УДК. 615.03.517.466

ВЛИЯНИЕ КОМПОЗИЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ L-АРГИНИНА, -ГЛЮТАМИНА И ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ НА СОСТОЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ И ПРЕРЫВИСТОЙ АЛКОГОЛИЗАЦИИ

А.Н. Бородинский[1], Ю.Е. Разводовский[2], О.В. Коноваленко[2]

[1]– УО «Гродненский государственный медицинский университет», г. Гродно, Республика Беларусь

[2] – УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 28.06.2013 г.)

Аннотация. *Изучено влияние композиции, состоящей из L-аргинина, L-глютамина и янтарной кислоты на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации. Установлено, что как хроническая, так и прерывистая алкоголизация сопровождается нарушением углеводного обмена, в частности, изменением скоростей ключевых реакций гликолиза, таких как ГЛК и ПК. Композиция, состоящая из L-аргинина, L-глютамина и янтарной кислоты способна оказывать корригирующее влияние на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации.*

Summary. *The effect of composition of L-arginine, L-glutamine and succinic acid on carbohydrates metabolism under conditions of chronic and interrupted alcohol intoxication has been investigated. It was established that chronic, as well as interrupted alcohol intoxication accompanies a disturbance of carbohydrate metabolism in particular, the change rate of glycolysis key reactions such as GLA and PC.. The composition of L-arginine, L-glutamine and succinic acid can exert corrective influence on the state of the carbohydrates metabolism under conditions of chronic and interrupted alcohol intoxication.*

Введение. Злоупотребление алкоголем сопровождается нарушением углеводного обмена и является одним из факторов риска сахарного диабета [1]. Диабетогенные эффекты алкоголя включают непосредственное токсическое воздействие на клетки поджелудочной железы, ингибирование секреции инсулина и повышение резистентности к нему, нарушение углеводного обмена, ожирение, обусловленное поступлением излишних калорий, а также нарушение функций печени [1, 2, 6].

Несмотря на интенсивное изучение патогенетических аспектов алкоголизма, до настоящего времени не разработан комплексный терапевтический подход, учитывающий особенности сопутствующего хронической алкогольной интоксикации метаболического дисбаланса. В связи с этим актуальной задачей является разработка методов метабо-

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ

лической коррекции последствий хронической алкогольной интоксикации.

Известно, что одними из наиболее универсальных природных регуляторов и эндогенных модификаторов биологических реакций являются свободные аминокислоты и их производные [2]. В настоящее время многочисленные биологические свойства этого класса соединений на практике эксплуатируются, главным образом, с позиций восполнения их дефицита или реализации фармакологических и непосредственных метаболических эффектов отдельных аминокислот [5]. Поэтому исследование механизмов реализаций метаболических эффектов аминокислот должно включать определение ее концентрации в тканях, активности синтеза и утилизации аминокислот, а также сопряженных с этими реакциями метаболических потоков (гликолиз, глюконеогенез, ЦТК) и энергопродукции.

Ранее нами было показано, что прерывистая алкоголизация животных сопровождается выраженными изменениями гликолитического пути превращения углеводов [1]. Попытка коррекции этих нарушений дополнительным введением L-аргинина была малоэффективна. Поэтому нами для коррекции метаболитных нарушений при различных режимах алкоголизации была предложена композиция, где дополнительно к L-аргинину был использован глутамин и янтарная кислота [1].

Цель − изучить влияние композиции, состоящей из L-аргинина, L-глютамина и янтарной кислоты на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации.

Материал и методы исследований. В эксперименте были использованы белые крысы - самцы массой 180-200 г, которые подвергались хронической алкогольной интоксикации в течение 60 и 90 сут. Алкоголь вводили внутригастрально в дозе 4 г/кг 2 раза в сутки. Кроме того, была проведена модель прерывистой алкоголизации 60 и 90 сут. Опытным животным внутригастрально вводили смесь L-Аргинин (300 мг/кг) + L-Глутамин (300 мг/кг) + Сукцинат (50 мг/кг) (препарат 1) и смесь L-Аргинин (500 мг/кг) + L-Глутамин (500 мг/кг) + Сукцинат (50 мг/кг) (препарат 2) как при хронической, так и прерывистой алкоголизации. Животные из контрольной группы вместо этанола получали эквиобъемное количество воды.

Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в плазме и печени определяли общепринятыми методами [3]. Активность аминотрансфераз (аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ)) в плазме крови определяли по методу Райтман [3]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы StatSoft Statistica.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ

Результаты исследований и их обсуждение. Известно, что поражение печени является часто встречающимся осложнением алкоголизма [7]. Степень поражения печени алкоголем варьирует от слабовыраженных обратимых нарушений до глубоких поражений ткани [9]. Воздействие гепатотропных ядов, к которым относится алкоголь, сопровождается цитолитическим синдромом, под которым понимают нарушение проницаемости клеточных и внутриклеточных мембран гепатоцитов [8]. В свою очередь, синдром цитолиза приводит к повышению активности трансаминаз, которые обеспечивают взаимосвязь между кетокислотами цикла трикарбоновых кислот (ЦТК) и аминокислотами [5].

Как видно из данных, приведенных в табл. 1, 2, 3, как хроническая, так и прерывистая алкоголизация не сказались на скорости обеих трансаминазных реакциях в сыворотке крови животных. Введение смеси препаратов снизило активность АЛТ в группах животных, получавших препарат 1 (L-Аргинин (300мг/кг) + L-Глутамин (300мг/кг) + Сукцинат (50мг/кг)) как при хронической, так и прерывистой алкоголизации. АЛТ также была ниже у животных получавших препарат 2 L-Аргинин (500мг/кг) + L-Глутамин (500мг/кг) + Сукцинат (50мг/кг) при прерывистой алкоголизации в 2-месячной модели опыта. По всей видимости, наиболее ранним признаком алкогольного поражения печени является повышение активности другого маркерного фермента – ГГТП, которое было отмечено нами ранее при хронической алкоголизации.

Таблица 1 − Влияние смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината на активность АЛТ, АСТ в сыворотке крови при абстиненции (30 сут) после ХАИ 60 сут.

Показатель	Контроль	ХАИ 2 мес+ 1 мес отмены	ХАИ 2 мес+ 1 мес. преп1	ХАИ 2 мес+ 1 мес. преп2
АСТ	0.23±0.012	0.24±0.009	0.25±0.015	0.23±0.009
АЛТ	0.21±0.013	0.19±0.009	0.17±0.014*	0.19±0.011

Таблица 2 − Влияние смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината на активность АЛТ, АСТ в сыворотке крови при прерывистой алкоголизации (60 и 90 сут).

Показатель	Контроль	Прер. алк 3 мес	Прер. алк 3 мес+ преп1	Прер. алк 3 мес+ преп2
АСТ	0.23±0.012	0.24±0.013	0.23±0.015	0.22±0.014
АЛТ	0.21±0.013	0.22±0.008	0.15±0.011*+	0.18±0.012
Показатель	Контроль	Прер. алк 2 мес	Прер. алк 2 мес+ преп1	Прер. алк 2 мес+ преп2
АСТ	0.23±0.012	0.23±0.008	0.2±0.008	0.22±0.015
АЛТ	0.21±0.013	0.21±0.011	0.21±0.015	0.17±0.008*+▲

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ

Таблица 3 − Влияние смеси аминокислот(l-аргинина и l-глутамина) и сукцината на активность АЛТ, АСТ, в сыворотке крови при ХАИ (60 сут.).

Показатель	Контроль	ХАИ 2 мес	ХАИ 2 мес+ преп 1	ХАИ 2 мес+ преп 2
АСТ	0.23±0.012	0.25±0.009	0.23±0.009	0.26±0.01
АЛТ	0.21±0.013	0.21±0.012	0.19±0.01	0.19±0.013

* - достоверно по отношению к контролю

+- достоверно по отношению к группе 1

▲- достоверно по отношению к группе 2

Большое значение в алкогольном поражении внутренних органов принадлежит ацетальдегиду, высокие концентрации которого после приёма алкоголя образуются именно в гепатоцитах и оказывают на них токсическое действие. Вероятно, в условиях различных видов хронической алкоголизации имеет значение соотношение активностей АДГ и АлДГ в печени. Играет определённую роль в поражении печени влияние ацетальдегида на гепатоциты. Хроническая алкоголизация сопровождается снижением активности АДГ. Препарат 1 снижает активность АДГ при прерывистой 3-месячной алкоголизации. Сниженная при 2-месячной прерывистой алкоголизации активность АДГ не уменьшалась при введении различных доз препарата. Можно полагать, что как хроническая алкоголизация, так и прерывистая снижают активность АлДГ и тем самым нарушают взаимодействия ферментных систем, обеспечивающих продукцию и утилизацию ацетальдегида в печени в условиях избыточного поступления этанола.

Изменения в обмене углеводов, по всей видимости, связаны со способностью продукта обмена этанола ацетальдегида активно взаимодействовать с аминокислотами, входящими в активные центры ключевых ферментов гликолиза, таких как ГЛК и ПК, и тем самым изменять скорость превращения углеводов гепатоцитах. Как видно из табл. 4, 5, 6, 7, хроническая (2, 3 мес) и прерывистая (2, 3 мес) алкоголизация сопровождается повышением активности ключевого фермента гликолиза ГЛК. При введении обеих доз комбинации препаратов наблюдается тенденция к нормализации активности ГЛК. При хронической (2 мес) алкоголизации повышенная активность ГЛК не нормализуется обеими комбинациями препарата.

Иная картина наблюдается при 3-месячной хронической алкоголизации, где активность ГЛК не превышала контрольных величин (6), а обе дозы препаратов активировали фермент более чем в 3 раза по сравнению с контролем. При 3-месячной прерывистой алкоголизации активность ГЛК выше контрольных величин. Но обе дозы препарата активируют ГЛК. Известно, что активность ГЛК активируется инсули-

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ

ном. Вероятно, смесь обоих препаратов повышает синтез и секрецию инсулина, что нашло подтверждение в результатах наших экспериментах.

Анализируя результаты, приведенные в табл. 4 и 5, можно выявить снижение активности другого ключевого фермента гликолиза ПК. Введение обеих исследуемых доз комбинации не сказалось на скорости пируваткиназной реакции. Как при хронической 3-месячной, так и при 3-месячной прерывистой алкоголизации не отмечено изменений в активности пируваткиназы. Вероятно, что увеличение срока алкоголизации включает механизмы адаптации к повреждающему действию этанола, например, такой, как увеличение синтеза ферментного белка de novo.

Таблица 4 − Активность ЛДГ и ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при ХАИ (3 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината

Показатель	Контроль Группа 1	Группа 2 (ХАИ)	Группа 4 (ХАИ+Преп.1)	Группа 6 (ХАИ+Преп.2)
ГЛК, нмоль/мг белка в мин	3,80±0,30	3,75±0,51	12,45±1,23*+	12,20±1,27*+
ЛДГ, мкмоль/мг белка/мин	1,07±0,20	1,14±0,22	1,64±0,1*+	1,64±0,14*+
Пкиназа, мкмоль/мг белка/мин	0,51±0,06	0,53±0,05	0,53±0,03	0,54±0,06
Г6ФДГ, нмоль/мг белка/мин	26,75±4,46	20,87±5,04	31,48±3,9	32,62±5,03
АДГ, нмоль/мг белка/мин	19,05±2,82	14,58±0,69*	16,11±0,89	14,93±0,72
Лактат, мкмоль/1г. ткани	3,24±0,19	3,78±0,71	5,54±0,52*+	4,43±0,18
Глюкоза печень, мкмоль/1г. ткани	3,67±0,48	5,82±1,01	4,48±0,94	9,93±1,78*+
Гл-6 Ф, мкмоль/1г. ткани	0,23±0,04	0,19±0,01	0,16±0,03	0,26±0,02

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

+- достоверно по отношению к соответствующей алкоголизированной группе

Таблица 5 − Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при прерывистой алкоголизации (3 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината

Показатель	Контроль Группа 1	Группа 3 (Прер.алк)	Группа 5 (Прер.+Преп.1)	Группа 7 (Прер+Преп.2)
1	2	3	4	5
ГЛК, нмоль/мг белка/мин	3,80±0,30	7,44±0,62*	9,58±1,85*	11,13±0,96*●
ЛДГ, мкмоль/мг белка/мин	1,07±0,20	1,54±0,07*	1,73±0,15*	1,46±0,15
Пкиназа, мк моль/мг белка/мин	0,51±0,06	0,52±0,05	0,48±0,09	0,39±0,04
Г6ФДГ, нмоль/мг белка/мин	26,75±4,46	25,07±4,36	26,52±3,55	32,15±4,83
АДГ, нмоль/мг белка/мин	19,05±2,82	17,04±0,63	13,27±1,68*	16,88±1,97
Лактат, мкмоль/1г. ткани	3,24±0,19	4,94±0,16*	5,74±0,34*	4,22±0,42

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ

Продолжение таблицы 7

1	2	3	4	5
Глюкоза печень, мкмоль/1г. ткани	3,67±0,48	5,67±0,8	7,25±1,43*	5,90±0,41
Гл-6 Ф, мкмоль/1г. ткани	0,23±0,04	0,24±0,02	0,38±0,04*●	0,22±0,04

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

● - достоверно по отношению к соответствующей алкоголизированной группе.

Таблица 6 − Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при абстиненции (30 сут) после ХАИ (2 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината.

Показатель	Контроль	Группа 1 (ХАИ)	Группа 3 (ХАИ+Преп.1)	Группа 5 (ХАИ+Преп.2)
ГЛК, нмоль/мг белка/мин	3,80±0,30	8,87±0,51*	5,57±1,06+	6,17±0,93+
ЛДГ, мкмоль/мг белка/ мин	1,07±0,20	1,01±0,15	1,29±0,15	1,17±0,09
Пкиназа, мкмоль/мг белка/мин	0,51±0,06	0,37±0,02*	0,34±0,05*	0,34±0,03*
Г6ФДГ, нмоль/мг белка/мин	26,75±4,46	23,70±2,22	20,44±2,63	28,48±4,08
АДГ, нмоль/мг белка/мин	19,05±2,82	14,29±1,19	14,98±0,93	14,47±0,9
Лактат, мк моль/1г. ткани	3,24±0,19	5,05±0,44*	5,81±0,68*	5,73±0,65*
Глюкоза печень, мк моль/1г. ткани	3,67±0,48	7,52±1,30*	7,98±0,50*	4,95±0,49+
Гл-6 Ф, мк моль/1г. ткани	0,23±0,04	0,15±0,03	0,14±0,03	0,12±0,03*

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

+- достоверно по отношению к соответствующей алкоголизированной группе

Таблица 7 − Активность ферментов обмена углеводов и содержание субстратов в печени при прерывистой алкоголизации (2 мес.) и на фоне введения смеси аминокислот (l-аргинина и l-глутамина) и сукцината

Показатель	Контроль	Группа 2 (Прер. алк)	Группа 4 (Прер.+Преп.1)	Группа 6 (Прер+Преп.2)
ГЛК, нмоль/мг белка/мин	3,80±0,30	9,53±0,70*	9,40±1,29*	6,67±0,75*
ЛДГ, мкмоль/мг белка/мин	1,07±0,20	1,03±0,09	1,2±0,16	1,16±0,13
Пкиназа, мкмоль/мг белка/мин	0,51±0,06	0,35±0,05*	0,34±0,04*	0,31±0,07*
Г6ФДГ, нмоль/мг белка/мин	26,75±4,46	22,68±3,96	17,22±2,23	22,66±4,31
АДГ, нмоль/мг белка/мин	19,05±2,82	12,46±2,19*	12,76±1,03	13,86±1,26
Лактат, мкмоль/1г. ткани	3,24±0,19	5,05±0,43*	5,48±0,53*	4,7±0,81
Глюкоза печень, мкмоль/1г. ткани	3,67±0,48	4,27±0,52	4,47±0,55	4,42±0,29
Гл-6 Ф, мк моль/1г. ткани	0,23±0,04	0,26±0,06	0,19±0,02	0,19±0,05

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ

Различные режимы алкоголизации не изменяли скорость ЛДГ реакции (табл. 7). Однако уровень лактата был повышен по сравнению с контрольными животными. Это, по всей видимости, можно объяснить снижением скорости глюконеогенеза, которое наблюдается при длительном хроническом употреблении этанола. Дополнительное введение исследуемых препаратов не изменяло содержание лактата в гепатоцитах.

2-месячная хроническая алкоголизация приводит к увеличению содержания глюкозы в печени (табл. 4). Введение препарата в большой дозе снизило содержание глюкозы до контрольных величин. С другой стороны, высокая доза препарата повышает стационарную концентрацию глюкозы при 3-месячной хронической алкогольной интоксикации (табл. 6). При прерывистой алкоголизации (3 мес.) низкая доза используемой комбинации препарата повышает уровень глюкозы (табл. 7). Обращает на себя внимание отсутствие изменений активности одного из ключевых ферментов пентозофосфатного пути Г-6-ФДГ (табл. 4, 7). Это предполагает отвлечение углеводов в ПФП.

Заключение. Таким образом, полученные данные говорят о том, что как хроническая, так и прерывистая алкоголизация сопровождается нарушением углеводного обмена, в частности, изменением скоростей ключевых реакций гликолиза, таких как ГЛК и ПК. Композиция, состоящая из L-аргинина, L-глютамина и янтарной кислоты, способна оказывать корригирующее влияние на состояние углеводного обмена в условиях хронической и прерывистой алкоголизации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бородинский, А.Н. Углеводный обмен при экспериментальном алкоголизме. А.Н. Бородинский, Ю.Е. Разводовский – LAP LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KB, Saarbrucken. 2013.
2. Биохимия и алкоголизм (I): метаболические процессы при алкоголизме / И.М. Рослый [и др.] // Вопросы наркологии. – 2004. – № 2. – С. 70–79.
3. Колб, В.Г. Клиническая биохимия / В.Г.Колб, В.С. Камышников. — М.: Наука,1976. - С.78-83.
4. Нефедов Л.И. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени / Л.И.Нефедов // Весці НАН Беларусі: сер. біял. навук. – 1997. - №2. – С. 39-48.
5. Островский, Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский. – Минск: Наука и техника, 1995. – 278 с.
6. Островский, Ю.М. Метаболические предпосылки и последствия потребления алкоголя. / Ю.М. Островский [и др.] – Мн: Наука и техника. – 1988. – 263 с.
7. Lieber, C.S. Pathogenesis and treatment of alcoholic liver disease: progress over the last 50 yearsd / C.S. Lieber // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. – 2000. – Vol. 37, № 6. – P. 551–84.
8. Lieber, C.S. Metabolism of alcohol. / C.S. Lieber // Clin. Liver Dis. – 2005. – Vol. 9, № 1. – P. 1–35.
9. Lieber, C.S. Alcoholic fatty liver: its pathogenesis and mechanism of progression to inflammation and fibrosis. / C.S. Lieber // Alcohol. – 2004. – Vol. 34, № 1. – P. 9–19.

РЕПОЗИТОРИЙ ГГАУ