

ВЕТЕРИНАРНЫЕ НАУКИ

УДК 577.164.8

ОБМЕН СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

О.Н. Артемова, А.Н. Бородинский, О.В. Коноваленко

ГУ НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси»

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь, 230008

***Аннотация.** Изучен пул свободных аминокислот в печени крыс при хронической прерывистой алкоголизации, представляющий чередование периодов алкоголизации и периодов отмены этанола. Выявлен дисбаланс в содержании гликогенных аминокислот, а также снижение аминокислот с разветвленной углеродной цепью. Показано, что длительное чередование циклов алкоголизация-отмена приводит к адаптивным изменениям в пуле свободных аминокислот в печени, что представляет практический интерес.*

***Summary.** Rat liver free amino acid pool was studied under chronic interrupted alcoholization representing the succession of alcoholization periods and ethanol withdrawal periods. An imbalance in the content of glycogenic amino acids as well as a decrease in the branched-chain amino acid contents were found. It was shown that a long-term succession of alcoholization withdrawal cycles results in adaptive changes in liver free amino acid pool.*

Введение. Употребление алкоголя приводит к многочисленным метаболическим сдвигам в организме, включающим в себя как собственно эффекты этанола на обмен веществ, так и адаптационные перестройки, происходящие в результате длительной алкоголизации. В том числе алкогольная интоксикация сопровождается дисбалансом пула свободных аминокислот – как плазменного, так и висцерального. Известна центральная роль печени в формировании и стабилизации аминокислотного фонда в организме. Именно здесь интенсивно протекают процессы трансаминирования, дезаминирования и непрямого дезаминирования при участии системы α -кетоглутаровая-глутаминовая кислоты [7]. В связи с этим нарушения аминокислотного обмена в печени влекут за собой достаточно серьезные последствия для всего организма.

В литературных источниках существуют данные о воздействии на аминокислотный фонд печени как острой и хронической алкоголизации, так и состояния абстиненции. Показано, что острая алкогольная

интоксикация вызывает увеличение поступления свободных аминокислот в ткани, приводя к обеднению аминокислотного фонда плазмы крови. В тканях отмечается уменьшение соотношения заменимые/незаменимые аминокислоты [8]. При длительном введении этанола было выявлено увеличение способности печени метаболизировать этанол. В результате этого многие фармакологические (токсические) эффекты алкоголя либо нивелируются, либо продолжительность их снижается [3]. Отмечено некоторое снижение степени обогащения аминокислотного фонда печени, по сравнению с острой алкогольной интоксикацией, вследствие адаптационных перестроек и формирования метаболической толерантности [8, 5]. При состоянии алкогольной абстиненции в печени обнаруживают несколько повышенное содержание свободных аминокислот. В основном, дисбаланс формируется за счёт заменимых аминокислот (аланин, аспарат, глицин), уровень которых значительно повышается, при фактически неизменном содержании незаменимых аминокислот [2, 5] Среди незаменимых аминокислот снижено относительное количество ароматических аминокислот (соотношение разветвлённые / ароматические аминокислоты повышено) [8].

Тем не менее особенности воздействия прерывистой алкогольной интоксикации, представляющей собой чередование периодов алкоголизации и периодов отмены этанола, на обмен свободных аминокислот в ткани печени до сих пор остаются практически неизученными.

Цель работы. Оценить воздействие прерывистой алкоголизации на фонд свободных аминокислот печени крыс.

Материал и методика исследований. В эксперименте было использовано 60 крыс-самцов линии Wistar массой 160-180 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Животным опытных групп дважды в сутки вводили в/ж 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг.

Группа 1 получала алкоголь в течение 4 сут, эвтаназию проводили через 24 часа после отмены этанола. Животные группы 2 также получали раствор этанола в течение 4 суток, однако декапитацию проводили через 3 сут абстиненции.

Животные группы 3 подвергались декапитации после двукратного повторения цикла – 4 суток алкоголизации/3 суток отмены – на 14-е сутки эксперимента. Группы 4 и 5 претерпевали 4-кратное повторение цикла, при этом животные группы 4 были декапитированы через 1 сутки отмены этанола, а животные группы 5 – через 3 суток. Животным из контрольной группы вводили эквивалентное количество воды.

Количественное определение свободных аминокислот и их производных в безбелковых экстрактах ткани печени проводилось методом катионообменной хроматографии на автоанализаторе аминокислот

ААА Т-339М [1]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Origin 6.0.

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе эксперимента было выявлено, что прерывистый режим введения алкоголя вызывал выраженный аминокислотный дисбаланс в печени крыс.

В печени животных группы 1, подвергшихся 4-дневной алкоголизации с последующей однодневной отменой этанола, было отмечено достоверное возрастание содержания свободных аминокислот, обусловленное накоплением заменимых аминокислот и снижением уровня незаменимых аминокислот. Дисбаланс в соотношении заменимых и незаменимых аминокислот выражался в повышении индекса заменимых /незаменимые аминокислоты (рис. 1).

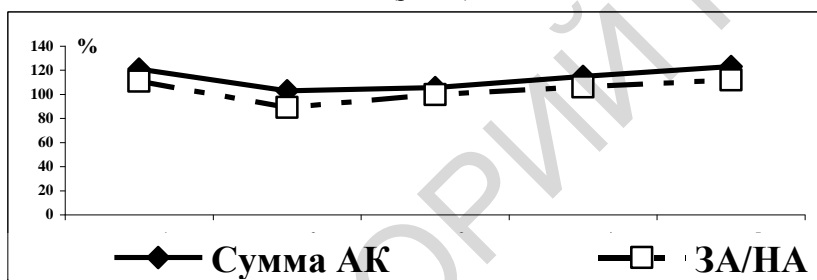


Рисунок 1 – Динамика изменений суммы свободных аминокислот и соотношения ЗА/НА в ткани печени крыс в условиях прерывистой алкогольной интоксикации (в % от контрольных величин)

Среди незаменимых аминокислот наибольшему снижению были подвержены концентрации лейцина и лизина (таблица).

Таблица – Свободные аминокислоты печени крыс в условиях прерывистой алкогольной интоксикации с 3-дневным сроком отмены этанола (µМ/л)

Показатель	Контроль	Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4	Группа 5
1	2	3	4	5	6	7
С.А.	187.68± 20.38	341.17± 53.59*	186.58± 7.74#	136.11± 7.32*#Δ	185.17± 12.31•	379.92± 37.67*Δ••
Tau	1150.33± 146.27	1957.35± 295.44*	1638.95± 175.6	1832.29± 219.34*	1453.47± 206.01	2823.41± 290*Δ••
PEA	247.4± 20.82	359.52± 31.42*	318.31± 19.25*	237.8± 14.75*#Δ	373.54± 20.26*•	400.83± 30.03*Δ•
urea	1168.43± 42.57	1729.45± 150.76*	1466.44± 45.91*	731.3± 38.87*#Δ	1615.58± 162.33*•	1362.94± 132.07*
Asp	1174.05± 35.53	1240.93± 56.37	1239.04± 28.16	926.14± 71.01*#Δ	1247.49± 138.77	1380± 58.18*•

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7
Thr	579.11± 46.59	476.49± 30.32	458.15± 40.03	338.77± 24.54 ^{*#Δ}	367.15± 51.65 [*]	545.25± 36.39 ^{**}
Ser	2905.13± 213.84	2788.11± 161.48	2254.67± 127.15 [#]	2356.99± 50.88 [#]	2421.44± 121.83	2644.14± 295.92
Glu	8101.25± 283.39	9414.65± 774.34	5750.6± 176.78 [#]	7827.27± 290.35 ^Δ	9866.55± 480.66 ^{*Δ•}	7797.29± 440.15 ^{Δ•}
Gln	6152.89± 259.49	6016.85± 346.22	5066.01± 327.08 [*]	6811.95± 307.77 ^Δ	7149.93± 578.01 ^Δ	6891.18± 322.89 ^Δ
Pro	649.46± 32.1	675.96± 48.37	612.97± 18.25	584.06± 66.92	507.54± 21.77 ^{*#Δ}	540.48± 70.86
Gly	3501.16± 130.47	4191.48± 293.9	3326.68± 271.21	3789.89± 90.68	3188.17± 193.27 ^{#•}	3875.83± 285.72
Ala	3105.31± 109.97	3317.82± 217.26	3993.6± 252.53 [*]	2642.4± 223.54 ^Δ	2669.33± 281.49 ^Δ	3827.68± 104.68 ^{**}
Val	388.83± 7.06	341.83± 22.85	300.42± 21.86 [*]	350.41± 14.99 [*]	419.5± 22.53 ^{#Δ•}	403.99± 10.02 ^{#Δ•}
Ley	166.21± 7.21	112.24± 4.73 [*]	107.77± 3.15 [*]	119.66± 7.37 [*]	126.34± 10.6 [*]	149.79± 7.03 ^{#Δ•}
Tyr	239.29± 8.43	221.23± 18.63	159.53± 13.38 [#]	190.63± 21.12	198.12± 17.52	265.46± 19.09 ^{Δ••4}
Phe	253.65± 28.62	196.31± 22.44	229.06± 8.01	134.14± 8.96 ^{#Δ}	146.28± 14.63 ^{*Δ}	112.16± 11.75 ^{#Δ}
EA	2200.43± 244.6	2637.56± 253.86	3547.93± 51.48 [#]	1985.47± 49.59 ^{#Δ}	2135.18± 169.21 ^Δ	2569.92± 267.63 ^Δ
NH3	1354.4± 142.17	1078.94± 41.6	809.3± 34.55 [*]	1317.07± 82.49 ^{#Δ}	1161.07± 106.19 ^{#Δ}	1424.84± 50.24 ^{#Δ•}
Orn	349.41± 30.32	323.01± 17.37	313.65± 14.14	310.06± 12.01	294.86± 16.58	380.77± 10.62 ^{#Δ••}
Lys	408.77± 53.04	251.11± 21.1 [*]	365.24± 30.22 [#]	245.11± 7.59 ^{*Δ}	355.55± 24.46 ^{#•}	497.45± 37.83 ^{#Δ••}
His	660.62± 20.06	804.45± 12.74 [*]	595.21± 15.43 [#]	696.6± 20.12 ^{#Δ}	610.82± 43.62 [#]	837.25± 47.96 ^{*Δ••}

Примечание:

* – достоверно относительно контроля, # – достоверно относительно 1 группы, Δ – достоверно относительно 2 группы, • – достоверно относительно 3 группы, ♦ – достоверно относительно четвертой группы

Уровень гистидина, однако, превышал норму. Кроме того, было выявлено возрастание индекса гликогенные/кетогенные аминокислоты (рис. 2).

Четырёхдневная алкоголизация с последующей отменой этанола в течение суток вызывала снижение уровней кетогенных аминокислот, в частности, лейцина, на фоне неизменного суммарного содержания гликогенных аминокислот, что может косвенно свидетельствовать об активации процессов кетогенеза. Также был отмечен рост уровней таурина, цистеата и фосфоэтаноламина. Уровень мочевины, превышавший

контрольные значения, мог свидетельствовать об активации процессов обезвреживания аммиака.

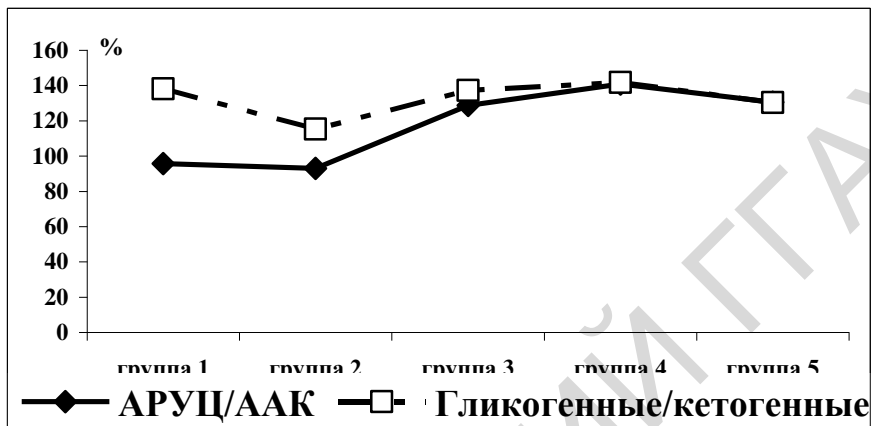


Рисунок 2 – Динамика изменений соотношений АРУЦ/ААК и гликогенные/кетогенные аминокислоты в ткани печени крыс в условиях прерывистой алкогольной интоксикации (в % от контрольных величин)

Спустя ещё 2 сут. отмены этанола (группа 2) значение суммарного фонда аминокислот в печени нормализовалось, однако были выявлены нарушения уровней отдельных метаболических групп аминокислот. Так, общее содержание незаменимых аминокислот по-прежнему снижено. В частности, это валин, лейцин и гистидин, уровень которого, ранее превышавший контрольные значения, в данной ситуации упал ниже нормы. Суммарное содержание заменимых аминокислот оставалось в пределах нормы, хотя определённый дисбаланс среди отдельных аминокислот этой группы был выявлен: снижение уровней серина, глутамина, глутамата и тирозина при повышенных концентрациях аланина, этаноламина и фосфоэтанолamina. Стоит отметить, что при нормальных значениях соотношения гликогенные/кетогенные аминокислоты в ткани печени наблюдалось уменьшение содержания равно как гликогенных, так и кетогенных аминокислот. Единственной гликогенной аминокислотой, уровень которой превышал контрольные значения, был аланин, однако уровни других гликогенных аминокислот – серина, валина, глутамата и гистидина были ниже контрольных значений. Среди кетогенных аминокислот наиболее выраженному сокращению были подвержены уровни лейцина и тирозина. Соотношение АРУЦ/ААК оставалось в пределах нормы. Концентрация мочеви-

ны превышала контрольные значения, а уровень аммиака был снижен, что указывает на интенсивную утилизацию аммиака.

В ткани печени животных группы 3, перенесших двукратное повторение цикла алкоголизация/отмена, не было выявлено изменений общего содержания свободных аминокислот, но наблюдался рост относительного количества заменимых аминокислот, что выражалось в повышенном значении индекса Заменимые/Незаменимые аминокислоты. Суммарный уровень незаменимых аминокислот по-прежнему снижен. Среди этой группы аминокислот наиболее снижены были концентрации треонина, валина, лейцина, фенилаланина и лизина. Несмотря на достоверное увеличение индекса гликогенные/кетогенные аминокислоты, по-прежнему снижены уровни как гликогенных, так и кетогенных аминокислот. Из гликогенных это аспартат, треонин, серин и валин, из кетогенных – лейцин и фенилаланин. Значение индекса АРУЦ/ААК превышало контрольные значения. Двукратное повторение цикла алкоголизация/отмена привело к резкому падению уровня мочевины при нормальных концентрациях аммиака, что может указывать на интенсивное использование аминокислот в условиях дефицита белка.

У животных из группы 4 было выявлено обогащение аминокислотного фонда печени, в основном, за счёт заменимых аминокислот. Из незаменимых аминокислот всё ещё снижены уровни треонина, лейцина и фенилаланина. Зарегистрированы повышенные уровни глутамата и фенилаланина. Произошла нормализация суммарного уровня гликогенных аминокислот, снижен только уровень треонина, а концентрация глутамата превышает контрольные значения. По-прежнему снижены уровни кетогенных аминокислот лейцина и фенилаланина.

Через 2 сут абстиненции после аналогичной ситуации (группа 5) общее содержание свободных аминокислот в ткани печени также повышено, нормализуется суммарный фонд незаменимых аминокислот, а общее количество заменимых аминокислот превышает контрольный уровень. При этом выявлен рост концентраций основных гликогенных аминокислот – заменимых аспартата и аланина, а из незаменимых – гистидина, что указывает на сокращение использования аминокислот в качестве энергетического субстрата. Из кетогенных аминокислот снижен только уровень фенилаланина. Наблюдается достоверное возрастание концентраций таурина и цистеата по отношению как к контролю, так и к другим экспериментальным группам, что может свидетельствовать о повышении деградации их предшественника – метионина [4]. Увеличение концентрации таурина может также происходить вследствие нарушения процессов конъюгации желчных кислот и активации

распада таурохолатов. Происходит нормализация концентраций остальных исследованных аминокислот.

Таким образом, можно отметить некоторые особенности изменения аминокислотного фонда печени в условиях прерывистой алкогольной интоксикации. Повышенное содержание аминокислот в ткани печени, характерное для состояния абстиненции, сохранялось в экспериментальных группах 1,4 и 5. В группах 2 и 3 суммарный уровень свободных аминокислот находился в пределах нормы. Несмотря на это, в группах 2 и 3 был выявлен наибольший дисбаланс в содержании отдельных аминокислот. Также именно в этих группах был снижен уровень гликогенных аминокислот, что свидетельствует об активном их использовании в энергетических целях. Кроме того, снижено содержание аминокислот с разветвлённой углеродной цепью. В случае группы 2 можно предположить, что по мере увеличения длительности абстиненции после однократного периода алкоголизации происходило ухудшение состояния аминокислотного баланса в печени. В группе 3, где также рассматривался период третьих суток абстиненции, но уже после второго периода алкоголизации, в аминокислотном фонде печени были выявлены схожие нарушения. Относительная нормализация показателей аминокислотного пула печени происходила после 4-кратного повторения цикла алкоголизация-отмена (группы 4 и 5).

Заключение. В данном случае нами было рассмотрено несколько вариантов алкогольного абстинентного синдрома, последовавшего за одно-, двух- и четырёхкратной краткосрочной алкогольной интоксикацией. Исходя из вышеизложенных результатов, можно предположить, что многократное повторение циклов алкоголизация-отмена в данном эксперименте вызвало определённые адаптивные изменения, направленные на нормализацию аминокислотного пула печени. Полученные результаты могут быть использованы в комплексной терапии алкоголизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бенсон, Дж. В. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков / Патерсон Дж. А.; под ред. Ю. А. Овчинникова. – М., 1974. – 9 – 84 с.
2. Волынец, О.С. Актуальные вопросы гепатологии / Островский С.Ю., Нефёдов Л.И.; под ред. В.М. Цыркунова. – Гродно. 1998. – 65 с.
3. Биологические аспекты наркоманий. / А.И. Майский [и др.] // – Москва: 1982. – 256 с.
4. Аминокислоты. / Л. И. Нефёдов [и др.]// Весці Акадэміі Навук Беларусі. – 1997. – № 2. – С.39-48.
5. Островский, Ю.М. /Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма./ С.Ю. Островский. – Минск, 1995. – 280 с.
6. Вопросы лечения алкоголизма./Рослый И.М. [и др.]//Вопросы наркологии. – 2004. – № 2. – С. 70 – 79 .
7. Уайт, А. Основы биохимии/ Хендлер Ф.//М., 1981. – Ч.2. – 881 – 967 с.

УДК 636:619:615:614.35

ФАРМАКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ И АНТИСТРЕССОВЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТА «АСКОРБИНОВАЯ КИСЛОТА С ГЛЮКОЗОЙ»

В.Н. Белявский, В.П. Гудзь, С.С. Ушаков, Н.М. Стасевич

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь, 230008

***Аннотация.** Изучены фармако-токсикологические и антистрессовые свойства препарата «Аскорбиновая кислота с глюкозой». Установлено, что препарат не обладает токсическими свойствами и является безвредным для мышей в дозе, превышающей профилактическую в десять раз. Производственные испытания показали, что препарат в комбинации с ксилазином проявляет антистрессовое действие. Он оказал нормализующее действие на клинико-биохимический статус организма, стимулировал поедаемость корма и среднесуточный прирост живой массы у телят при декорнуации.*

***Summary.** The pharmacological, toxicological and anti stress properties of "Ascorbic acid from glucose" were studied. It was found that the drug has no toxic properties and is harmless to mice in a dose exceeding preventive tenfold. Production tests showed that the drug in combination with «Xyla» has expressed antstress effect. It had a normalizing effect on the clinical and biochemical status of the body, stimulated the use of feed and average daily growth of live calves from the masses.*

Введение. Современная технология содержания животных сопровождается воздействием большого числа стресс-факторов на организм животных. Среди них можно выделить перегруппировку животных, транспортировку, обезроживание, ветеринарные обработки и т.д. Стрессу подвержены все животные, но в большей степени свиньи и молодняк, особенно это выражено у поросят и телят [1]. Стрессовое состояние характеризуется проявлением гуморальных и неврогенных изменений в организме, ведущих к нарушению обмена веществ [2]. В результате угнетается иммунная реактивность и неспецифическая резистентность, значительно повышая предрасположенность к инфекционным заболеваниям [3]. При стрессовых нагрузках увеличивается расход энергии, ускоряются обменные процессы, возникает риск снижения качества мясной продукции и летального исхода [4]. Впервые влияние стресса на качество мяса было описано в 1964 году американскими учеными, которые выделили два синдрома PSE и DFD. Эти синдромы были названы начальными буквами слов бледное, мягкое, водя-