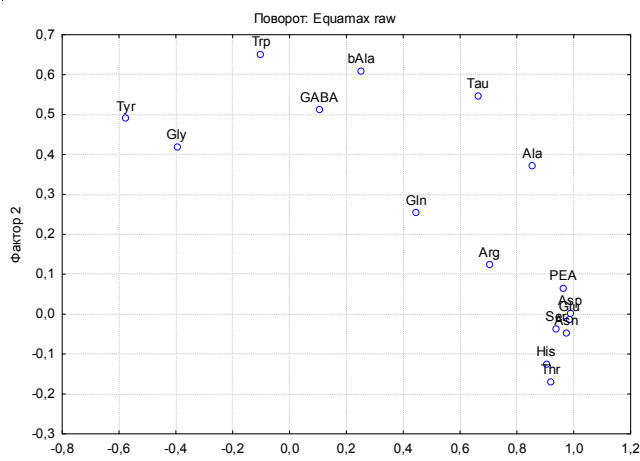


Рис. 11. Повернутые факторные нагрузки для пула нейроактивных аминокислот в стриатуме

Выявлено, что наибольшие нагрузки на фактор 1 (выше 0,7) имеют уровни Asp, Glu, Asn, Ser, His, Thr, PEA, Arg, Ala. На фактор 2 приходится 12,77% полной дисперсии (рис. 11).

Очевидно, что наибольший вклад (кумулятивная пропорция 54,9% полной дисперсии) вносят те показатели, изменения которых вызываются введением композиции 3, в меньшей степени – композиции 2.

### Заключение

1. Относительная недостаточность серотониновой системы, обусловленная доступностью предшественника, при ХАИ более выражена, если в составе аминокислотных композиций таурина и АРУЦ не содержится триптофан.

2. Композиция таурина, лейцина и солей Zn и Mg обладает более выраженным влиянием на спектр исследованных соединений, так как представленные эффекты получены при дозе в 4 раза меньшей, чем для композиций АРУЦ, таурина и триптофана, не содержащих ионов цинка и магния.

3. Большинство индуцированных ХАИ изменений уровней аминокислот, в том числе –трансмисмиттерных, предотвращаются введением композиций АРУЦ, таурина и триптофана в течение 10 сут., однако исследованные композиции вызвали выраженное снижение уровня гистидина в стриатуме и стволе мозга.

4. Общее обеднение АК фонда в стриатуме через 28 сут. эксперимента предотвращается введением исследованных композиций.

5. Учитывая отсутствие повышения уровня таурина во всех исследованных отделах мозга после введения любой из композиций, все обнаруженные эффекты следует считать опосредованными их влиянием на транспорт АК, влиянием их на активность реакций промежуточного обмена или перераспределением внутри- и внеклеточных пулов АК и соответствующих  $\alpha$ -кетокислот.

### Литература

1. Amino Acids (Chemistry, Biology, Medicine) / Ed. Lubec C., Rosental J.A. – N.Y.: Escom, 1990. – 1196 p.
2. Blackburn G.L., Grant J.P., Yoring V.R. Amino Acid Metabolism and medical applications. – London: J. Wright Inc., 1983. – 520 p.
3. Кричевская А.А., Лукаш А.И., Шугалей В.С. Аминокислоты и их производные в регуляции метаболизма.— Ростов, 1983. – 110с.
4. Курбат Н.М., Нефёдов Л.И., Куваева З.И. Аминокислота лейцин и её производные: фармакологические свойства и применение (обзор) Весті АН Беларусі, сер. хим. наук, 1997, N2 с.55-62.

5. Wakelin J.S. The role of serotonin in depression and suicide: do serotonin reuptake inhibitors provide a key? Adv. Biol. Psychiatry 1998, p. 70-83.
6. Нефёдов Л.И., Маслакова Н.Д., Цыркунов В.М. и др. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени (обзор)— Весті АН Беларусі, сер. хим. наук, 1997, N2, с. 39-46.
7. Metabolism and Clinical Implications of Branched Chain Amino and Keto Acids / Ed. Walser M., Williamson J.R. – N.Y.: Elsevier, 1981. – 465 p.
8. Дорошенко Е.М., Разводовский Ю.Е., Смирнов В.Ю., Островский С.Ю. Эффекты триптофана на показатели, характеризующие аминокислотный пул, а также на основные нейротрансмисмиттерные системы, при энтеральном введении // Материалы международной конференции, посвященной 40-летию ГТМИ, Часть 1, Гродно, 1998, — с.23
9. Нефёдов Л.И. Биологическая роль таурина (обзор) // Весті АН Беларусі.- 1992. – №3-4. – С. 99 – 106.
10. Нефёдов Л.И. Метаболизм таурина у млекопитающих (обзор) // Весті АН БССР. – 1990. – №5. – С. 99 – 106.
11. Нефёдов Л.И. Таурин (биохимия, фармакология и медицинское применение). Минск, 1999. – 145 с.
12. Taurine: Biological Actions and Clinical Perspectives / Ed. Oia S.S., Antee L., Kontro P., et al. – N.Y.: Alan R. Liss, 1985. – 512 p.
13. Krebs H. The effects of alcohol on metabolic processes // Addict. and Brain Damage., London-Baltimore, 1980, 11-16.
14. Darashenka Ya., Zolotukhin M., Razvodovsky Yu., Smirnov V. Tryptophan hydroxylase pathway in the brain of rats under alcohol withdrawal: effects of ethanolamine and tryptophan / 41st Meeting of the Polish Biochemical Society, Bialystok 12-15 September 2006, Abstr. No. O9.19 // Acta Biochimica Polonia.–2006.–V.53, Suppl. 1 P13.15 P. 176
15. Разводовский Ю.Е., Дорошенко Е.М. Влияние L-триптофана на фонд центральных нейроактивных соединений при синдроме отмены этанола // Нейрохимия, 2004.– Т.21, № 1.– С. 44-51.
16. В.Ю. Смирнов, Ю.Е. Разводовский, Е.М. Дорошенко, С.Ю. Островский. Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма // Украинский биохимический журнал, 2003. — т.75, №4. — С.101-107 (77-83)
17. Разводовский Ю.Е., Дорошенко Е.М., Прокопчик Н.И., Смирнов В.Ю., Островский С.Ю. Гепатопротекторные эффекты аминокислот с разветвленной углеводородной цепью и таурина при экспериментальной субхронической алкогольной интоксикации и отмене этанола // Биомед. химия, 2004. — Т.50, №1. — С.64-72.
18. Swinkels J.W.G.M., Kornegay E.T., Zhou W. Effectiveness of zinc amino acid chelate and zinc sulfate in restoring serum and soft tissue zinc concentrations when fed to zinc-depleted pigs // J.Anim. Sci. – 1996. – V.74. – P.2420-2430
19. Grungreiff K. Zinc in liver disease // J.Trace Elements in Experimental Medicine – 2002. – V.15. – P.67-78
20. Шейбак В.М., Шейбак Л.Н. Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинк-содержащих препаратов – Гродно, 2003. – 82 с.
21. Janaky R., Varga V., Hermann A. Mechanisms of L-cysteine neurotoxicity //Neurochem. Res. 2000. – V.25, N9-10. – P.1397-1405.
22. Шейбак М.П. Магний в клинической практике // Журнал ГТМУ.– 2003. – № 4. – С. 25–27.

### Resume

#### EFFECTS OF AMINO ACID COMPOSITIONS ON THE POOL OF NEUROACTIVE AMINO ACIDS IN RAT BRAIN IN CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

Ya.M. Darashenka, Yu.Ye. Razvodovsky, V.Yu. Smirnov, V.M. Sheibak  
Grodno State Medical University

Effects of three amino acid compositions containing taurine on the levels of transmitter amino acids in rat brain structures were studied under conditions of chronic alcohol intoxication. All compositions were able to eliminate the shifts in the levels of free amino acids in brain structures induced by ethanol. The composition supplemented with zinc and magnesium was found to possess more pronounced changes in the pool of amino acids. All compositions tested were found to decrease the levels of histidine. No increase in taurine levels was found after the administration of all compositions tested.

Поступила 31.01.07