

УДК 577.112.3:612.396.22

В.В. Конопельнюк, В.В. Войтенко,
О.М. Савчук, Л.І. Остапченко**ВМІСТ АМІНОКИСЛОТ У СИРОВАТЦІ
КРОВІ ЩУРІВ ПРИ ХРОНІЧНІЙ
АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ***Київський національний університет
імені Тараса Шевченка Науково-навчальний центр
"Інститут біології", м. Київ, Україна*

Одним із поширених факторів несприятливого впливу на організм є психоактивна речовина — алкоголь. Офіційна статистика свідчить, що у світі невпинно росте кількість людей, що страждають на алкогольну залежність (хронічний алкоголізм), зокрема, в Україні ця цифра наближається до 800 тис. осіб [1]. Загалом алкоголь є причиною майже 60 різних захворювань і хворобливих станів, у тому числі психічних порушень, злоякісних новоутворень, серцево-судинних захворювань, різноманітних травм та ін. [10]. Такі порушення зумовлені тривалим токсичним впливом етанолу та основним продуктом його метаболізму — ацетальдегідом [8, 11]. Ацетальдегід є хімічно активним та функціонально важливим метаболітом, який за рахунок своєї високої хімічної активності легко взаємодіє з багатьма іншими молекулами, в тому числі білками, пептидами та амінокислотами [7, 13]. Тому одним із шляхів зменшення токсичної дії етанолу на організм може бути використання речовин, здатних прямо взаємодіяти з вільним ацетальдегідом та знижувати його рівень у крові, органах і тканинах. З природних сполук привертають увагу деякі амінокислоти, які легко метаболізуються тканинами організму і не є для нього чужорідними. Цистеїн не впливав на рівень етанолу в крові кроликів, але підвищував його виведення з сечею і одночасно зменшував токсичність за рахунок зв'язування ацетальдегіду [2]. Інші амінокислоти — гліцин і серин — перешкоджають розвитку снодійного ефекту етанолу та вкорочують його тривалість [3]. Однак результати цих досліджень не можуть пояснити патогенетичні механізми виникнення хронічної алкогольної інтоксикації. В цьому аспекті великий інтерес представляє вивчення ролі амінокислот в патогенезі цього захворювання.

Аналіз існуючих літературних даних свідчить про те, що в патогенезі алкогольної інтоксикації простежуються глибокі зміни метаболізму, завдяки яким порушується біогенез, структура і функції клітин [5]. Численні дослідження дали змогу виявити, що алкогольна інтоксикація негативно впливає на основні етапи біосинтезу білків, зокрема на активацію амінокислот (наприклад, суттєво змінюється обмін замісних амінокислот, які активно метаболізує печінка) [9, 12]. Таким чином, можна припустити, що етанол, потрапляючи в організм, призводить до дисбалансу амінокислот. Цей ефект може бути зумовлений як порушенням транспортування амінокислот, так і зміною активності трансаміназ. Амінокислоти є основними компонентами системи метаболічного контролю як синтезу, так і катаболізму білків і створюють регуляторні передумови для зовнішнього контролю. У зв'язку з цим все більше уваги приділяється вивченню впливу амінокислот і їх похідних на метаболічні порушення при алкоголізмі, пошуку нових біологічно активних препаратів на їх основі для лікування даного захворювання.

Мета нашої роботи полягала в тому, щоб визначити вміст амінокислот в сироватці крові щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У роботі дотримувалися міжнародних рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин відповідно до Європейської конвенції (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes). У досліді використовували білих нелінійних статево-зрілих щурів-самців з початковою масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію.

Розвиток експериментальної алкогольної інтоксикації у піддослідних тварин відтворювали за методом М.Х. Халилова та Ш.Я. Закихорджаєва [6], з власними модифікаціями, шляхом внутрішньошлункового введення 30% етилового спирту з розрахунку 2 мл на 100 г маси тварини. Контрольну групу склали щури, яким у тому ж віці внутрішньошлунково вводили чисту питну воду, яку використовували для розведення етанолу. Тварини були розділені на 2 групи: 1 — контрольна група щурів; 2 — група щурів,

яким вводили розчин етанолу протягом 21 доби. Для аналізу вмісту амінокислот відбирали тварин на 1, 3, 7, 11 та 21 доби введення спиртового розчину та на 28 добу від початку введення етанолу.

Амінокислотний склад визначали на автоматичному амінокислотному аналізаторі Т-339 ("Microtekno", Чехія) у літій-цитратному буфері в одноколонковому циклі.

Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента. Вірогідною вважали різницю між контрольними та дослідними показниками при $p < 0,05$. Дані представлено як середнє арифметичне (M) та його стандартну похибку (m): $M \pm m$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті проведених досліджень спостерігається зміна вмісту амінокислотного складу в сироватці крові щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією порівняно з контрольною групою тварин (табл.).

Аналіз вмісту окремих амінокислот засвідчив достовірно нижчі рівні в сироватці крові щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією більшості амінокислот. Найбільш вираженим (на 66,9%) було зниження рівня аспарагіну, дещо меншою мірою (на 41,3%) — лізину. На 38,4% меншою порівняно з контрольним показником була концентрація аргініну.

Також достовірно меншою була кількість одного з похідних амінокислот — орнітину (на 64,4%). В результаті досліджень встановлено тенденцію до підвищення в сироватці крові шу-

рів з хронічною алкогольною інтоксикацією рівня гістидину, цистину та тирозину на 13,4%, 13,6% та 30,4% відповідно порівняно з контрольними показниками.

Однією із основних ознак хронічної алкогольної інтоксикації є виникнення абстинентного синдрому. Основним фактором, що викликає абстинентний синдром, є високий вміст в організмі токсичних речовин, які суттєво порушують роботу багатьох внутрішніх органів. У період абстинентного синдрому показано повернення вмісту таких амінокислот як тирозин, фенілаланін, глютамін та гліцин до контрольних показників. Проте в ході досліджень також встановлено зниження вмісту деяких амінокислот (лізину, аргініну, глютамінової кислоти, метіоніну). Вміст орнітину та аспарагіну нормалізувався порівняно з показниками хронічної алкогольної інтоксикації. Але вміст гістидину, проліну та цистину продовжували зростати на 22,2%, 59,9% та 372% порівняно з контрольними показниками.

Результати експериментальних та клінічних досліджень вказують на те, що вміст та метаболізм амінокислот порушується при розвитку алкогольної інтоксикації. Зміни вмісту амінокислот крові при хронічній алкогольній інтоксикації зумовлені різноманітними чинниками — зниженням надходження амінокислот з травного тракту внаслідок можливого ураження етанолом слизових оболонок, зміною ферментативних систем, що може призводити до порушення реакцій переамінування, трансамінування або гідроксилування та відповідно функціонування

Таблиця

Вміст амінокислот в мкг на мл сироватки крові щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації

Амінокислоти	Контроль	21 доба	28 доба
Лізін	54,75±2,73	32,16±1,61*	27,81±1,39*
Гістидин	6,94±0,35	7,87±0,39*	8,48±0,42*
Аргінін	14,11±0,71	8,70±0,43*	6,96±0,35*
Орнітин	6,03±0,31	2,15±0,11*	4,30±0,21*
Асп к-та	3,99±0,19	1,32±0,06*	1,98±0,09*
Треонін	27,83±1,39	25,91±1,29	29,75±1,48
Серин	19,09±0,95	19,39±0,96	21,00±1,05
Глутамінова к-та	20,51±1,02	14,70±0,73*	9,80±0,49*
Пролін	17,97±0,89	19,17±0,95	28,75±1,43*
Гліцин	17,71±0,88	14,06±0,70*	17,19±0,85
Аланін	36,61±1,83	34,07±1,70	39,63±1,98
Цистин	2,31±0,11	5,46±0,27*	10,91±0,54*
Метіонін	5,62±0,28	3,49±0,17*	3,17±0,15*
Тирозин	10,31±0,51	13,45±0,67*	11,01±0,55
Фенілаланін	8,02±0,40	6,88±0,34*	7,45±0,37
Глутамін	66,36±3,31	47,61±2,38*	73,00±3,65

* $p < 0,05$ — порівняно з контрольними показниками.

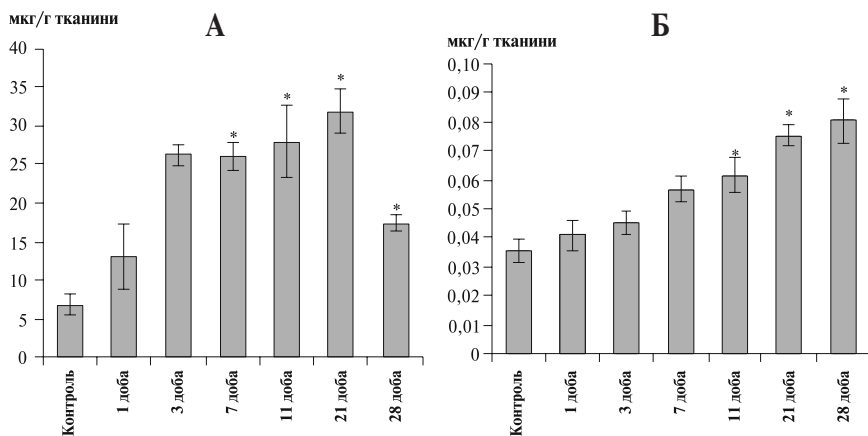


Рис. 1. Вміст триптофану в головному мозку (А) та сироватці крові (Б) щурів за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації порівняно з контрольними показниками. * — $p < 0,05$ — порівняно з контрольними показниками

печінкових клітин, активацією реакцій вільнорадикального окиснення. Але одним із основних чинників амінокислотного дисбалансу може бути дисфункція нейроендокринної регуляції, що виникає в результаті імунного конфлікту, що розвивається внаслідок надходження в організм розчину етанолу [4].

В попередніх дослідженнях нами було показано залучення функціонування серотонінергічної системи до патогенезу хронічної алкогольної інтоксикації. Оскільки триптофан є попередником для синтезу серотоніну доцільним було визначення вмісту даної незамінної амінокислоти в сироватці крові та головному мозку щурів при хронічній алкогольній інтоксикації, зумовленої введенням 30% розчину етанолу.

В результаті досліджень встановлено, що за умов розвитку хронічної алкогольної інтоксикації вміст триптофану у сироватці крові щурів на 1 добу знаходився у межах контрольних значень. У подальшому, введення етанолу піддослідним тваринам викликало поступове зростання вмісту

даного показника по відношенню до контрольних значень (рис. 1).

При дослідженні вмісту триптофану в період абстинентного синдрому в сироватці крові щурів було встановлено зростання вмісту триптофану в 2,3 раза порівняно з контрольними показниками (рис. 1).

Протягом всього періоду розвитку хронічної інтоксикації етанолом спостерігається зростання вмісту триптофану в головному мозку щурів порівняно зі значеннями контрольної групи тварин. У період

абстинентного синдрому показано зростання вмісту триптофану в 2,6 раза порівняно з контрольними показниками та зниження в порівнянні з його значеннями в період введення спиртового розчину.

Згідно з даними літератури, триптофан з позаклітинної рідини транспортується до серотонінергічних нейронів за участі неспецифічного мембранного транспортеру, який, як припускають, залучений у транспортування і деяких інших амінокислот (валін, лейцин, ізолейцин) [14]. Отже, вміст триптофану в нейронах та інтенсивність його транспортування залежать не тільки від концентрації триптофану, але і від співвідношення концентрацій конкуруючих нейтральних амінокислот до концентрації триптофану. Тому в подальших дослідженнях було визначено та проаналізовано вміст даних амінокислот.

У результаті досліджень встановлено зниження вмісту валіну протягом всього періоду введення спиртового розчину (рис. 2, А). Проте в період абстинентного синдрому спостерігається

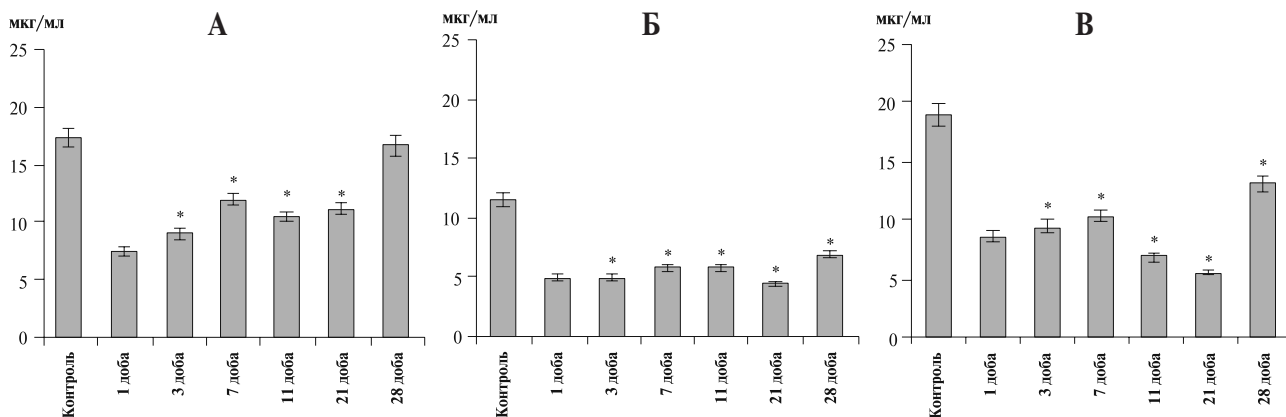


Рис. 2. Вміст валіну (А), ізолейцину (Б) та лейцину (В) в сироватці крові щурів за умов хронічної алкогольної інтоксикації. * — $p < 0,05$ — порівняно з контрольними показниками

повернення вмісту даного показника до контрольованого значення.

Показано зниження вмісту ізолейцину та лейцину приблизно в 2 рази в сироватці крові щурів у динаміці розвитку хронічної алкогольної інтоксикації та в період відміни введення 30% спиртового розчину в порівнянні з контрольною групою тварин (рис. 2, Б). На 21 добу введення спостерігається зниження вмісту даних амінокислот в 2,6 та 3,4 рази відповідно.

Таким чином, в ході досліджень встановлено, що амінокислоти, які можуть конкурувати з триптофаном за проходження гематоенцефалічного бар'єру, залишають кров'яне русло використовуючись в синтезі білка і таким чином концентрація триптофану в крові підвищується, відповідно до цього зростає кількість молекул даного метаболіту, що переходять у мозок.

ВИСНОВОК

В роботі показано, що спостерігається зміна вмісту амінокислотного складу в сироватці крові щурів з хронічною алкогольною інтоксикацією порівняно з контрольною групою тварин, що може свідчити про зміни метаболізму амінокислот при розвитку алкогольної інтоксикації. Загальновідомо, що амінокислоти є основними компонентами системи метаболічного контролю як синтезу, так і катаболізму білків. У зв'язку з цим все більше уваги приділяється вивченню впливу амінокислот і їх похідних на метаболічні порушення при алкоголізмі і наркоманії, пошуку нових біологічно активних препаратів на їх основі для лікування цих захворювань. Амінокислотні суміші слід розглядати, як високоефективні, малотоксичні та гіпоалергенні препарати при лікуванні хронічної алкогольної інтоксикації.

ЛІТЕРАТУРИ

1. Бородин В.И. Место препарата Колме в комплексной терапии больных с пограничными психическими расстройствами и алкоголизмом / В.И. Бородин // Психиатрия и психофармакотерапия. — 2007. — Т. 9, № 6. — С. 34–37.
2. Кричевская А.А., Лукаш А.И., Шугалей В.С. Аминокислоты и их производные в регуляции метаболизма. — Ростов, 1983. — 110 с.
3. 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. хім. наук. — 1997. — № 2. — С. 39–46.
4. Нефёдов Л.И. Формирование фонда свободных аминокислот и их производных в условиях метаболического дисбаланса // Автореф. докт. дис. — 1993. — Минск, 36 с.
5. Стрелец Н.В. Комплексная терапия неотложных состояний в наркологии / Н.В. Стрелец, С.И. Уткин,

Н.Н. Деревлев // Пособие для врачей психиатров-наркологов. — М., 2000. — 35 с.

6. Халилов М.Х. Характеристике некоторых патохимических сдвигов в крови, тканях печени и головного мозга при экспериментальной алкогольной интоксикации / М.Х. Халилов, Ш.Я. Закихорджаев // Вопросы клиницики алкоголизма: Сб. науч. тр. — Ташкент, 1983. — С. 38–41.
7. Effect of cellular retinol-binding protein on retinol oxidation by human class IV retinol/alcohol dehydrogenase and inhibition by ethanol / N. Kedishvili, W.H. Gough, W. Davis et al. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1998. — Vol. 10, № 249 (1). — P. 191–196.
8. Free radical activation of acetaldehyde and its role in protein alkylation / E. Albano, P. Clot, A. Comoglio et al. // FEBS Letters. — 1994. — Vol. 348. — P. 65–69.
9. Krebs H. The effects of alcohol on metabolic processes // Addict. and Brain Damage. — London-Baltimore, 1980. — P. 11–16.
10. Kushnir E.A. Polyoxidonium in the immunological correction of alcoholic motivation / E.A. Kushnir, M.L. Lovat, M.F. Obukhova // Immunology. — 2004. — Vol. 2. — P. 87.
11. Lieber C.S. Metabolism of alcohol and its implications for the pathogenesis of disease / C.S. Lieber // Alcohol and the Gastrointestinal Tract. — 1996. — P. 19–29.
12. Majchrowicz E., Hunt W.A. Similarities in some neurological, physiological and neurochemical aspects of the ethanol withdrawal syndrome in humans and experimental animals // Animal Models In Alcohol Research / K. Eriksson, J.D. Sinclair, K. Kiianmaa, eds. — N.-Y.: Acad. Press, 1980. — P. 419–424.
13. Presence of plasma endotoxin is correlated with tumour necrosis factor receptor levels and disease activity in alcoholic cirrhosis / C. Hanck, S. Rossol, U. Bocker et al. // Alcohol and Alcoholism. — 1998. — Vol. 33, № 6. — P. 606–608.
14. Regulation of the insulin signalling pathway by cellular protein-tyrosine phosphatases / B.J. Goldstein, F. Ahmad, W. Ding et al // Mol. Cell. Biochem. — 1998. — Vol. 182. — P. 91–99.

СОДЕРЖАНИЕ АМИНОКИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

В.В. Конопельнюк, В.В. Войтенко,
А.Н. Савчук, Л.И. Остапченко

В данной статье представлены результаты по содержанию аминокислот в сыворотке крови крыс при развитии хронической алкогольной интоксикации. В ходе исследований показано, что содержание и метаболизм аминокислот нарушается при развитии данной патологии.

AMINO ACID CONTENT IN BLOOD SERUM OF RATS ON THE DEVELOPMENT OF CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

V.V. Konopelniuk, V.V. Voitenko,
O.M. Savchuk, L.I. Ostapchenko

This paper presents results on amino acid content in the blood serum of rats of chronic alcohol intoxication. During studies have shown that the content and amino acid metabolism is disturbed during the development of this pathology.