

Лечение гипераммонемического синдрома при заболеваниях печени аммиакснижающими средствами

**Ж.А. Паронян, Н.В. Кочарян, Г.А. Туршян, К.Г. Гаспарян,
Г.В. Априкян**

*Институт биохимии им. Г.Х.Бунятына НАН РА
0014, Ереван, ул.П.Севака, 5/1*

Ключевые слова: печёночная энцефалопатия, гипераммонемия, синтез мочевины

При заболеваниях печени и желудочно-кишечного тракта происходит накопление аммиака, что оказывает токсическое действие на организм и может стать причиной развития энцефалопатии [24]. Около 30% больных умирает от интоксикации и развития коматозного состояния. Несмотря на заметный успех в лечении указанных заболеваний, многие вопросы остаются ещё нерешёнными.

Исследования, проведенные на животных и больных с печёночными заболеваниями, осложнёнными энцефалопатией, в целом, показали, что дипептид орнитин-аспартат (ОА) даёт выраженный лечебный эффект [21, 29, 34]. Хороший эффект даёт L-орнитин с фенилацетатом. Орнитин, кроме стимулирования мочевинообразования, в отличие от глутаминовой кислоты (ГК), легко проникает в мышечную ткань, где превращается в ГК, затем обезвреживая аммиак – в глутамин, который с фенилацетатом образует фенилацетилглутамин и удаляется с мочой [9, 16]. Эффективность нестероидных противовоспалительных препаратов сводится к ингибированию биосинтеза простагландинов – ингибиторов медиаторов воспаления, накоплению их в воспалённых тканях с проявлением локализованного эффекта [7]. Положительный эффект даёт неадсорбируемый в кишечнике дисахарид лактулоза, который, проходя через кишечник без переваривания, разлагается с образованием различных органических кислот, снижая рН содержимого кишечника. Последние оказывают бактериостатическое и слабительное действие [14, 25] и снижают содержание аммиака. С той же целью используют неадсорбируемые антимикробные средства: неомицин, метранидазол, ванкомицин,

рифаксимин [24, 28], которые подавляют рост микробов в кишечнике, снижая продукцию аммиака и других токсических веществ микробного происхождения. Антимикробные средства, в частности рифаксимин с лактулозой, дают хороший аммиакснижающий эффект [31].

Ацетил-L-карнитин и L-карнитин восстанавливают сниженный уровень АТФ через усиление активности электронтранспортной цепи, тем самым стимулируя синтез глутамина и мочевины [19, 25]. Гранулированный сферический углерод AST-120, не всасываясь через кишечник, адсорбирует аммиак и другие токсические продукты микробного происхождения, являясь ещё одним средством обезвреживания аммиака при лечении заболеваний печени и энцефалопатии [5]. Особенно следует остановиться на роли промежуточных продуктов цикла мочевинообразования в обезвреживании токсических количеств аммиака. Аргинин, являясь источником мочевины, стимулирует её синтез через образование орнитина [4, 27]. Положительный эффект ГК объясняется не только её участием в образовании глутамина, но и её превращением в ацетилглутамат [4]. Аргинин и орнитин меньше чем цитруллин стимулируют синтез мочевины [26]. Следует иметь в виду, что образование из аргинина мочевины и креатина в 200 и 8 раз больше, чем NO [20].

Представляет интерес тот факт, что гинсенозид, основная составная часть широкоизвестного женьшеня усиливает экспрессию индуцибельной NO синтазы (iNOS), т.е. систему NO/iNOS [35]. В свою очередь NO регулирует митохондриальное дыхание и клеточную функцию через обратимое ингибирование цитохром оксидазы; это указывает на то, что NO не повреждает митохондрии [6]. Примечательно, что при сильных физических упражнениях у людей происходит утечка креатинкиназы из скелетных мышц в плазму крови, а под действием женьшеня этот процесс подавляется, в результате чего продукция АТФ повышается с восстановлением энергообеспечения мышечной ткани [15].

При сочетании терапевтических средств, например L-орнитина с фенилацетатом, лечебное действие возрастает, проявляется эффект синергизма [9]. В последнее время стали с успехом использовать растительные препараты при лечении заболеваний, связанных с гипераммонемической интоксикацией [3, 12, 33].

В настоящей работе мы, в отличие от других исследователей [30], сделали попытку использовать аминокислотную смесь с применением меньшего числа аминокислот и их различные сочетания для

достижения сравнительно большего эффекта на пути снижения токсических количеств аммиака путём усиления синтеза мочевины.

Материал и методы

Опыты были поставлены на половозрелых белых крысах популяции Вистар массой 130-150 г. Чтобы вызвать гипераммонемия, животным дважды в/б вводили 3 мМ/кг NH_4Cl с интервалом 7 мин. Спустя 7 мин в/б вводили смесь аминокислот из расчёта на 100 г живого веса: ГК – 70 мг, аспарагиновую кислоту (АК) – 7 мг, орнитин – 8 мг, цитруллин – 4 мг и сукцинат – 40 мг. Через 15 мин после введения указанной смеси животных обезглавливали и в печени определяли аммиак и мочевину уреазным методом [22]. Контрольным животным вместо NH_4Cl и смеси аминокислот вводили физиологический раствор. Белок определяли по Лоури и сотр. [18]. Указанные реактивы были приобретены из Sigma Chemical Company, остальные являлись коммерческими.

Результаты и обсуждение

В прежних исследованиях для снижения токсических количеств аммиака при заболеваниях, сопровождающихся гипераммонемией, был в/б использован набор из 20 аминокислот [30], который не исключает возникновения побочных эффектов. Исходя из этого, мы в *in vitro* экспериментах в прошлом использовали набор из четырёх аминокислот: ГК, АК, орнитин и цитруллин, который оказывал выраженный аммиакснижающий эффект. Этот эффект значительно стимулировался при добавлении к реакционной среде АТФ [1].

Для *in vivo* экспериментов в настоящей работе мы несколько изменили прежний состав аминокислотного набора из четырёх аминокислот [1]. Проведенные нами исследования показали, что после в/б введения

3 мМ NH_4Cl содержание аммиака по сравнению с контролем в печени увеличивается на 95,62%. Через 15 мин после введения нашего аминокислотного набора с сукцинатом по сравнению с NH_4Cl содержание аммиака снижается на 25,69% (табл.1). В аналогичных условиях содержание мочевины в печени увеличивается на 24,38% (табл.2). В этой серии экспериментов введение NH_4Cl приводило к выраженному снижению содержания мочевины по сравнению с контролем, что

отмечалось в наших прежних исследованиях [1], причину которого предстоит выяснить.

Таблица 1

Влияние аминокислотной смеси (АКС) и сукцината на содержание аммиака (γ N/100 мг белка) в условиях гипераммонемии в опытах *in vivo**

Контроль	NH ₄ Cl	Разница	NH ₄ Cl + АКС + сукцинат	Разница
48,66±1,47 (4)	95,19±1,68 (8)	+95,62% *P ₁ <0,001	70,74±0,88 (7)	-25,69% P ₂ <0,001

* АКС:ГК, АК, орнитин + цитруллин

** Здесь и в последующих таблицах: P₁ – по сравнению с контролем, P₂ – по сравнению с NH₄Cl

Таблица 2

*Влияние АКС и сукцината на синтез мочевины (γ N/100 мг белка) при гипераммонемии в опытах *in vivo**

Контроль	NH ₄ Cl	Разница	NH ₄ Cl + АКС + сукцинат	Разница
78,59±5,76 (4)	58,02±0,19 (7)	-26,27% P ₁ <0,001	72,17±1,44 (7)	+24,38% P ₂ <0,001

В следующей серии экспериментов мы изучили влияние аргинина на снижение аммиака при гипераммонемии. Исследования показали, что в/б введение аргинина в количестве 25 и 50 мг/100 г выраженно снижает количество аммиака при гипераммонемии (табл.3), что расходуется для синтеза мочевины (табл.4).

Таблица 3

*Влияние аргинина на содержание аммиака (γ N/100 мг белка) при гипераммонемии в опытах *in vivo**

NH ₄ Cl	NH ₄ Cl + аргинин 25 мг	Разница	NH ₄ Cl + аргинин 50 мг	Разница
--------------------	---------------------------------------	---------	---------------------------------------	---------

78,64±0,73 (8)	62,99±1,63 (8)	-19,9% P1<0,001	60,94±1,88 (8)	-22,5% P2<0,001
-------------------	-------------------	--------------------	-------------------	--------------------

Таблица 4

*Влияние аргинина на содержание мочевины (γ N/100 мг белка)
при гипераммонемии в опытах *in vivo**

NH ₄ Cl	NH ₄ Cl + аргинин 25 мг	Разница	NH ₄ Cl + аргинин 50 мг	Разница
72,29±3,98 (8)	110,82±1,5 (8)	+53,3% P1<0,001	128,19±0,16 (8)	+77,33% P2<0,001

Проведенные нами исследования показали, что подобранный нами набор аминокислот оказался перспективным для применения с целью снижения токсических количеств аммиака и стимулирования синтеза мочевины и, вероятно, глутамина при гипераммонемическом синдроме. Эффект данной смеси может значительно усиливаться при её сочетании с АТФ [1], а также со средствами, стимулирующими энергетический обмен с образованием АТФ, таких как карнитин [19] и ацетил карнитин [25]. Эффект указанной смеси аминокислот может усиливаться при сочетании её с растительными средствами, стимулирующими образование NO, таких как женьшень [35], а также с растительными препаратами, оказывающими аммиакснижающий эффект при гипераммонемическом синдроме [3, 12, 33]. Подобный эффект можно получить и при использовании ингибиторов синтеза простагландинов, в том числе нестероидных противовоспалительных препаратов [7], неадсорбируемого в кишечнике дисахарида лактулозы и неадсорбируемых антимикробных средств [14, 23, 24, 28].

Для изучения влияния различных средств с целью снижения токсических количеств аммиака в острых и хронических экспериментах гипераммонемии вызывают введением аммоний ацетата и аммоний хлорида [2, 12, 33], а также использованием тиацетамида [10, 13, 21, 32], CCl₄ [17], парацетамола [11] и др.

Результаты наших исследований показали, что подобранный нами набор из четырёх аминокислот является перспективным и может использоваться в клинической практике для лечения

гипераммонемических состояний при заболеваниях печени и их энцефалопатических осложнений.

Поступила 26.09.11

Գերամոնիակային համախտանիշի բուժումը լյարդի հիվանդությունների ժամանակ ամոնիակ իջեցնող միջոցներով

**Ժ.Ա. Պարոնյան, Ն.Վ. Քոչարյան, Գ.Հ. Թուրշյան, Կ.Գ. Գասպարյան,
Գ.Վ. Ապրիկյան**

Լյարդի և ստամոքսաղիքային մի շարք հիվանդությունների ժամանակ տեղի է ունենում ամոնիակի թունավոր քանակների կուտակում, որը չեզոքացման ուղիների ամոնիակի խանգարման հետևանքն է: Առաջարկված են մի շարք միջոցներ այդ ուղիների ակտիվացման և, հետևաբար, ամոնիակի թունավոր քանակների վնասազերծման համար: Ներկայումս փորձ է կատարվում՝ բուժման արդյունավետությունը բարձրացնելու նպատակով որոնել նոր ուղիներ: Հեղինակների կողմից առաջարկվում է սադաթոլից և 4 ամինաթթուներից (գլուտամինաթթու, ասպարազինաթթու, օրնիտին, ցիտրուլին) կազմված խառնուրդ, որը՝ այլ միջոցների հետ զուգորդված, կբարձրացնի բուժման արդյունավետությունը և կարող է կիրառվել որպես բուժամիջոց:

Treatment of hyperammonemic syndrome in liver failure by ammonia-lowering compounds

**Zh.A. Paronian, N.V. Kocharian, G.H. Turshian, K.G. Gasparyan,
G.V. Aprikian**

Liver failure leads to accumulation of toxic amounts of ammonia which is the result of disturbance of its detoxication. At present there are offered different means for neutralization of toxic amounts of ammonia including ornitin-aspartat, ornitin, citrulline, ornitine with phenylacetate etc.

The authors suggest a mixture containing 4 amino acids (glutamic acid, aspartic acid, ornitine, citrulline) and succinate, which expresses good ammonia-lowering effect. Combination of this mixture with other known substances may be more effective for its application in clinical practice.

Литература

1. *Паронян Ж.А., Кочарян Н.В., Туршян Г.А., Априкян Г.В.* Мед. наука Армении НАН РА, 2010, т. L,4, с.17-27.
2. *Azarin I., Minana M.D., Felipo V., Grisolia S.* Hepatology, 1989, 10(3), p.311-314.
3. *Avraham Y., Grigoriadis N.C., Poutahidis T. et al.* British J.Pharmacol., 2011, 162(7), p.1650-1658.
4. *Bessman S.P., Sheila Shear B.A., Fitzgerald J.N.* Engl J. Med., 1957, 256, p.941-943.
5. *Bosoi C.R., Parent-Robitaille C., Anderson K., Tremblay M., Rose C.Y.* Hepatol., 2011, 53(6), p. 1995-2002.
6. *Brown G.C.* FEBS 1995, 369(2-3), p.136-139.
7. *Brune K., Glatt M., Graf P.* General Pharmacology, 1976, 7(1), p.27-33.
8. *Butterworth R.F.* Hepatology Research, 2008, 38 Issue, Suppl. S1, p.S116-S121.
9. *Davies N.A., Wright G., Ytrebiu L. et al.* Hepatology, 2009, 50(1), p.154-161.
10. *Demirel U., Harputoglu M.M.M., Seckin Y. et al.* Human and Exp. Toxicology, 2011, 30(7), p.560-566.
11. *Durairaj A., Vaiyapuri Th.S., Kanti M.U., Malaya G.* Iranian Journal Pharmacology and Therapeutics, 2008, 7, p.83-89.
12. *Essa M.M., Ali A.A., Waly M.I. et al.* Internat. J. Biol. and Med. Research, 2010, 1(3), p.71-73.
13. *Harputluoglu M.M.M., Demirel U., Ciralik H. et al.* Hum. Exp. Toxicol., 2006, 25, p.705-713.
14. *Haussinger D.* Acta Gastroenterologica Belgica, 2010, 73(4), p.457-464.
15. *Hsu Ch. Ch., Ho M.Ch, Lin L. Ch. et al.* World J. Gastroenterol., 2005, 11(34), p.5327-5331.
16. *Jalan R., Wright G., Davies N.A., Hodges S.J.* Medical Hypothesis, 2007, 69(5), p.1064-1069.
17. *Karadeniz A., Yildirim A., Celebi F.* At University Vet. Bil. Derg., 2007, 2(3), p.117-121.
18. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* J. Biol. Chem., 1951, 193, p.265-267.
19. *Malaguamera M., Giovanni P., Rampello E. et al.* World Gastroenterol., 2005, 11(45), p.7197-7202.
20. *Morris S.M.* Vascular Medicine 2005, 10, S-83-S 87.
21. *Najmi A.K., Pillai K.K., Pal S.N. et al.* Indian J.Pharmacology, 2010, 42(6), p.384-387.
22. *Okuda H., Fugii S., Kawashima Y., Tokushima J.* Experim. Medicine, 1965, 12(1), p.11-23.
23. *Poo G.L., Gongora J., Avila F.S.* Annals of Hepatology, 2006, 5(4), p.281-288.
24. *Phongsamran P.V., Kim J.W., Jenifer C.A., Rosenblatt A.* Drugs, 2010, 70(9), p.1131-1148.
25. *Qureshi K., Rao K.V.R., Qureshi I.A.* Neurochem. Res., 1998, 23(6), p.855-861.
26. *Rajantie J., Simell D., Perheentupa J.* Metabolism, 1983, 32(1), p.49-51.
27. *Reynolds T.B., Redeker A.G., Davis P.* American J. Med., 1958 25(3), p.359-367.
28. *Riggio O., Ridola L., Pascale Ch.* World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther., 2010, 1(2), p.54-63.
29. *Soarez P.C., Oliveira A.C., Padoven J. et al.* Arg. Gastroenterol., 2009, 46(3), p.241-247.
30. *Stewart P.M., Walser M. J.* Biol. Chem., 1980, 255, p.5270-5280.
31. *Thompson J.R., Pharm. D.* Pharmacotherapy, 2001, 21(10), p.1157-1158.

32. *Tunon M.J., Alvarez M., Culebras J.M., Gonzalez-Gallego J.* World J. Gastroenterol., 2009, 15(25), p.3086-3098.
33. *Vijayakumar N., Subramanian P.J.* Herbal Medicine and Toxicology, 2010, 4(2), p.77-82.
34. *Wright G., Noiret L., Steven W.M. et al.* Liver International, 2011, 31(2), p.163-175.
35. *Zhang D., Zhang C., Liu J., Hu S.* Nutrition Research, 2006, 25(11), p.585-590.