

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИИ АМИНОКИСЛОТ С ЦИНКОМ И МАГНИЕМ НА ЭЛЕМЕНТНЫЙ СОСТАВ КРОВИ, СЕРДЦА И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ФУНКЦИИ МИТОХОНДРИЙ СЕРДЦА ПРИ ТЯЖЁЛОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

*Е.Г. Бадун, А.В. Шуриберко, Е.О. Казинец, А.С. Черемисин,
Ю.Е. Разводовский, О.Е. Кузнецов*

РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси», г. Гродно, Беларусь

EFFECTS OF AMINO ACID COMBINATION WITH ZINC AND MAGNESIUM ON TRACE ELEMENTAL STATUS OF BLOOD, HEART AND CARDIAC MITOCHONDRIAL BIOENERGETICS IN ACUTE ALCOHOL INTOXICATION

*E.G. Badun, A.V. Shuriberko, E.O. Kazinets,
A.S. Cheremisin, Y.E. Razvodovsky, A.E. Kuzniatsov*

Institute of Biochemistry of Biologically Active
Compounds of the National Academy of Sciences
of Belarus, Grodno, Belarus

Сведения об авторах:

Бадун Елена Генриховна (SPIN-код: 4984-8857, AuthorID: 1156834). Место работы: Сектор молекулярной биологии РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси». Адрес: Республика Беларусь, г. Гродно, пл. Антония Тызенгауза, 7.

Шуриберко Алексей Владимирович (SPIN-код: 6620-9130, AuthorID: 1120240). Место работы и должность: заведующий сектором молекулярной генетики отдела медико-биологических проблем алкоголизма РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси». Адрес: Республика Беларусь, г. Гродно, пл. Антония Тызенгауза, 7. Электронная почта: shuriberko@ibiochemistry.by

Казинец Екатерина Александровна – учёный секретарь Совета молодых учёных РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси». Адрес: Республика Беларусь, г. Гродно, пл. Антония Тызенгауза, 7. Электронная почта: ekaterina.lichick@mail.ru

Разводовский Юрий Евгеньевич – к.м.н. (SPIN-код: 3373-3879; ResearcherID T-8445-2017; ORCID iD: 0000-0001-7185-380X). Место работы и должность: заведующий отделом медико-биологических проблем алкоголизма РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси». Адрес: Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Бульвар Ленинского Комсомола, 50. Электронная почта: razvodovsky@tut.by

Кузнецов Олег Евгеньевич – к.б.н., доцент (SPIN-код: 7328-0522; AuthorID: 783316). Место работы и должность: директор РНИУП «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси». Адрес: Республика Беларусь, г. Гродно, пл. Антония Тызенгауза, 7.

Изучено влияние комбинации L-глутамина и L-аргинина в комплексе с цинком и магнием при тяжёлой алкогольной интоксикации (ТАИ). Выявлены изменения энергетических функций митохондрий сердца, сопровождающиеся снижением активности ферментов цикла Кребса (малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа), общего мембранного потенциала и его отклика на аденозиндифосфат на фоне ТАИ. Установлено, что на фоне ТАИ происходит нарушение элементного гомеостаза в крови, плазме и ткани сердца, что сопровождается снижением концентрации цинка в плазме и сердце, увеличением количества меди во всех исследуемых образцах (кровь, плазма, ткань сердца), снижением железа в крови и сердце, увеличением молибдена в крови и плазме. Показано, что введение исследуемой композиции на фоне ТАИ предупреждало сдвиги биохимических показателей и восстанавливало минеральный гомеостаз в цельной крови и сердечной мышце. Полученные данные свидетельствуют об эффективности экспериментальной композиции L-глутамина и L-аргинина в комплексе с цинком и магнием при ТАИ.

Ключевые слова: макро- и микроэлементы, алкогольная интоксикация, сердце, митохондрии, аминокислоты

Макро- и микроэлементы играют особую роль в функционировании всех физиологических систем организма. При оценке микроэlementного статуса важно учитывать

избирательность распределения химических элементов среди органов и тканей. Алкогольная интоксикация нарушает электролитный баланс и уровень химических элементов в крови и тканях [1]. Особое влияние этанол оказывает на сердечно-сосудистую систему. Промежуточный метаболит этанола – ацетальдегид, повреждает сердце, вызывая дисфункцию его митохондрий, окислительное повреждение, нарушение работы кальциевых каналов и, как следствие, инициирует апоптоз миоцитов [2]. Проведенные ранее исследования выявили механизмы, посредством которых повышенный уровень ряда метаболитов этанола оказывает негативное воздействие на сердечно-сосудистую систему, включая усиление окислительного стресса, снижение доступности оксида азота [3].

Из-за высоких энергетических потребностей сердца, функционирование его митохондрий имеет решающее значение для поддержания нормальной сердечной функции [4]. Сердце имеет самое высокое потребление кислорода среди всех тканей организма, и 90% его энергетических потребностей удовлетворяются за счёт митохондриального окислительного фосфорилирования [5]. Сердечная недостаточность часто сопровождается изменением активности ферментов, участвующих в окислительном фосфорилировании, основном клеточном биоэнергетическом пути при синтезе АТФ. Токсическое влияние алкоголя на митохондрии чаще всего опосредовано окислительными повреждениями, приводящим к повреждению митохондриальной ДНК [6]. Поскольку митохондриальная ДНК содержит информацию о многих компонентах митохондриальных респираторных белков, повреждение митохондриальной ДНК, впоследствии, приводит к дефектам нарушению клеточного дыхания [7]. Ацетальдегид снижает синтез белков миокарда и ингибирует активируемую кальцием миофибрилярную АТФазу [8]. Другой механизм токсичности включает ингибирование дыхательной цепи путём нарушения функции различных ферментов цикла Кребса. Сочетание различных токсических эффектов приводит к снижению сократительной функции желудочков [9].

Микроэлементы являются важными компонентами в тканевом, клеточном и митохондриальном метаболизме [10]. Обладая каталитическими и структурными функциями, многие микроэлементы содержатся в активном центре ферментов и являются коактиваторами ферментных системы, кроме того, одни элементы способны влиять на обмен других микро- и макроэлементов. Воздействие алкоголя вызывает сдвиги минерального гомеостаза в клетке, что может приводить к нарушению биологических функций ферментов. Важным аспектом в равновесии микроэлементов является система транспорта ионов металлов в клетку. Перенос электролитов через клеточную мембрану осуществляется через ионные каналы, с помощью белков-переносчиков. Дефекты в работе механизмов белков-транспортеров ассоциируются с различными заболеваниями (цирроз печени, кардиомиопатия) [11, 12, 13].

Употребление алкоголя приводит к дисбалансу нутриентов, сопровождающееся нарушением метаболических процессов организма, нарушая обмена белков и аминокислот. Одним из наиболее перспективных направлений в области разработки корректирующих препаратов при алкогольной интоксикации является разработка новых комплексов, содержащих аминокислоты и их производные [14, 15, 16]. Исследования эффектов аминокислот, в частности L-глутамина и L-аргинина, указывают на их способность снижать многочисленные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний [17, 18]. Использование ионов элементов (Zn, Mg) в составе изучаемого препарата предполагает протективные эффекты при токсическом действии метаболитов этанола и сокращении продолжительности периода восстановления [19].

Таким образом, имеющиеся в литературе данные результатов исследования биохимических показателей, указывают на связь между традиционными факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний, метаболическим синдромом и алкогольной интоксикацией. На основании вышесказанного, исследованы защитные эффекты комбина-

ции L-глутамина, L-аргинина гидрохлорида с сульфатом цинка и магния при ТАИ.

Цель исследования – оценить влияние аминокислот (глутамина, аргинина) в комплексе с цинком и магнием на энергетические функции митохондрий кардиомиоцитов, а также элементный состав крови и сердца при тяжёлой алкогольной интоксикации.

Материалы и методы.

Исследование выполнено на белых беспородных крысах-самцах породы Вистар с исходной массой тела $265,0 \pm 5,0$ г, содержащихся на стандартном рационе питания вивария (Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси).

Животные разделены на 3 экспериментальные группы: I – контрольная группа: получала воду в эквивалентных количествах; II – группа тяжёлая алкогольная интоксикация: модель ТАИ по Majchrowicz с модификацией метода (на протяжении 5,5 суток с интервалом 12 часов животным внутривенно вводили 25%-й водный раствор этанола в дозе 5 г/кг) [20]; III – группа: на фоне ТАИ дополнительно (1 раз в 24 часа) интрагастрально вводили композицию следующего состава: L-глутамина и L-аргинина гидрохлорида в дозе по 250 мг/кг каждого, семиводный сульфат цинка 15,4 мг/кг, безводный сульфат магния 62 мг/кг.

Исследование проведено в соответствии с Международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с использованием животных, принятыми Международным советом научных обществ (CIOMS) в 1985 г., со ст. XI Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации и правилами лабораторной практики.

После выведения животных из эксперимента путём декапитации (через 12 часов после последнего введения растворов этанола и исследуемой композиции), осуществляемой под эфирным наркозом, выполняли забор проб тканей (сердце) и крови для биохимического исследования.

Плазма крови получена путём центрифугирования гепаринизированной крови (20 ЕД гепарина на 2,0 мл крови) при 4°C (3000g в течение 15 минут) при помощи центрифуги UniCen HR (Herolab, Германия).

Гомогенат сердца готовили на 0,1M КФБ pH-7.4 в соотношении ткань-буфер 1:9 используя гомогенизатор ткани Поттер-Элвехджема. Определение активности ферментов (креатинкиназа – КК, щелочная фосфатаза – ЩФ), концентрации креатинина, мочевины, мочевой кислоты выполнено при помощи наборов реагентов производства «Арвитмедикл» (Беларусь) согласно инструкции производителя, на спектрофотометре Cary-100 Scan (Varian, Австрия).

Постмитохондриальную фракцию получали центрифугированием гомогената 10 мин при 15000 g. Митохондрии сердца выделяли методом стандартного дифференциального центрифугирования в среде 0,25M сахарозы, 1 mM ЭГТА, 10 mM HEPES [21], гомогенизацию ткани вели в этой же среде с использованием гомогенизатора стеклотефлон. Активность I-комплекса электрон-транспортной цепи определяли по ранее описанному методу [22] и выражали в мкмоль НАДН×мин/мг белка. Малатдегидрогеназу определяли по наработке НАДН в присутствии малата, активность выражали в мкмоль НАД×мин/мг белка [23]. Исоцитратдегидрогеназу по наработке НАДФН в присутствии изцитрата [24]. Митохондриальную аконитазу в присутствии цитрата и последующей реакции образованного изоцитрата с 10Е изоцитратдегидрогеназы и НАДФ, активность приводили к мкмоль НАДФ×мин/мг белка [25]. Мембранный потенциал определяли при помощи проникающего флуоресцентного зонда сафранин О по методу Akerman, Wikström, использовали 300 мкг/мл митохондриального белка, температура инкубации 28°C, на спектрофлуориметре «PerkinElmer LS 55» (США) [26]. Респираторную активность митохондрий измеряли на полярографе «Oxytherm», Hansatech Instruments (Великобритания), среда инкубации состава 0,125 M сахарозы, 0,02 M HEPES, 0,05 M KCl, 1 mM ЭГТА, 20 mM KH₂PO₄, 3 mM MgCl₂, pH 7,4, 0,25 мг/мл митохондриального белка, температура инкубации 28°C. Измерение концентрации белка в пробах определяли по методу Bradford [27] с использованием БСА в качестве стандарта.

Биохимические показатели в плазме крови крыс и гомогенате сердца при ТАИ и ТАИ на фоне введения препарата

Показатели	Группа I (контроль)	Группа II (этанол 20%)	Группа III (этанол 20%, препарат)
Плазма крови			
Креатинин, мкмоль/л	196,54±6,66	167,90±6,14**	209,23± 4,17## p ₍₂₋₃₎ < 0,01
Креатинкиназа, Е/л	806,78±41,39	1229,36±133,34	875,65±99,84
Щелочная фосфатаза, Е/л	393,12±53,18	201,09±16,89**	207,55±13,60
Мочевина, ммоль/л	5,57±0,25	3,88±0,15**	4,58±0,2## p ₍₁₋₂₎ < 0,05
Мочевая кислота, мкмоль/л	4,37±0,08	5,14±0,23**	4,49±0,09#
Постмитохондриальная фракция 9% гомогената сердца			
Креатинин, мкмоль/л	32,20±0,57	30,70±0,41*	30,24±0,56#
Креатинкиназа, Е/л	554,76±19,25	484,60±10,46*	527,93±18,15##

Примечание: * p<0,05 в сравнении с группой контроля; ** p<0,01 в сравнении с группой контроля; # p<0,05 по сравнению с группой II; ## p < 0,01 по сравнению с группой II

Определение концентрации макро- и микроэлементов проводили на масс-спектрометре с индуктивно-связанной (аргоновой) плазмой на приборе «PerkinElmer NexION2000B» (США). Образцы тканей (100мкл (мг)) обрабатывали 0,5 мл смесью (3:1) 70% HNO₃ и 30% H₂O₂, 90 минут при 90°C, после чего раствор доводили деионизированной водой до 2,5 мл.

Статистическую обработку полученных результатов проводили, вычисляя среднее арифметическое (M), ошибку среднего значения (m), представляя в виде M±m. В случае различий данных непараметрического распределения использовали дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса. Различием между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, значимыми считали результаты при p<0,05, p<0,01. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r). Экспериментальные данные обрабатывали с помощью программ, StatSoft STATISTICA 13.0, GraphPad Prism 6, Microsoft Excel 2016.

Результаты и их обсуждение.

По результатам исследования выявлено, что ТАИ сопровождается изменениями ряда показателей в плазме крови. Установлено

достоверное снижение активности ЩФ на 48,8% и уровня креатинина на 14,6% (p<0,01) (табл. 1).

Отмеченное в плазме уменьшение концентрации креатинина с одновременной тенденцией увеличения на 52,4% КК может являться следствием развивающихся процессов миопатии и недостаточности мышечных высокоэнергетических фосфатов.

Введение композиции аминокислот с цинком и магнием нормализовало активность КК в плазме и вернуло уровень креатинина к контрольным значениям, что частично объяснимо использованием аргинина в предлагаемой композиции, который является субстратом для синтеза фосфокреатинина.

Применение этанола в экспериментальной модели с последующей его отменой через 12 часов вызвала снижение концентрации мочевины в плазме на 30,3% (p<0,01), применение исследуемого комплекса аминокислот и микроэлементов возвращало данный показатель к контрольным значениям. Снижение концентрации мочевины в крови при потреблении алкоголя, вероятнее всего связано с истощением НАД⁺ [28], так как последний требуется при окислительном дезаминировании аминокислот. Таким образом, уменьшается количество субстрата для цикла мочевины.

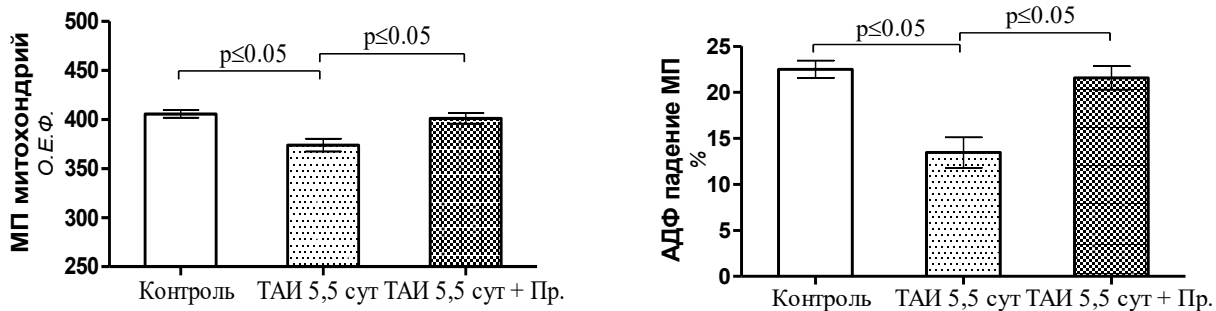


Рис. 1. Мембранный потенциал митохондрий кардиомиоцитов сердца животных при ТАИ.

В плазме потребляющих этанол крыс установлено увеличение содержания мочевой кислоты на 17,6% ($p < 0,01$), которое может быть связано с ускоренной деградацией адениновых нуклеотидов под воздействием этанола [29]. Применение на фоне внутрижелудочного введения этанола комбинации аминокислот с солями цинка и магния нормализовало уровень, как мочевины, так и мочевой кислоты.

Подтверждающим фактом развития миопатии (кардиомиопатии) и энергетической недостаточности в условиях ТАИ, являлось снижение активности КК в миокарде (на 12,6%, $p < 0,05$).

Функциональное состояние митохондрий является определяющим в биоэнергетическом статусе. Из представленных данных (рис. 1) следует выделить снижение в группе ТАИ общего мембранного потенциала митохондрий миокарда на 7,8% ($p < 0,05$) и снижение его отклика на АДФ на 40,2% ($p < 0,05$).

Снижение реакции митохондрий на добавление АДФ свидетельствует о дисфункции митохондриальных систем и падением скорости работы АТФсинтазы, что может выражаться в недостаточной скорости синтеза АТФ. Внутрижелудочное введение композиции на фоне ТАИ нивелировало разницу данных параметров относительно контроля.

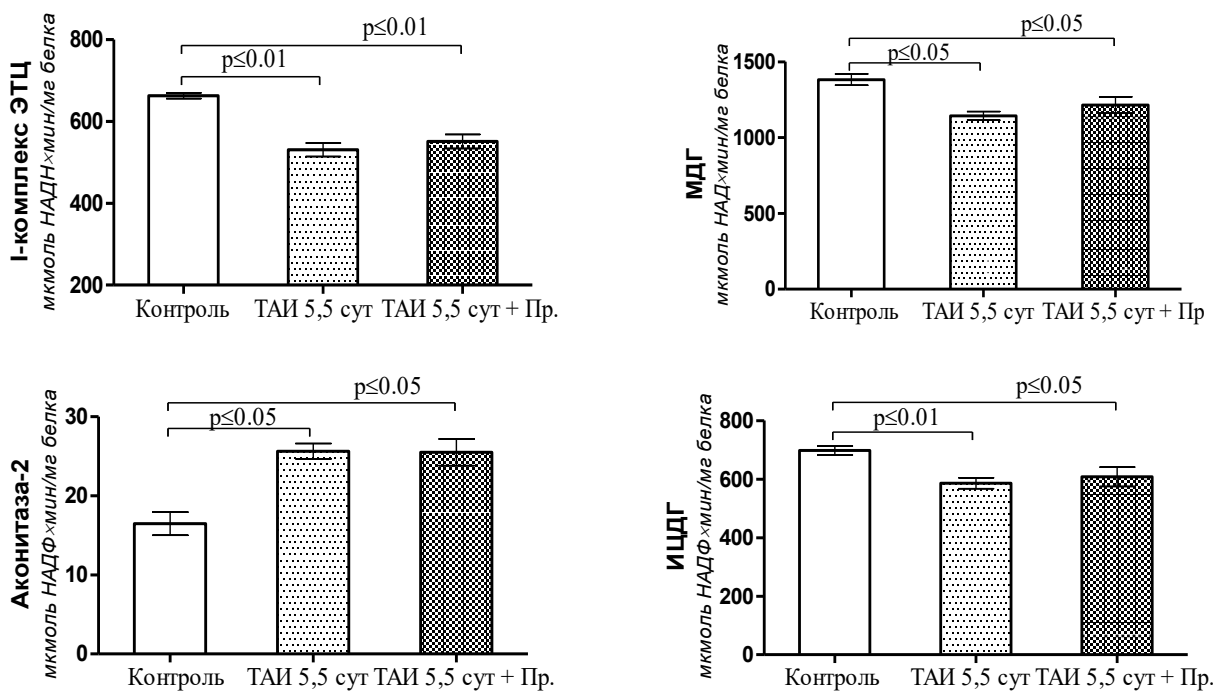


Рис. 2. Активность I-комплекса электрон-транспортной цепи, малатдегидрогеназы, аконитазы-2, изоцитратдегидрогеназы митохондрий сердца при ТАИ.

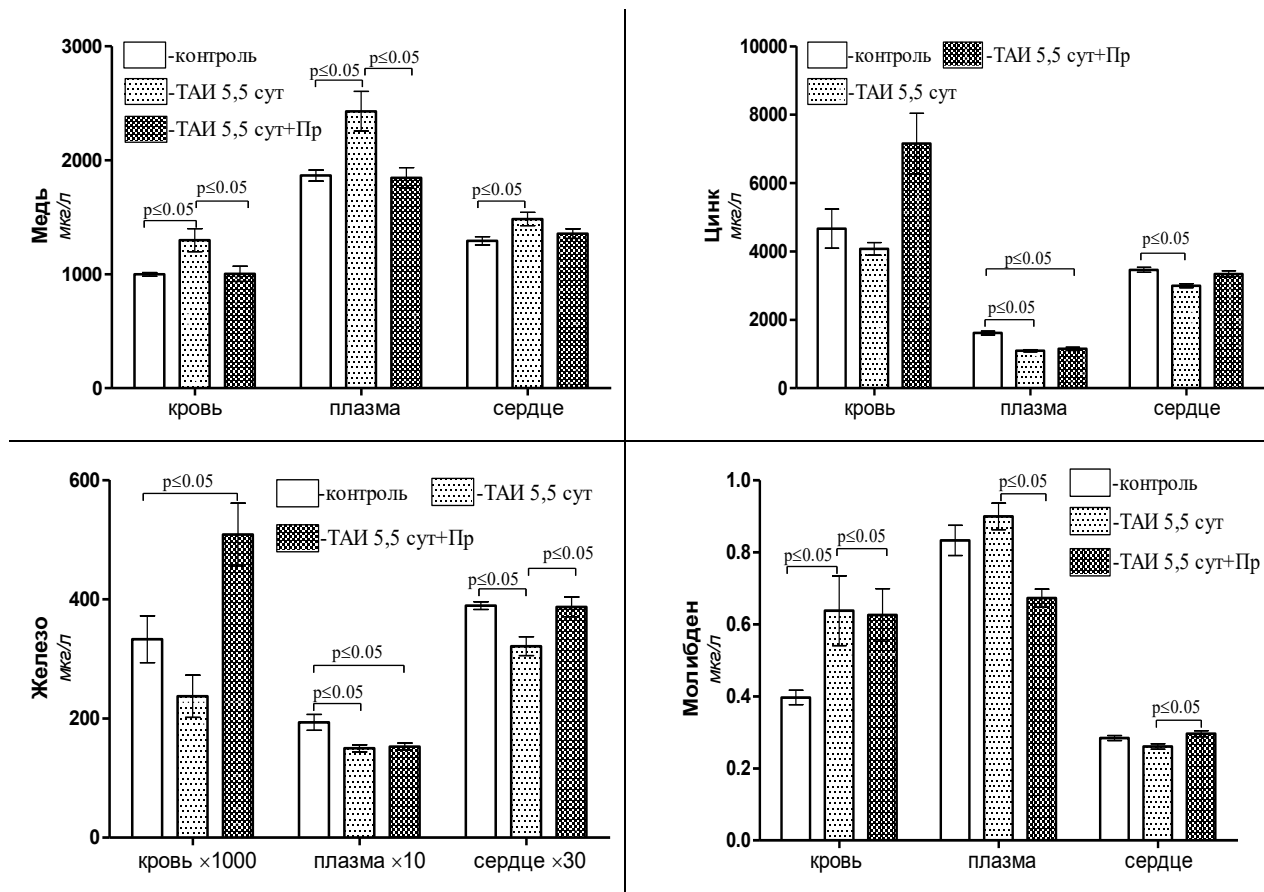


Рис. 3. Уровни меди, цинка, железа, молибдена в цельной крови и ткани сердечной мышцы крыс контрольных животных, при ТАИ и ТАИ на фоне введения композиции аминокислот с цинком и магнием.

Анализ респираторной активности митохондрий кардиомиоцитов в данном эксперименте не выявил достоверных изменений.

Оценка данных функционирования электрон-транспортной цепи переноса электронов и цикла Кребса (рис. 2) показала снижение МДГ во II-й группе (ТАИ) на 17,3% ($p < 0,05$), ИЦДГ на 16,1% ($p < 0,01$), I-комплекса ЭТЦ на 19,9% ($p < 0,01$).

В группе тяжелой алкогольной интоксикации показано значительное увеличение активности митохондриальной аконитазы на 55,6% ($p < 0,05$), которая сохранялась при ТАИ с исследуемым комплексом.

При анализе уровня микроэлементов в цельной крови и ткани сердечной мышцы крыс (рис. 3), показано, что ТАИ приводила к снижению концентрации цинка в плазме на 32,1% ($p < 0,01$) и в сердце на 13,5% ($p < 0,01$). На фоне введения препарата уровни цинка при ТАИ в плазме и миокарде существенно не изменились, однако, установлена тенден-

ция увеличения цинка в крови в сравнении с контрольной группой и группой II.

Оценка содержания меди выявила её увеличение в исследуемой группе II во всех образцах исследуемых тканей: кровь на 29,9% ($p < 0,01$), плазма на 30,2% ($p < 0,01$), и ткань сердца на 14,8% ($p < 0,05$). Исходя из полученных результатов, можно предположить, что большая часть меди (Cu) связана с белками плазмы. Применение композиции возвращало концентрацию меди в крови, плазме и ткани сердца к контрольным значениям.

В экспериментальной модели ТАИ показано, что под действием этанола снижается концентрация железа в крови и ткани сердца: на 28,8 % ($p < 0,01$) и 17,4 % ($p < 0,01$) соответственно. Введение животным на фоне ТАИ композиции аминокислот с цинком и магнием способствовало восстановлению уровня железа в ткани сердца к контрольным значениям.

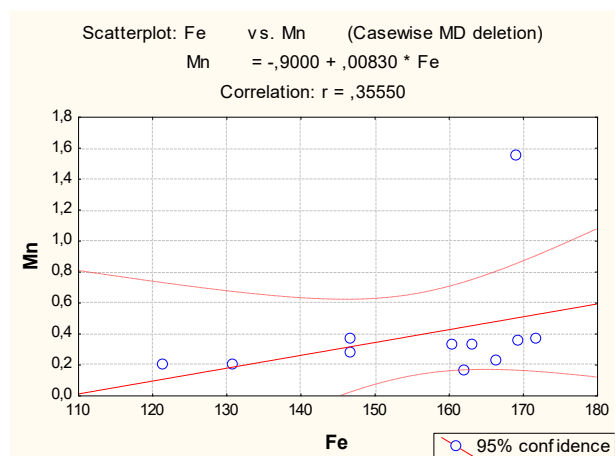
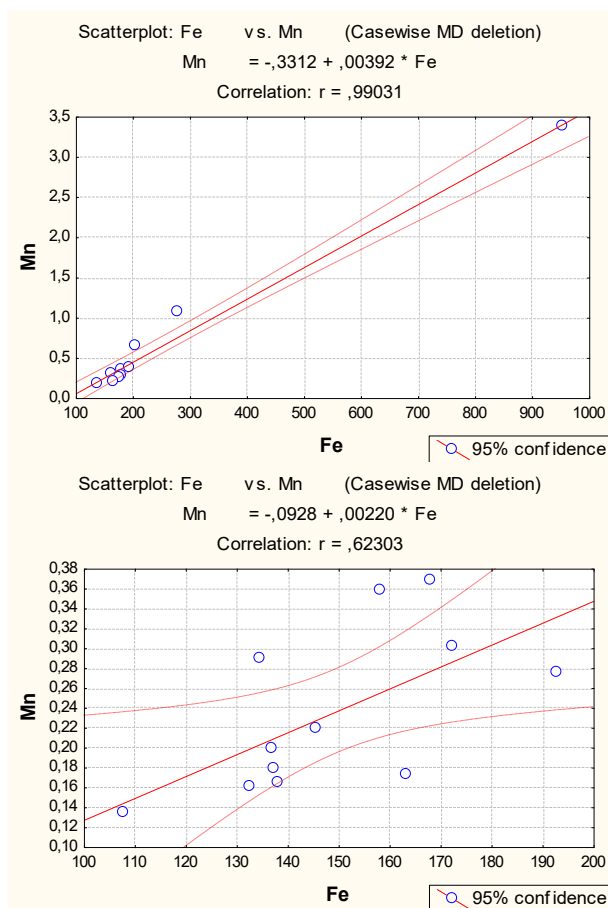


Рис. 4. Межэлементные корреляционные взаимосвязи Fe-Mn при ТАИ в сердце: (слева-направо) контроль, ТАИ, ТАИ + композиция.

При оценке концентрации молибдена в крови, установлено увеличение его уровня на фоне ТАИ на 60,7% в сравнении с контрольной группой ($p < 0,05$). Применение композиции способствовало снижению концентрации молибдена в плазме (на 25,2% относительно ТАИ, $p < 0,01$). Высокий уровень молибдена при ТАИ в цельной крови может быть ассоциирован с повышением уровня мочевой кислоты, что связано с участием данного элемента в регуляции обмена мочевой кислоты [30].

Проведенный анализ межэлементной корреляции в исследуемых группах животных показал, что в группе контроля в плазме крови наблюдается прямая корреляция железа с марганцем, при этом в группе ТАИ, зависимость достоверно теряется (рис. 4).

Стоит отметить, что применение композиции (L-глутамин и L-аргинина гидрохлорида в дозе по 250 мг/кг, семиводный сульфат цинка 15,4 мг/кг, безводный сульфат магния 62 мг/кг) способствовало восстановлению прямой корреляции железа с марганцем.

Таким образом, установленные изменения в крови и ткани сердца (миокарде) при ТАИ носят сложный и многокомпонентный характер. Доминирующую роль в распределении микроэлементов, предположительно, играют белки-транспортёры и влияющие на их факторы. Изучение механизмов поступления нутриентов в клетку представляет особое значение, так как исследование микроэлементного состава цельной крови и плазмы крови может служить не только маркером воспаления в ответ на изменения в ткани миокарда сердца животных, но и как предиктором неблагоприятного исхода.

Выводы:

1. Модель экспериментальной тяжёлой алкогольной интоксикации сопровождается кардиотоксическим влиянием этанола (снижение активности щелочной фосфатазы, концентрации мочевины и креатинина в плазме крови, а также снижение уровня креатинина и активности креатинфосфокиназы в гомогенате ткани сердечной мышцы, на фоне повышения уровня мочевой кислоты в плазме крови).

2. Установлено, что тяжёлая алкогольная интоксикация приводила к нарушению функционального состояния митохондрий сердца, что сопровождалось снижением общего мембранного потенциала и снижением его отклика на аденозиндифосфат. Полученные данные энергетического функционирования митохондрий сердца при тяжёлой алкогольной интоксикации указывают на нарушение работы митохондриальных систем, что проявляется в снижении малатдегидрогеназы, изоцитратдегидрогеназы и I комплекса дыхательной цепи переноса электронов, при этом отмечено увеличение активности митохондриальной аконитазы.

В экспериментальной модели тяжёлой алкогольной интоксикации установлено нарушение элементного гомеостаза в крови, плазме и ткани сердца. При этом отмечается снижение концентрации цинка в плазме и сердце, увеличение количества меди во всех исследуемых образцах (кровь, плазма, ткань сердца), снижение железа в крови и сердце, увеличение молибдена в крови и плазме.

Литература:

1. Rauchenzauner M., Kountchev, J., Ulmer, H., et al. Disturbances of electrolytes and blood chemistry in acute alcohol intoxication. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2005; 117 (3): 83–91.
2. Fernández-Solà J. The effects of ethanol on the heart: alcoholic cardiomyopathy. *Nutrients.* 2020; 12 (2): 572.
3. Piano M. R. Alcohol's effects on the cardiovascular system. *Alcohol Res.* 2017; 38 (2): 219–241.
4. Tahrir F.G. Mitochondrial quality control in cardiac cells: mechanisms and role in cardiac cell injury and disease. *J. Cell. Physiol.* 2020; 234 (6): 8122–8133.
5. Ventura-Clapier R., Garnier A., Veksler V. Energy metabolism in heart failure. *J. Physiol.* 2004; 555: 1–13.
6. Hoek J.B., Cahill A., Pastorino J.G. Alcohol and mitochondria: a dysfunctional relationship. *Gastroenterology.* 2002; 122 (7): 2049–2063.
7. Lu J., Sharma L.K., Bai Y. Implications of mitochondrial DNA mutations and mitochondrial dysfunction in tumorigenesis. *Cell. Res.* 2009; 19 (7): 802–815.
8. Bing R.J. Cardiac metabolism: its contributions to alcoholic heart disease and myocardial failure. *Circulation.* 1978; 58 (6): 965–970.
9. Steiner J.L., Lang C. H. Etiology of alcoholic cardiomyopathy: mitochondria, oxidative stress and apoptosis. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2018; 89: 125–135.
10. Killilea D. W. Killilea A. N. Mineral requirements for mitochondrial function: A connection to redox balance and cellular differentiation. *Free Radical Biology and Medicine.* 2022; 182: 182–191.
11. Разводовский Ю.Е. Биологические маркеры алкоголизма: современное состояние и перспективы использования. *Научный форум. Сибирь.* 2019; 5 (1): 79–81.
12. Бадун Е.Г. Изменение микроэлементного состава органов и тканей при алкогольной интоксикации. *Вестник Гродзенскага дзяржаўнага ўніверсітэта імя Янкі Купалы. Эканоміка. Сацыялогія. Біялогія.* 2021; 5 (3): 133–144.
13. Grochowski C., Blicharska E., Baj J., Mierzwińska A., Brzozowska K., Forma A., et al. Serum iron, Magnesium, Copper, and Manganese Levels in Alcoholism: A Systematic Review. *Molecules.* 2019; 24 (7): 1361.
14. Morris C. R. Hamilton-Reeves J., Martindale R.G., Sarav M., Ochoa Gautier J.B., et al. Acquired amino acid deficiencies: a focus on arginine and glutamine. *Nutr. Clin. Pract.* 2017; 32 (1): 30–47.
15. Cruzat V., Macedo Rogero M., Noel Keane K., Curi R., Newsholme P. Glutamine: metabolism and immune function, supplementation and clinical translation. *Nutrients.* 2015; 10 (11): 1564.
16. Popova T. A., Khusainova G.K., Prokofiev I.I., Perfilova V.N., Tyurenkov I.N., Bagmetova V.V., et al. Correction of alcohol-induced damage to mitochondria in cardiac and cerebral cells by derivatives of neuroactive amino acids. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2020; 169 (2): 218–223.
17. Razvodovsky Y., Borodinsky A. Protective effects of amino acids on the heart in chronically alcohol-treated rats. *Alcohol and Alcoholism. ESBRA.* 2013; 48 (1): 141.
18. Ni S. Effect of L-arginine on cardiac reverse remodeling and quality of life in patients with heart failure. *Clinical Nutrition.* 2021; 40: 3037–3044.
19. Baj J., Flieger W., Teresiński G., Buszewicz G., Sitarz R., Forma A., et al. Magnesium, calcium, potassium, sodium, phosphorus, selenium, zinc, and chromium levels in alcohol. *J. Clin. Med.* 2020; 9 (6): 1901.
20. Majchrowicz E. Reversal in central nervous system function during ethanol withdrawal in humans and experimental animals. *Fed. Proc.* 1981; 40 (7): 2065–2072.
21. Wang X., Zhang X., Wu D., Huang Z., Hou T., Jian C., Yu P., et al. Mitochondrial flashes regulate ATP homeostasis in the heart. *Elife.* 2017; 10 (6): 23908.
22. Spinazzi M., Vincent A.E., Turnbull D.M., Thorburn D.R., Taylor R.W. Assessment of mitochondrial respiratory chain enzymatic activities on tissues and cultured cells. *Nat. Protoc.* 2012; 7 (6): 1235–1246.

23. Барковский Е.В. Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учеб. Пособие. Минск: Выш. шк. 2013. 491 с.
24. Popova T., Pinheiro de Carvalho M.A., Matasova L., Medvedeva L. Regulation of mitochondrial NADP-isocitrate dehydrogenase in rat heart during ischemia. *Mol. Cell. Biochem.* 2007; 294 (1-2): 97–105.
25. Delaval E., Perichon M., Friguet B. Age-related impairment of mitochondrial matrix aconitase and ATP-stimulated protease in rat liver and heart. *Eur. J. Biochem.* 2004; 271 (22): 4559–4564.
26. Akerman K.E.O., Wikström M.K.F. Safranin as a probe of the mitochondrial membrane potential. *FEBS Letters.* 1976; 68 (2): 191–197.
27. Bradford M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 1976; 72: 248–254.
28. Aagaard N.K., Thøgersen T., Grøfte T., Greisen J., Vilstrup H. Alcohol acutely down-regulates urea synthesis in normal men. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 2004; 28 (5): 697–701.
29. Yamamoto T., Moriwaki Y., Takahashi S. Effect of ethanol on metabolism of purine bases (hypoxanthine, xanthine, and uric acid). *Clin. Chim. Acta.* 2005; 356: 35–37.
30. Maiuolo J., Oppedisano F., Gratteri S., Muscoli C., Mollace V. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *Int. J. Cardiol.* 2016; 213: 8–14.

EFFECTS OF AMINO ACID COMBINATION WITH ZINC AND MAGNESIUM ON TRACE ELEMENTAL STATUS OF BLOOD, HEART AND CARDIAC MITOCHONDRIAL BIOENERGETICS IN ACUTE ALCOHOL INTOXICATION

E.G. Badun, A.V. Shuriberko, E.O. Kazinets,
A.S. Cheremisin, Y.E. Razvodovsky, A.E. Kuzniatsov

Institute of Biochemistry of Biologically
Active Compounds of the National Academy
of Sciences of Belarus, Grodno, Belarus

Abstract:

The effect of a combination of L-glutamine and L-arginine in combination with zinc and magnesium in severe alcohol intoxication (SAI) was studied. Changes in the energy functions of heart mitochondria were revealed, accompanied by a decrease in the activity of Krebs cycle enzymes (malate dehydrogenase, isocitrate dehydrogenase), the total membrane potential and its response to adenosine diphosphate against the background of severe alcohol intoxication. It has been established that against the background of SAI, there is a violation of elemental homeostasis in the blood, plasma and heart tissue, which is accompanied by a decrease in the concentration of zinc in the plasma and heart, an increase in the amount of copper in all the studied samples (blood, plasma, heart tissue), a decrease in iron in the blood and heart, an increase in molybdenum in the blood and plasma. It was shown that the introduction of the studied composition against the background of SAI prevented shifts in biochemical parameters and restored mineral homeostasis in whole blood and heart muscle. The data obtained make it possible to judge the effectiveness of the experimental composition of L-glutamine and L-arginine in combination with zinc and magnesium in SAI.

Keywords: trace elements, alcohol intoxication, heart, mitochondria, amino acids

Вклад авторов:

E.G. Badun: разработка дизайна исследования, написание и редактирование текста рукописи;

A.V. Shuriberko: анализ полученных данных, написание и редактирование текста рукописи;

E.O. Kazinets: получение и анализ данных;

A.S. Cheremisin: получение и анализ данных, редактирование текста рукописи;

Y.E. Razvodovsky: обзор и перевод публикаций по теме статьи;

O.E. Kuzniatsov: обзор и перевод публикаций по теме статьи.

Authors' contributions:

E.G. Badun: study design development, writing and editing the text of the manuscript;

A.V. Shuriberko: analysis of material, writing and editing the text of the manuscript;

E.O. Kazinets: collection and analysis of material;

A.S. Cheremisin: collection and analysis of material, editing the text of the manuscript;

Y.E. Razvodovsky: review of publications on the topic of the article;

A.E. Kuzniatsov: review of publications on the topic of the article.

Финансирование: Данное исследование не имело финансовой поддержки.

Financing: The study was performed without external funding.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила / Article received: 02.11.2022. Принята к публикации / Accepted for publication: 29.11.2022.

Для цитирования: Бадун Е.Г., Шуриберко А.В., Казинец Е.О., Черемисин А.С., Разводовский Ю.Е., Кузнецов О.Е. Влияние комбинации аминокислот с цинком и магнием на элементный состав крови, сердца и энергетические функции митохондрий сердца при тяжелой алкогольной интоксикации. *Академический журнал Западной Сибири.* 2022; 18 (4): 27-35. DOI: 10.32878/sibir.22-18-04(97)-27-35

For citation: Badun E.G., Shuriberko A.V., Kazinets E.O., Cheremisin A.S., Razvodovsky Y.E., Kuzniatsov A.E. Effects of amino acid combination with zinc and magnesium on trace elemental status of blood, heart and cardiac mitochondrial bioenergetics in acute alcohol intoxication. *Academic Journal of West Siberia.* 2022; 18 (4): 27-35. DOI: 10.32878/sibir.22-18-04(97)-27-35 (In Russ)