

УДК: 547.262.099:612.398.192

СРАВНЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРЕПАРАТОВ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОГО ДЕЙСТВИЯ НА ФОНД СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ ПЕЧЕНИ ПРИ СИНДРОМЕ ОТМЕНЫ ЭТАНОЛА

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

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Исследовано влияние аминокислотных препаратов Тавамин и Гепатил на пул свободных аминокислот печени крыс при синдроме отмены этанола (СОЭ). Установлено, что СОЭ после принудительной алкоголизации по Majchrowicz сопровождается обеднением аминокислотного пула печени, вследствие уменьшения содержания как гликогенных, так и некоторых незаменимых аминокислот. Показано, что препараты Тавамин и Гепатил не способны в полной мере препятствовать метаболическому дисбалансу, развивающемуся на фоне СОЭ. В используемых дозах и способах введения более выраженным корригирующим действием обладает Гепатил.

Ключевые слова: аминокислоты, отмена этанола, печень, таурин, АРУЦ.

Ethanol withdrawal after forced alcoholization of rats according to Majchrowicz has led to the depletion in the pool of free amino acids in the liver due to the decreasing levels of glycogenic and some of the essential amino acids. Administration of Tavamin and Hepatil in applied doses has failed to correct the of amino acid imbalance in the pool of free amino acids of liver developed under conditions of alcohol withdrawal. Hepatil has found to be more effective.

Key words: amino acids, ethanol withdrawal, liver, taurine, BCAA.

Исследование эффектов аминокислот при хронической алкогольной интоксикации с целью их применения в качестве препаратов метаболической коррекции является актуальной задачей. Ранее была показана способность аминокислот и их композиций корригировать дисбаланс пула аминокислот плазмы крови и ткани печени при хронической алкогольной интоксикации и синдроме отмены этанола [2, 6].

Терапевтическое действие L-аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ) – изолейцина, валина и лейцина – основано на их незаменимости для организма человека и органоспецифичности метаболических превращений в печени и мышечной ткани, которая определяет ключевое значение этих аминокислот в реакциях глюконеогенеза и энергетического обмена, особенно при сочетанных поражениях печени и ЦНС [7]. Кроме того, их использование позволяет активизировать процессы детоксикации на фоне существующей печеночной недостаточности и энцефалопатии [5].

Таурин является условно незаменимым для организма человека высокоактивным природным соединением и обладает антиоксидантными, мембраностабилизирующими и адаптогенными свойствами [1]. Результаты экспериментальных и клинических исследований, проведенных в последние годы позволяют рассматривать это соединение как эффективное средство метаболической коррекции

при широком спектре патологических состояний. Таурин в высокой концентрации присутствует в ЦНС и играет важную роль в процессах осморегуляции, нейропротекции и нейромодуляции. Являясь аллостерическим модулятором ГАМК, N-метил-D-аспартата, а также глициновых рецепторов, таурин обладает способностью корригировать нейрохимические и поведенческие эффекты этанола, что делает его перспективным средством лечения алкогольной зависимости [3, 7].

Тавамин представляет собой фармакопейный комплексный препарат, в состав которого входит таурин и АРУЦ. Основным показанием для его использования является поражение печени различной этиологии.

Одним из наиболее часто используемых в настоящее время препаратов гепатопротективного действия является Гепатил (L-орнитин-L-аспартат), который является эффективным средством лечения печеночной недостаточности и печеночной энцефалопатии. В экспериментальной модели острой печеночной недостаточности гепатопротективные эффекты Гепатила сопровождались снижением уровня аммиака и повышением уровня глутамата, ГАМК, таурина, аланина, а также АРУЦ в плазме крови [9].

Целью настоящей работы было сравнительное исследование влияния аминокислотных препаратов Тавамин и Гепатил на пул свободных аминокислот

и их производных в печени при синдроме отмены этанола.

Материалы и методы

В эксперименте использовано 32 (по 8 в каждой группе) белых беспородных крыс-самцов массой 240-280 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Растворы этанола вводили внутривентрикулярно в дозе 5 г/кг два раза в сутки (в 9 и 21 час) на протяжении 7 суток. Синдром отмены этанола моделировали после принудительной алкоголизации по Majchrowicz [8]. Срок отмены этанола – 12 ч. Препараты вводились дважды в сутки через 30 мин после введения этанола на протяжении всего периода алкоголизации. Тавамин вводился в виде 2,5% водного раствора внутривентрикулярно в суммарной суточной дозе 200 мг/кг. Инъекционную форму Гепатила вводили внутривентрикулярно в суммарной суточной дозе 100 мг/кг. Контрольные животные получали внутривентрикулярно воду в эквивалентных количествах. После забоя животных образцы печени помещались в жидкий азот. Затем ткани печени гомогенизировались в 0,2 М хлорной кислоте с добавлением внутреннего стандарта (норлейцин) и центрифугировали на холоде при 2000g в течение 15 мин. Содержание свободных аминокислот и их производных в полученных хлорнокислых экстрактах определяли методом ионообменной хроматографии [4]. Регистрация и обработка хроматограмм осуществлялась с помощью программно-аппаратного комплекса «МультиХром-1». Статистическая обработка данных (t-статистика и корреляционный анализ) реализована программой Statistica. В работе использовались реактивы квалификации не ниже хч.

Результаты и их обсуждение

Через 12 ч после отмены этанола обнаружено снижение уровней серина, аланина, орнитина и лизина, а также двукратное повышение концентрации метионина в печени крыс. Эти изменения сопровождались снижением суммарного фонда свободных аминокислот и соотношения фенилаланин/тирозин (таб.).

Введение Гепатила нормализовало ряд наблюдаемых метаболических сдвигов синдро-

ма отмены этанола, таких как нарушение уровней серина, орнитина и метионина. В то же время сохранялся пониженный уровень аланина и лизина, а также снижались концентрации изолейцина и фенилаланина. Корректирующее действие Гепатила на аминокислотный фонд печени проявилось также в тенденции к нормализации суммарного содержания свободных аминокислот.

Введение Тавамина на фоне алкоголизации характеризовалось снижением целого ряда определяемых соединений, в том числе цистеата, аспартата, треонина, глутамина, фенилаланина, гистидина, а также сохранением пониженных уровней аланина, орнитина и лизина.

Дополнительный анализ фонда свободных аминокислот в данных экспериментальных ситуациях был сделан на основании дискриминантного анализа. Так, по значению показателя лямбды Уилкса = 0,00138 (F = 10,62) можно судить о хорошей дискриминации полученных групп, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100% корректности обучающих выборок для всех групп. Наиболее значимыми соединениями по значению критерия Фишера (т.е. вносящими наибольший вклад в общую дисперсию), были аланин, метионин, орнитин, лейцин, изолейцин и α-аминобутират (F = 13,6; 8,09; 4,67; 3,91; 6,85 и 4,02 соответственно).

Из проекции пространства показателей на плоскость двух главных компонент (рис.) видно, что пул изучаемых показателей опытных групп отличался от такового у контрольной группы животных. Наиболее удаленной от контрольной оказалась группа с СОЭ. Для групп животных, получавших Гепатил

Таблица. Концентрация свободных аминокислот в печени крыс при введении Тавамина и Гепатила на фоне синдрома отмены этанола

	Контроль	СОЭ	СОЭ + тавамин	СОЭ + гепатил
Цистеат	244,6 ± 28,3	218,9 ± 23,7	168,9 ± 15,2*	183,4 ± 18,5
Таурин	1749 ± 550	858,3 ± 91,2	1179 ± 138	1130 ± 144
Фосфозаноламин	496,2 ± 91,1	345,1 ± 37,4	467,8 ± 54,7	384,9 ± 36,2
Мочевина	831 ± 179	1270 ± 247	917,0 ± 98,7	1102 ± 220
Аспаргат	2408 ± 190	2070 ± 84	1782 ± 77*†	2380 ± 294
Треонин	373,2 ± 38,7	272,2 ± 43,1	209,7 ± 22,5*	259,4 ± 44,1
Серин	1165,5 ± 40,5	931,9 ± 88,8*	1026,1 ± 62,5	1167 ± 153
Глутамат	2925 ± 126	3047 ± 128	2920 ± 141	3176 ± 203
Глутамин	3875 ± 118	3648 ± 238	3195 ± 123*	3477 ± 537
Глицин	1861 ± 105	1747,1 ± 89,5	1785,6 ± 82,1	1670,5 ± 81,3
Аланин	1440 ± 129	807,3 ± 27,9*	630,7 ± 54,3*†	820,8 ± 97,6*
α-Аминобутират	35,32 ± 7,33	34,18 ± 3,83	23,71 ± 3,85	24,28 ± 5,50
Валин	151,47 ± 9,56	151,0 ± 10,7	124,8 ± 11,3	128,54 ± 5,73
Метионин	43,45 ± 2,26	78,07 ± 7,77*	66,0 ± 10,2	54,95 ± 5,50†
Изолейцин	97,57 ± 6,01	83,94 ± 6,92	81,06 ± 6,52	77,83 ± 4,93*
Лейцин	181,84 ± 8,62	156,3 ± 11,8	165,2 ± 15,8	154,9 ± 10,2
Тирозин	63,84 ± 4,19	70,23 ± 5,74	64,09 ± 9,08	77,29 ± 7,99
Фенилаланин	55,50 ± 5,37	37,31 ± 7,86	28,36 ± 7,21*	32,53 ± 4,03*
Этанолламин	993,7 ± 86,7	1202,2 ± 78,8	1208,7 ± 67,5	1138 ± 165
Аммиак	5043 ± 194	5551 ± 320	5196 ± 191	5079 ± 385
Орнитин	301,4 ± 15,9	249,1 ± 15,1*	247,3 ± 14,6*	263,5 ± 13,2
Лизин	424,2 ± 28,5	253,9 ± 18,6*	261,1 ± 13,2*	260,9 ± 29,6*
Гистидин	404,2 ± 13,6	388,8 ± 20,9	361,1 ± 11,5*	366,1 ± 13,2
Сумма АК (белк.)	25104 ± 1022	22019 ± 673*	19828 ± 660*†	23418 ± 1662
замен./незам.	13,79 ± 1,05	14,80 ± 0,73	14,47 ± 0,70	17,13 ± 2,02
АРУЦ/ААК	3,65 ± 0,15	4,10 ± 0,31	4,99 ± 0,90	3,44 ± 0,28

Примечание: p < 0,05 при сравнении с группами: * - контроля † - СОЭ.

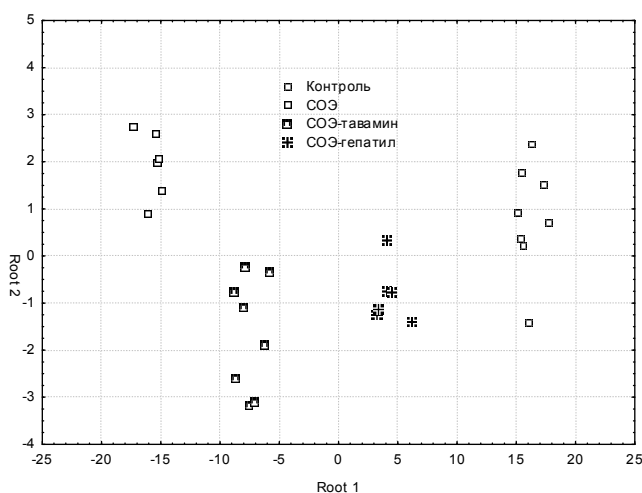


Рис. Проекция пространства показателей на плоскость двух главных компонент

и Тавамин на фоне СОЭ видна тенденция к нормализации пула свободных аминокислот, которая наиболее выражена у группы, получавшей Гепатил.

Выводы

1. Через 12 ч после отмены этанола в печени крыс наблюдался аминокислотный дисбаланс, проявившийся в снижении общего содержания аминокислот, как следствие уменьшения содержания гликогенных и некоторых незаменимых аминокислот.

2. Введение на фоне СОЭ гепатопротективного препарата Тавамин в суточной дозе 200 мг/кг не способно препятствовать аминокислотному дисбалансу в печени, развивающемуся на фоне отмены этанола и, кроме того, снижает дополнительно уровни аланина и аспартата.

3. Препарат Гепатил в суточной 100 мг/кг обладает определенным корригирующим действием на аминокислотный фонд печени при синдроме отмены этанола.

Литература

1. Нефедов Л.И. Проявления биологической активности таурина / *Весті АН Беларусі, Сер. хім. навук.* — 1992. — № 3-4. — С. 99-106.

2. Островский Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский // *Мн.: Наука и техника.* 1995. — 280 с.
3. Разводовский Ю.Е. Применение таурина в комплексном лечении алкоголизма / Ю.Е. Разводовский, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов, Л.И. Нефедов // *Актуальные вопросы современной медицины. Сб. научных трудов, посвященный 200-летию узловой клинической больницы г. Гродно.* 2002. — С. 327-330.
4. Смирнов В.Ю. Эффекты недостаточности таурина в формировании фонда аминокислот, их производных в центральной нервной системе и периферических тканях / В.Ю. Смирнов, Е.М. Дорошенко, Л.И. Нефедов // *Весті АН Беларусі, Сер. хім. навук.* — 1997. — N 2. — С. 83-92.
5. Смирнов В.Ю. Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма / В.Ю. Смирнов, Ю.Е. Разводовский, Е.М. Дорошенко, С.Ю. Островский. // *Укр. биохим. журн.* — 2003. — Т. — 75. — N4. — С. 101-107.
6. Шейбак В.М. Обмен аминокислот и кофермента А при алкогольной интоксикации. Гродно. 1998. — 153 с.
7. *Amino Acids (Chemistry, Biology, Medicine)* Eds. Lubrc C., Rosental J.A. N.Y.: Escom. 1990. — 1196 p.
8. Majchrowicz E., Hunt W.A. *Animal Models in Alcohol Research* / Eriksson K., Sinclair J.D., Kiianna K., eds. N.Y.: Acad. Press, 1980. — P. 419-424.
9. Rose C. L-ornithine-L-aspartate in experimental portal-systemic encephalopathy: therapeutic efficacy and mechanism of action / C Rose., A.Michalak, P Pannunzio., et al. // *Metab Brain Dis.* 1998. — Vol. 13. — N 2. — P. 147-157.

Resume

COMPARISON OF EFFECTS OF AMINO ACIDS COMPOSITION ON THE AMINO ACIDS POOL IN RATS LIVER UNDER ALCOHOL WITHDRAWAL SYNDROME.

Smirnov V. Yu., Razvodovsky Yu. E., Doroschenko Ye. M., Naumov A.V., Scheibak V.M.

Grodno State Medical University

Ethanol withdrawal after forced alcoholization of rats according to Maichrowicz has led to the depletion in the pool of free amino acids in the liver due to the decreasing levels of glycogenic and some of the essential amino acids. Administration of Tavamin and Hepatil in applied doses has failed to correct the amino acid imbalance in the pool of free amino acids in the liver developed under conditions of alcohol withdrawal.

Поступила 18.04.05