

УДК 616.36:547.466

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ПЛАЗМЫ КРОВИ КРЫС ПРИ ПОРАЖЕНИИ ПЕЧЕНИ АЦЕТАМИНОФЕНОМ И ВВЕДЕНИИ ТАУРИНА ИЛИ КОМПОЗИЦИИ, СОСТОЯЩЕЙ ИЗ ТАУРИНА И ЦИНКА СУЛЬФАТА

В.М. Шейбак, М.В. Горецкая, В.Ю. Смирнов, А.Л. Дмитриев

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

В работе изучено влияние введения ацетаминофена на показатели обмена свободных аминокислот и возможность коррекции наблюдаемых нарушений назначением аминокислотно-микроэлементной композиции. Внутривентрикулярное введение ацетаминофена вызывало поражение печеночной ткани, которое характеризовалось снижением общего пула свободных аминокислот в плазме крови. Однако, у животных, которые получали помимо ацетаминофена композицию, состоящую из аминокислоты таурина и цинка сульфата не смотря на снижение общего содержания аминокислот, регистрировалась нормализация аминокислотного баланса.

Ключевые слова: ацетаминофен, аминокислоты плазмы крови, цинка сульфат, таурин.

The effect of acetaminophen administration on free amino acid metabolic rates and the possibility to correct the observed disturbances by administration of the composition consisting of amino acids and trace elements have been studied. Intragastric administration of acetaminophen caused hepatic tissue injury characterized by decrease in free amino acid pool in the blood plasma. But in the animals receiving acetaminophen as well as the composition consisting of taurine and zinc sulphate, despite the reduced amino acid level, normalization of amino acid balance have been noted.

Key words: acetaminophen, plasma amino acids, zinc sulphate, taurine.

Печень является основным органом-мишенью лекарственных средств. После метаболических превращений некоторые из них становятся токсичными. Так, ацетаминофен превращается в гепатотоксичный N-ацетил-p-бензохинонимин ферментами микросомального окисления [8, 9]. Мало известно о влиянии аминокислот на активность ферментов микросомального окисления. Показано, что таурин увеличивает экспрессию мРНК цитохрома P450 и улучшает детоксикацию ксенобиотиков [6]. Вероятно, механизм опосредованной активации индукции осуществляется путем ускорения метаболизма желчных кислот.

Известно, что снижение концентрации таурина в печени вследствие введения его антиметаболита в-аланина повышает чувствительность печени к гепатотропным ядам. Следовательно, истощение запасов таурина в печени вносит дополнительный вклад в степень поражения этого органа. Дополнительное введение в данной экспериментальной ситуации таурина предупреждает падение концентрации этой аминокислоты в печени, снижает степень поражения печеночной ткани в случае введения гепатотоксина [7]. Показано, что однократное введение таурина уменьшает поражение печени, вызываемое ацетаминофеном [9]. Протективный эффект отмечен и при введении ацетилцистеина и таурина [3], способствующих повышению уровня восстановленного глутатиона в печени. Известно положительное влияние препаратов цинка при токсическом гепатите [4]. Вместе с тем, в литературе отсутствуют данные об изменениях в спектре свободных аминокислот плазмы крови при интоксикации ацетаминофеном и не изучена возможность коррекции аминокислотного дисбалан-

са совместным введением препаратов таурина и цинка.

Целью работы явилось выявление нарушений спектра свободных аминокислот плазмы крови при интоксикации ацетаминофеном и исследование возможности коррекции аминокислотного дисбаланса путем одновременного введения таурина и цинка сульфата.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 40 белых крысах-самках породы Вистар массой 170-200 г. Ацетаминофен вводили энтерально в виде взвеси в 2% (масса/объем) слизи крахмала 1 раз в день ежедневно в течение 5 дней в дозе 750 мг/кг массы тела. Таурин вводили в дозе 100 мг/кг массы, а сульфат цинка в дозе 25 мг/кг массы ежедневно внутривентрикулярно, также в течение 5 дней через 30 мин после введения ацетаминофена [5]. Через 24 ч после последнего введения животных декапитировали. В депротеинизированных 0,2 н хлорной кислотой образцах плазмы крови определяли содержание свободных аминокислот [1]. Математическую обработку полученных данных проводили с использованием компьютерных программ из пакета «Statistica».

Результаты и их обсуждение

Курсовое введение ацетаминофена привело к достоверному снижению общего пула свободных аминокислот в плазме крови (табл. 1), что, вероятно, обусловлено усилением утилизации аминокислот в метаболических процессах. При этом соотношение суммарных концентраций заменимых и незаменимых аминокислот практически не изменялось. У животных, получавших ацетаминофен, усиливается образование глутамина (см. табл. 1),

что проявляется достоверным падением концентрации глутаминовой кислоты в плазме крови (соотношение глутамат/глутамин). Как отражение активации процессов биосинтеза белка, можно расценивать снижение в плазме крови уровня метионина (на 22%), лизина (на 16%) и тирозина (на 18%). Одной из причин уменьшения концентрации глицина может быть усиленное использование его в процессах детоксикации в печени. Уменьшение уровня метионина является, вероятно, причиной снижения концентрации его метаболита – таурина на 24%, что, несомненно, находит отражение в реакциях конъюгации желчных кислот и увеличения их токсичности [2, 3, 4].

У животных, которым вводили одновременно ацетаминофен и таурин, сохранялась общая направленность изменений аминокислотного пула плазмы крови (см. табл.1). В данной группе животных также отмечалось уменьшение содержания заменимой аминокислоты глицина и незаменимых – метионина и тирозина. Одновременно у этих животных выявлено падение (на 17%) уровня глутамин в плазме крови. Несмотря на, в целом, меньшую степень обеднения плазменного пула свободных аминокислот, степень аминокислотного дисбаланса была более выражена. Так, помимо сохранения увеличенного соотношения аминокислоты с разветвленной углеродной цепью/ароматические аминокислоты (АРУЦ/ААК), выросли значения коэффициентов глутамат/глутамин (с 0,13 до 0,23) и фенилаланин/тирозин (с 0,80 до 0,94). При этом между уровнями фенилаланина и тирозина отмечалось появление высокодостоверной положительной корреляции ($r=0,95$). Все это говорит о торможении образования тирозина из фенилаланина, что является одним из дополнительных маркеров поражения печеночной ткани. Наряду с этим, обращает на себя внимание наличие положительных корреляций ($r=0,83-0,85$) между содержанием таурина и уровнями АРУЦ, что наблюдалось и при введении ацетаминофена ($r=0,89-0,91$).

У животных, которым вводили помимо ацетаминофена композицию, состоящую из таурина и цинка сульфата, происходит снижение концентраций в плазме крови незаменимых аминокислот лизина (на 23%) и метионина (на 25%). Кроме того, имело место уменьшение уровней заменимых аминокислот глици-

Таблица 1. Концентрация свободных аминокислот и их производных в плазме крови на фоне введения ацетаминофена, таурина и сульфат цинка, мкмоль/л

Показатели	Контроль	Ацетаминофен	Ацетаминофен + таурин	Ацетаминофен + таурин + сульфат цинка	Таурин + сульфат цинка
таурин	302,5 ± 13,8	230,5 ± 17,5*	301,8 ± 54,1	265,2 ± 30,3	241,6 ± 37,5
аспартат	68,9 ± 12,9	89,5 ± 25,3	50,63 ± 5,42†	36,92 ± 1,58‡	80,7 ± 12,4
треонин	336,3 ± 25,5	273,9 ± 26,7	328,3 ± 62,1	288,9 ± 30,8	247,0 ± 25,0*
серин	284,5 ± 13,1	296,8 ± 20,3	344,7 ± 36,8‡	290,3 ± 21,7	224,3 ± 16,1*†
глутамат	130,21 ± 8,90	93,1 ± 10,1*	155,5 ± 19,8†‡	132,07 ± 7,11†	85,75 ± 5,66*
глутамин	817,7 ± 35,4	706,2 ± 51,5	680,3 ± 44,2*	732,0 ± 46,7‡	643,8 ± 39,6*
пролин	382,9 ± 60,4	272,6 ± 27,8	428,9 ± 52,9†‡	350,7 ± 77,0	200,6 ± 19,0
глицин	238,6 ± 11,0	178,6 ± 16,1*	158,1 ± 12,1*‡	174,4 ± 32,8*	225,98 ± 9,41†
аланин	255,12 ± 6,54	240,9 ± 19,4	232,7 ± 23,1	173,5 ± 33,2*	219,9 ± 12,7*
α-аминобутират	24,14 ± 3,16	17,03 ± 1,27	55,5 ± 27,6	20,80 ± 4,78	29,40 ± 6,65
валин	177,75 ± 6,96	158,70 ± 7,33	168,8 ± 30,6	164,85 ± 5,12	153,39 ± 9,91
метионин	53,12 ± 2,57	41,47 ± 2,12*	39,08 ± 4,35*	40,05 ± 3,86*	44,98 ± 2,60
изолейцин	82,79 ± 3,34	71,05 ± 4,67	73,8 ± 12,6	72,62 ± 3,89	75,28 ± 5,26
лейцин	136,20 ± 5,69	117,33 ± 6,68	121,2 ± 24,6	122,77 ± 7,55	118,20 ± 6,95
тирозин	65,38 ± 2,28	53,87 ± 3,41*	52,85 ± 5,74*	59,30 ± 3,69	55,18 ± 4,22*
фенилаланин	55,21 ± 4,65	43,37 ± 4,42	50,16 ± 7,15	44,62 ± 6,32	47,07 ± 2,34
этанолламин	6,873 ± 0,943	9,68 ± 1,60	6,180 ± 0,604	6,232 ± 0,799	10,95 ± 3,48
орнитин	49,24 ± 5,83	52,9 ± 12,6	68,0 ± 30,3	45,59 ± 4,15	37,89 ± 7,00
лизин	381,2 ± 14,4	319,5 ± 17,8*	356,4 ± 62,3	293,8 ± 14,3*‡	372,1 ± 18,8
гистидин	70,09 ± 1,95	69,83 ± 3,96	79,6 ± 13,1	75,98 ± 6,40	56,7 ± 2,93*†

$p < 0,05$ по отношению к: * - контролю; † - группе, получавшей только ацетаминофен; ‡ - группе, получавшей только таурин + сульфат цинка

на (на 27%) и аланина (на 32%) (см. табл.1). Хотя в плазме крови данной группы животных сохранялось сниженным общее содержание аминокислот, но отмечалась положительная динамика в нормализации аминокислотного баланса, а соотношение фенилаланин/тирозин было даже ниже контрольного уровня. Как положительный эффект совместного введения таурина и цинка сульфата на фоне интоксикации ацетаминофеном, вероятно, следует отметить уменьшение коэффициента Фишера (соотношение АРУЦ/ААК) по сравнению со значениями в группе животных, получавших только ацетаминофен, что также свидетельствует об улучшении функции печени (рис. 1).

Для оценки влияния композиции на фонд аминокислот был проведен дискриминантный анализ полученных данных. По значению показателя лямбды Вилкса (0,00399) можно судить о достаточно хорошей дискриминации, а на основании классификационной матрицы можно сделать вывод о 100% корректности обучающих выборок для всех групп, кроме группы «ацетаминофен+таурин+сульфат цинка», где достигнута корректность 83,33%, т.е. реализации были правильно отнесены к исследуемым группам.

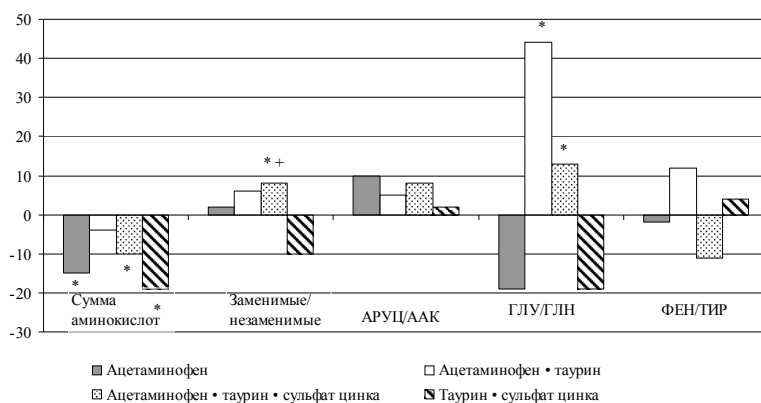


Рис. 1. Структура пула свободных аминокислот плазмы крови
Примечание: * - $p < 0,05$ по отношению к контролю;
+ - к группе, получавшей только ацетаминофен

Проекция пространства показателей на плоскость двух главных компонент показала, что пул изучаемых показателей при введении крысам как таурина, так и ацетаминофена значительно отличается от такового у контрольных животных, причем относительно первого главного компонента их эффекты разнонаправлены.

В то же время область пространства показателей, соответствующая группе животных, получавших на фоне введения ацетаминофена композицию таурина и сульфата цинка, практически полностью совпадает с контрольной группой, что говорит о значительном нормализующем эффекте этого сочетания соединений на фонд свободных аминокислот при интоксикации ацетаминофеном.

Анализируя полученные изменения аминокислотного спектра плазмы крови, а также степень дисбаланса, выявляемого после курсового введения ацетаминофена, важными представляются данные, полученные в группе животных, получавших отдельно таурин и сульфат цинка. Очевидно, что введение данного сочетания препаратов само по себе приводит к обеднению аминокислотного пула плазмы крови. Однако происходит это, в основном, за счет уменьшения количества заменимых аминокислот (серин, глутамат, глутамин, аланин) (см. табл. 1). Данный феномен можно рассматривать как положительное антистрессорное действие, способствующее улучшению энергетических процессов в тканях и усилению процессов биосинтеза белка [4].

Наиболее ярко степень воздействия исследуемых соединений на метаболические процессы в тканях организма, в том числе в печени, характеризуют данные корреляционного анализа между индивидуальными концентрациями свободных аминокислот в плазме крови. Так, в контрольной группе выявлено 38 высокодостоверных (т.е. на уровне достоверности $p < 0,01$) корреляционных связей. Введение ацетаминофена снизило их число до 7, и только корреляция валин–лейцин была общей с контрольной группой. Дополнительное назначение таурина животным, получавшим ацетаминофен, характеризовалось также 38 высокодостоверными корреляционными связями между определяемыми показателями, из них 7 были общими с интактными животными (аспартат–глутамат, аспартат– α -аминобутират, глутамат– α -аминобутират, аланин–фенилаланин, валин–лейцин, валин–фенилаланин, изолейцин–лизин). У животных, которые получали совместно с ацетаминофеном комбинацию, состоящую из таурина и сульфата цинка, число корреляционных связей сокращалось до 1 (треонин– α -аминобутират). О степени воздействия на метаболизм комбинации таурина и сульфата цинка свидетельствует наличие в данной группе животных 7 высокодостоверных корреляционных связей между свободными аминокислотами плазмы крови, из которых только 2 были общими с контрольной группой. Таким образом, данные корреляционного анализа показывают, что наиболее сильное влияние на уровень свободных аминокислот в плазме крови ока-

зывает таурин, добавление же сульфата цинка усиливает действие таурина.

Таким образом, проведенное исследование позволяет сделать следующие **выводы**:

- курсовое введение ацетаминофена в дозе 750 мг/кг массы оказывает выраженное воздействие на пул свободных аминокислот плазмы крови;

- дополнительное введение одного таурина на фоне интоксикации ацетаминофеном не способно полностью нормализовать возникающий аминокислотный дисбаланс;

- использование композиции, состоящей из таурина и сульфата цинка, является наиболее благоприятным в отношении устранения аминокислотного дисбаланса, что характеризуют не только индивидуальные показатели аминокислотного спектра плазмы крови, но и данные корреляционного и дискриминантного анализов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований Беларуси, договор № Б03М-061.

Литература

1. Бенсон Дж. В., Патерсон Дж. А. Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков, Москва. – 1974. – С. 16-64.
2. Моисеенок А.Г., Шейбак В.М., Золотухина С.Ф., Дэкер К. Модель и биохимические механизмы развития гепатита, индуцированного галакто-заменом // Успехи гепатологии. – 1988. – 13. – С. 176-193.
3. Шейбак В.М. Свободные аминокислоты и кофермента А при алкогольной интоксикации. – Гродно. – 1998. – 154 с.
4. Шейбак В.М., Шейбак Л.Н. Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинк-содержащих препаратов. – Гродно. – 2003. – 83 с.
5. Шейбак В.М., Горещкая М.В., Смирнов В.Ю., Лис Р.Е. Композиция для коррекции нарушений функции печени. // Заявка на патент РБ № а 20050673. - 2005.
6. Matsuda H., Kinoshita K., Sumida A. Taurine modulates induction of cytochrome P450 3A4 mRNA by rifampicin in the HepG2 cell line // Biochimica et Biophysica Acta. – 2002. – V.1593. – P. 93-98.
7. Miyazaki T., Karube M., Matsuzaki Y. et al. Taurine inhibits oxidative damage and prevents fibrosis in carbon tetrachloride-induced hepatic fibrosis // J.Hepatol. 2005 – V.43. – P.117-125.
8. Redmond H., Wang J., Bouchier H. Taurine attenuates nitric oxide- and reactive oxygen intermediate-dependent hepatocytes injury // Arch. Surg. – 1996. – V.131. – P. 1280-1288.
9. Waters E., Wang J., Redmond H. Role of taurine in preventing acetaminophen-induced hepatic injury in the rat // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2001. – V.280. – P. G1274-1279.

Resume

FREE AMINO ACIDS OF RAT BLOOD PLASMA AFTER THE ACETAMINOPHEN-INDUCED LIVER DAMAGE AND ADMINISTRATION OF TAURINE OR COMPOSITION CONSISTING OF TAURINE AND ZINC SULPHATE

Sheibak V.M., Haretskaya M.V., Smirnov V.Yu., Dmitriev A.L.

Grodno State Medical University

Intragastric administration of acetaminophen (once a day, 5 days, total dose 750 mg/kg body weight) resulted in the significant decrease in free amino acid pool in the plasma. In animals with simultaneous administration of acetaminophen and taurine the degree of disturbance in plasma amino acid pool was more prominent. Rats that in addition to acetaminophen received the composition of taurine and zinc sulphate also showed the decreased amino acid levels, but with more normal amino acid balance.

Поступила 26.04.06