

УДК: 547.262.099:612.398.192:612.17

## ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ ТРИПТОФАНА, АРУЦ И ТАУРИНА, НА ФОНД СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЛАЗМЫ КРОВИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

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

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

*Исследовано влияние композиции АРУЦ, таурина и триптофана на пул свободных аминокислот плазмы крови крыс при хронической алкогольной интоксикации (ХАИ). Установлено, что ХАИ вызывает снижение в плазме крови крыс уровней глицина, тирозина, лизина,  $\alpha$ -аминомасляной кислоты и повышение уровня этаноламина. Введение на фоне ХАИ аминокислотной композиции вызывает выраженный аминокислотный дисбаланс в плазме крови, проявляющийся в снижении уровней большинства определяемых свободных аминокислот. В то же время наблюдаемое повышение соотношения АРУЦ/ААК и снижение содержания  $\alpha$ -аминомасляной кислоты может свидетельствовать о гепатопротекторном действии композиции.*

**Ключевые слова:** аминокислоты, хроническая алкогольная интоксикация, плазма крови, таурин, триптофан, АРУЦ.

*Effects of compositions containing branched-chain amino acids (BCAA), taurine and tryptophan on the pool of free amino acids in rat blood plasma were studied under conditions of chronic alcohol intoxication. It was established that chronic ethanol intoxication led to decreased levels of glycine, tyrosine, lysine and  $\alpha$ -aminobutyric acid as well as to increased levels of ethanolamine in the blood plasma of rats. Administration of the composition of tryptophan, BCAA and taurine was found to produce profound amino acid imbalance in blood plasma, leading to reduced levels of the majority of compounds tested, however elevated BCAA/AAA ratio and decreased level of  $\alpha$ -aminobutyric acid may indicate potential hepatoprotective effect of the composition.*

**Key words:** amino acids, ethanol withdrawal, blood plasma, taurine, tryptophan, BCAA.

Хроническая алкогольная интоксикация сопровождается дефицитом незаменимых нутриентов, который является важным патогенетическим механизмом поражения внутренних органов при алкоголизме. В то же время, лечение алкоголизма, учитывающее характер сопутствующего метаболического дисбаланса, разработано недостаточно. Одним из перспективных направлений в области разработки способов метаболической коррекции последствий хронической алкогольной интоксикации является поиск их среди естественных метаболитов, обладающих минимальными побочными эффектами и высоким терапевтическим индексом. Перспективными в этом смысле являются аминокислоты и их производные [1].

Триптофан является незаменимой аминокислотой в организме человека и животных. Он является биосинтетическим предшественником некоторых алкалоидов, никотиновой кислоты, серотонина и других биологически активных веществ. Недостаток триптофана в рационе является причиной нарушения синтеза белков, снижения содержания серотонина в мозге и других тканях. После всасывания из кишечника в кровь большая часть триптофана используется для биосинтеза белков [2]. Метаболизм самого триптофана осуществляется по серотониновому, индольному и кинурениновому путям. Триптофан обладает снотворным действи-

ем, снижает острую токсичность этанола [3, 4], эффективен при депрессивном синдроме [5], менструальной депрессии [6, 7]. Кроме того, установлено, что триптофан облегчает течение синдрома отмены этанола и опиоидов. В механизме такого действия аминокислоты играет роль нормализация нарушений серотонинергической и, в меньшей степени, дофаминергической медиаторных систем мозга, а также усиление синтеза никотинамидных коферментов.

Эти свойства триптофана делают перспективным как использование его в качестве самостоятельного антиалкогольного препарата, так и включение в состав аминокислотных композиций. Наиболее перспективной является комбинация триптофана с таурином и аминокислотами с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ: изолейцин, лейцин и валин). Ранее нами была показана способность композиции АРУЦ и таурина нормализовать аминокислотный дисбаланс в печени и плазме крови, развивающийся на фоне синдрома отмены этанола [8, 9].

Целью настоящей работы было исследование влияния введения композиции, состоящей из АРУЦ, таурина и триптофана, на пул свободных аминокислот и их производных в плазме крови крыс при хронической алкогольной интоксикации.

### Материалы и методы

В эксперименте использовано 20 белых беспородных крыс-самцов массой 180-200 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Раствор этанола (25%) вводили внутривентрикулярно равными объемами в дозе 14 мл/кг два раза в сутки на протяжении 28 суток. Композицию, состоящую из лейцина, валина, изолейцина, таурина и триптофана в соотношении 4 : 1 : 1 : 2 : 1,6, вводили в виде водного раствора внутривентрикулярно (20 мл/кг) через 30 мин после каждого введения этанола на протяжении последних 10 дней алкоголизации. Суточная доза препарата составляла 600 мг/кг, а этанола – 7 мл/кг массы животных. Контрольные животные получали внутривентрикулярно воду в эквивалентных количествах. После забоя животных кровь забирала в гепаринизированные пробирки и получали плазму центрифугированием на холоду при 20000 g в течение 15 мин. Содержание свободных аминокислот и их производных определяли в хлорнокислых экстрактах плазмы крови методом ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе Т-339М (Чехия). Регистрация и обработка хроматограм осуществлялась с помощью программно-аппаратного комплекса «МультиХром-1» (Россия). Статистическая обработка данных (описательная статистика и межгрупповые сравнения по *t*-критерию Стьюдента) выполнена при помощи программы Statistica 7.0. В работе использовались реактивы квалификации не ниже хч.

### Результаты и их обсуждение

Хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) вызывает к 28 суткам снижение в плазме крови крыс уровней глицина, тирозина, лизина и α-аминомасляной кислоты (α-АВА) (таблица). Одновременно происходит повышение уровня этаноламина. Таким образом, не наблюдается изменений аминокислотного фонда, характерных для поражения печени (таких, как повышение содержания ароматических аминокислот, снижение уровней АРУЦ [10]). Вероятно, это объясняется тем, что влияние этанола на уровни АРУЦ имеет двойственный характер: с одной стороны, поражение печени этанолом вызывает снижение АРУЦ, а с другой – длительное введение этанола способно снизить катаболизм АРУЦ, что приводит к росту их концентрации как в тканях, так и в плазме крови [11]. Не выявляется также изменений в уровнях метионина и аланина, хотя известно, что экзогенный этанол влияет на метаболизм этих соединений [12]. Очевидно, что при длительном поступлении этанола в организм происходят адаптационные процессы в организме, которые способствуют нормализации нарушений.

Курсовое введение смеси аминокислот на фоне ХАИ приводит к обеднению аминокислотного пула плазмы крови (см. таблицу): происходит снижение уровней аспартата, треонина, серина, глутамата, глутамина, цитруллина, пролина, метионина, фенилаланина, орнитина, гистидина, α-аминомасляной

**Таблица.** Содержание свободных аминокислот и их производных в плазме крови крыс после внутривентрикулярного введения композиции АРУЦ, таурина и триптофана на фоне хронической интоксикации этанолом, мкмоль/л

	Контроль	ХАИ	триптофан + АРУЦ + таурин
таурин	144 ± 15,0	138 ± 20,1	269 ± 10,2*†
мочевина	639,9 ± 45,9	632,0 ± 84,7	719,1 ± 57,9
аспаратат	26,9 ± 1,96	27,0 ± 2,61	20,6 ± 0,6*†
треонин	172,1 ± 26,0	112,4 ± 17,5	100,4 ± 16,3*
серин	450 ± 19,1	420 ± 27,7	336 ± 13,6*†
глутамат	103 ± 4,51	111 ± 9,76	88,0 ± 3,42*
глутамин	3933 ± 227	3842 ± 268	3199 ± 139*
пролин	301 ± 24,7	302 ± 26,2	77,8 ± 3,81*†
глицин	534 ± 28,9	462 ± 15,8*	435 ± 14,3*
аланин	536 ± 49,5	477 ± 19,7	430 ± 23,9
цитруллин	84,6 ± 10,2	61,7 ± 9,06	45,1 ± 3,20*
α-аминобутират	48,2 ± 5,4	27,2 ± 2,19*	18,1 ± 2,3*†
валин	189 ± 12,3	162 ± 6,5	166 ± 13,5
цистин	23,7 ± 2,79	27,4 ± 2,77	23,3 ± 3,29
метионин	32,2 ± 1,32	32,0 ± 2,71	18,7 ± 1,59*†
изолейцин	75,8 ± 2,47	70,1 ± 4,12	65,5 ± 4,39
лейцин	104 ± 6,21	113 ± 4,92	285 ± 19,1*†
тирозин	58,8 ± 3,48	50,1 ± 1,80*	35,3 ± 2,66*†
фенилаланин	42,3 ± 2,04	45,1 ± 1,91	25,9 ± 2,44*†
этанолламин	37,1 ± 2,72	49,2 ± 2,99*	109 ± 4,29*†
аммиак	469 ± 24,6	481 ± 13,5	390 ± 13,9*†
орнитин	59,9 ± 3,17	56,5 ± 4,46	40,3 ± 4,19*†
лизин	270 ± 33,1	171 ± 20,0*	132 ± 29,4*
гистидин	111 ± 3,75	94,8 ± 7,66	69,3 ± 5,81*†
Сумм. АК	7024 ± 233	6575 ± 311	5549 ± 127*†
АРУЦ/ААК	3,70 ± 0,24	3,63 ± 0,095	8,73 ± 0,94*†
З/Н	6,12 ± 0,554	7,17 ± 0,39	5,44 ± 0,32†

Условные обозначения:

p < 0,05 при сравнении с группами: \* – контроль; † – ХАИ.

Сумм. АК – суммарная концентрация протеиногенных аминокислот.

З/Н – соотношение суммарных концентраций заменимых и незаменимых аминокислот.

кислоты и тирозина. При этом поступление в организм вводимых аминокислот существенно повышает их относительное количество в плазме и, как следствие, улучшает утилизацию других аминокислот, в частности, в реакциях гликолиза, глюконеогенеза и цикла трикарбоновых кислот. В то же время сохраняется снижение концентраций глицина и лизина, имевшееся при ХАИ, а уровни таурина, лейцина и этаноламина достоверно повышаются по сравнению с контрольной группой.

Наблюдаемое повышение уровней таурина и лейцина может быть следствием их поступления в организм животных в составе композиции и сохранением их повышенной концентрации в плазме крови через 12 ч после последнего введения. Также действием экзогенно поступающего таурина может быть объяснено снижение уровня метионина, тесно связанного с метаболизмом таурина — например, вследствие активации процессов деградации серосодержащих аминокислот в периферических тканях. В то же время снижение уровней ароматических аминокислот (ААК – тирозина и фенилаланина) в плазме крови при введении композиции, вероятно, объясняется конкуренцией их с АРУЦ за общую транспортную L-систему, что может приводить к снижению клиренса ароматических аминокислот из печени. Результатом этих изменений является более чем двукратный рост соотношения АРУЦ/ААК. Этот факт, в сумме с достоверным снижением уровня α-аминомасляной кислоты, повышенный уровень которой может рассматриваться как маркер поражения печени [12], может свидетельствовать об гепатопротекторном действии композиции.

Обобщая полученные результаты, можно заключить, что исследуемая композиция обладает высокой метаболической активностью. При ее введении на фоне ХАИ происходят изменения в содержании в плазме крови ряда протеиногенных аминокислот (как заменимых, так и незаменимых) и непротеиногенных аминокислот (таурина,  $\alpha$ -АВА и связанных с функционированием цикла мочевины – цитруллина и орнитина). При этом, несмотря на то, что происходит обеднение суммарного пула свободных аминокислот плазмы крови (см. таблицу), эффекты композиции касаются, в основном, уровней заменимых аминокислот, что следует из снижения соотношения концентраций заменимых аминокислот к незаменимым. Причиной таких изменений в фонде свободных аминокислот плазмы крови может являться повышенная утилизация аминокислот в биосинтетических реакциях. Поскольку, как ранее было показано [9], введение на фоне ХАИ аналогичной композиции без триптофана не вызывало столь выраженных изменений пула свободных аминокислот плазмы крови, наблюдаемые эффекты могут быть обусловлены наличием в составе композиции триптофана.

### Выводы

1. Хроническая алкогольная интоксикация в течение 28 суток вызывает снижение в плазме крови крыс уровней глицина, тирозина, лизина,  $\alpha$ -аминомасляной кислоты и повышение уровня этаноламина.

2. Введение животным с хронической алкогольной интоксикацией композиции АРУЦ, таурина и триптофана вызывает существенные изменения в аминокислотном пуле плазмы крови, проявляющиеся в снижении уровней большинства определяемых свободных аминокислот (за исключением входящих в состав препарата), что может являться следствием активации биосинтетических процессов.

3. Введение на фоне ХАИ исследуемой композиции повышает соотношение АРУЦ/ААК и снижает уровень  $\alpha$ -аминомасляной кислоты, что может свидетельствовать о потенциальном гепатопротекторном действии композиции.

### Литература

1. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени / Л. И. Нефёдов и др. // Весці АН Беларусі. Сер. хім. навук. – 1997. – № 2. – С.39–48.
2. Sidransky M. Comparison of effects of L-tryptophan and a tryptophan analog, D,L-beta-(L-naphthyl)alanine, on processes relating to hepatic protein synthesis in rats / M. Sidransky, E. Verney, R. Kurl // J. Nutr. – 1990. – Vol. 120, N. 10. – P. 1157–1162.
3. Bakalian M.J. Effects of L-tryptophan and other amino acids on electroencephalographic sleep in the rat / M. J. Bakalian, J. D. Fernstrom // Brain Res. – 1990. – Vol. 528, N. 2. – P. 300–307.

4. The effect of L-tryptophan on daytime sleep latency in normals: correlation with blood levels / C. F. George, T. W. Millar, P. J. Hanly, M. H. Kryger // Sleep. – 1989. – Vol. 12, N. 4. – P.345–353.
5. Sandyk R. L-tryptophan in neuropsychiatric disorders: a review / R. Sandyk // Int. J. Neurosci. – 1992. – Vol. 67, N. 1–4. – P. 127–144.
6. Shea M. M. The interaction of dominance status and supplemental tryptophan on aggression in Gallus domesticus males / M. M. Shea, L. W. Douglass, J. A. Mench // Pharmacol. Biochim. Behav. – 1991. – Vol. 38, N. 3. – P. 587–591.
7. Steinberg S. Tryptophan in the treatment of late luteal phase dysphoric disorder: a pilot study / S. Steinberg, L. Annable, S. N. Young, M. C. Belanger // J. Psychiatry Neurosci. – 1994. – Vol. 19, N. 2. – P. 114–119
8. Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма / В. Ю. Смирнов и др. // Украинский биохимический журнал. – 2003. – Т. 75, №4. – С.101–107.
9. Гепатопротекторные эффекты аминокислот с разветвленной углеводородной цепью и таурина при экспериментальной субхронической алкогольной интоксикации и отмене этанола / Ю. Е. Разводовский и др. // Биомед. химия. – 2004. – Т. 50, № 1. – С.64–72.
10. Impaired metabolism of amino acid and protein in patients with liver cirrhosis / M. Kato, et al. // Nippon Rinsho. – 1994. – Vol. 52, N. 1. – P. 145–9.
11. Bernal C. A. Leucine metabolism during chronic ethanol consumption / C. A. Bernal, J. A. Vazquez, S. Adibi // Metabolism. – 1993. – Vol. 42, N. 9. – P.1084–1086.
12. Островский Ю. М., Островский С. Ю. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю. М. Островский, С. Ю. Островский // Минск: Наука и техника, 1995. — 280 с.

### Resume

#### EFFECT OF THE COMPOSITION OF TRYPTOPHAN, BCAA AND TAURINE ON THE AMINO ACID POOL OF RAT BLOOD PLASMA UNDER CHRONICAL ALCOHOL INTOXICATION.

Razvodovsky Yu. E., Smirnov V. Yu., Doroshenko Ye. M., Naumov A.V., Sheibak V.M.  
Grodno State Medical University

Amino acid imbalance plays an important role in pathogenesis of chronic alcohol intoxication. In the present study we investigated effect of the composition of tryptophan, BCAA and taurine on the blood plasma amino acid pool of rats under chronic alcohol intoxication. It was shown that chronic ethanol intoxication led to decreased levels of glycine, tyrosine, lysine and  $\alpha$ -aminobutyric acid in the blood plasma of rats. Administration of the composition of tryptophan, BCAA and taurine was found to reduce levels of the majority of the compounds tested, probably due to activation of biosynthetic processes. However elevated BCAA/AAA ratio and decreased level of  $\alpha$ -aminobutyric acid may indicate potential hepatoprotective effect of the tested composition.

Поступила 31.01.07