

УДК (547.757.547.466.577.158.344:577.31/611.81) – 092.9

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ СМЕСЕЙ, СОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТЫ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ УГЛЕВОДОРОДНОЙ ЦЕПЬЮ, ТАУРИН И L-ТРИПТОФАН НА УРОВНИ ТРИПТОФАНА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ, ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ЭТАНОЛОМ

М.М. Золотухин, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов,
Ю.Е. Разводовский, В.М. Шейбак

ЦНИЛ, УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Исследовали эффекты двух аминокислотных смесей на ночные уровни триптофана и его метаболитов в плазме крови, печени, головном мозге крыс на фоне хронической алкогольной интоксикации (ХАИ). Смесью А содержала L-лейцин, L-изолейцин, L-валин и таурин. Смесью В включала также L-триптофан. Смесей А (500 мг/кг) и В (600 мг/кг) вводились внутримышечно 7 дней в световую фазу за 12 ч до декапитации. ХАИ не изменяла уровней триптофана (Trp) и его метаболитов в плазме, печени, в большинстве отделах мозга, за исключением среднего мозга, где уровень мелатонина (Mel) был повышен; не изменяла уровня Trp в печени и снижала его содержание в плазме. Уровень Trp снижался в среднем мозге, гипоталамусе, мозжечке, эпифизе, а серотонина (5-HT) – в лобной доле коры и мозжечке. После введения смеси А содержание 5-гидрокситриптофана (5-HTP) увеличивалось в лобной доле и мозжечке. В лобной доле коры, гипоталамусе уровень N-ацетилсеротонина (NAS) увеличивался, в среднем мозге – снижался. В стриатуме уровень N-ацетилтриптофана (NAT) также снижался. Концентрация Mel увеличивалась в гипоталамусе и снижалась в лобной доле коры. Смесью В увеличивала уровень Trp в плазме, печени и мозжечке. В стриатуме уровни 5-HTP, 5-гидроксииндоуксусной кислоты (5-HIAA) были повышены. Содержание 5-HTP было снижено в гипоталамусе, лобной доле коры и мозжечке. Концентрации NAS и NAT были увеличены в лобной доле коры. Уровень триптамина (TRN) был повышен в стриатуме и понижен в эпифизе. В гипоталамусе катаболизм Mel снижался и увеличивался в лобной доле. Мы полагаем, что эффекты обеих композиций могли быть реализованы путем модификации транспорта аминокислот из-за конкурентных отношений АРУЦ и Trp.

Ключевые слова: метаболизм триптофана, аминокислоты, алкоголь, циркадианный ритм, головной мозг.

We investigated the effects of two amino acid mixtures on nocturnal content of tryptophan and its metabolites in blood plasma, liver, and brain of rats undergoing chronic alcohol intoxication (CHAI). Mixture A contained L-leucine, L-isoleucine, L-valine and taurine. Mixture B included also L-tryptophan. Solutions of mixtures A (500 mg/kg) and B (600 mg/kg) were injected intragastrically for 7 days in light phase; both mixtures – 12 h before decapitation. The CHAI didn't change the levels of Trp and its metabolites in plasma, liver and most brain areas except midbrain (the level of Mel was increased). The mixture A didn't affect the level of Trp in the liver and decreased its content in plasma. The level of Trp was decreased in midbrain, hypothalamus, cerebellum, pineal gland, and that at serotonin (5-HT) in frontal cortex and cerebellum. After the administration of mixture A the content of 5-HTP increased in frontal cortex and cerebellum. In frontal cortex, hypothalamus the level of NAS was increased while its level in midbrain was decreased. In striatum the level of NAT was declining. The concentration of Mel increased in hypothalamus and decreased in frontal cortex. The mix B increased the level of Trp in plasma, liver and cerebellum. In the striatum the levels of 5-HTP and 5-HIAA were increased. The content of 5-HTP was declined in hypothalamus, frontal cortex, and cerebellum. The concentrations of NAS and NAT rised in frontal cortex. The level of TRN was increased in striatum and decreased in pineal gland. The catabolism of Mel was decreased in hypothalamus and increased in frontal cortex. We suppose the effects of both mixtures can be realized by modification of transport of amino acids due to the competition of BCAA and tryptophan.

Key words: tryptophan metabolism, amino acids, alcohol, circadian rhythm, brain.

Хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) сопровождается снижением активности гидроксилазного пути обмена триптофана, в результате чего снижается синтез серотонина. Угнетение его синтеза связывают со снижением доступности предшественника в мозге или катаболизма серотонина [7, 10]. Перспективным является направление разработки композиций на основе аминокислот, позволяющих снизить токсическое воздействие этанола на мозг и осуществить целенаправленную коррекцию в отношении гидроксилазного пути обмена триптофана в случае угнетения его активности. Для снижения токсического действия алкоголя на нейроны считается обоснованным включение в состав композиции таурина и аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ) – L-лейцина, L-изолейцина и L-валина. Примене-

ние первого основано на его антиоксидантных и мембраностабилизирующих свойствах [3], поскольку при ХАИ имеет место изменение свойств биологических мембран [4]. Включение вторых основано на их детоксикационных свойствах [6]. Включение L-триптофана в состав композиции может считаться целесообразным, так как он обладает антиалкогольными свойствами [11] и способен оказывать стимулирующее влияние на синтез серотонина [5]. Таким образом, представляет интерес описать эффекты композиций на основе АРУЦ, триптофана, таурина на уровни триптофана и его метаболитов при ХАИ в темновую фазу, поскольку синтез некоторых метаболитов гидроксилазного пути обмена триптофана активен в ночное время.

Цель работы. Исследовать влияние внутриже-

лудочного введения композиции на основе АРУЦ, триптофана и таурина при хронической алкогольной интоксикации на ночное содержание триптофана и метаболитов гидроксилазного пути его обмена в плазме крови, печени и отделах головного мозга крыс.

Материалы и методы

В работе использовались 32 крысы-самца гетерогенной популяции массой 160-240 г, которые содержались на стандартном рационе вивария, после фотоадаптации (2 нед). Во время всего эксперимента крысы содержались при нормальном световом цикле (12/12 ч, 9:00–21:00 ч). Хроническую алкогольную интоксикацию моделировали в течение 14 недель, используя 20% раствор этанола в качестве единственного источника питья [4]. Средняя доза этанола за весь период алкоголизации составила $8,3 \pm 0,3$ г/кг (по данным регистрации потребления). Опытным группам в течение 7 дней внутривенно вводили 2,4 % раствор композиции А (500 мг/кг) или 3,0 % раствор композиции В (600 мг/кг) в 11:00 ч. Композиция А состояла из L-лейцина, L-изолейцина, L-валина и таурина в массовых соотношениях 1 : 0,25 : 0,25 : 0,5. Композиция В состояла из L-лейцина, L-изолейцина, L-валина, L-триптофана и таурина в массовых соотношениях 1 : 0,25 : 0,25 : 0,4 : 0,5 [2]. Интактному контролю и контролю, получавшему этанол, вводили эквивалентные количества изотонического раствора хлорида натрия. Декапитацию проводили в 23:00 ч, спустя 12 ч после последнего введения композиций. Печень и отделы головного мозга быстро извлекали и помещали в жидкий азот [9]. Гомогенизацию биологического материала (гипоталамус, стриатум, средний мозг, лобную долю коры, мозжечек, печень) производили тefлоновым пестиком в 10-кратном объеме (эпифизов – в фиксированном объеме 100 мкл) экстракционной среды, содержащей 0,2 М хлорную кислоту, 25 мг/л ЭДТА и 1 мкМ ванилиновую кислоту (VA) (внутренний стандарт). Центрифугировали 15 мин при 20000 g (4°C). Супернатанты замораживали и хранили при -80°C.

Кровь собирали в пластиковые пробирки, содержащих 10% раствор Na_2EDTA и центрифугировали 15 мин при 3000 g. К полученной плазме добавляли равные объемы среды для депротеинизации, содержащей 1 М хлорную кислоту, 25 мг/л ЭДТА и 5 мкМ VA. Центрифугировали 15 мин при 20000 g (4°C). Супернатанты хранили при -80°C.

В работе использовали L-лейцин, L-изолейцин, L-валин, L-триптофан (Reanal, Венгрия), таурин (Sigma, США). Для приготовления подвижных фаз использовали ацетонитрил, метанол (Merck, Германия), KH_2PO_4 , ЭДТА (Reanal, Венгрия), октилсульфонат натрия, гептилсульфонат натрия (Элсико, Россия), уксусную кислоту, хлорную кислоту хч (НеваРеактив, Россия) и этанол квалификации не ниже хч. В качестве стандартов применяли серотонин креатинин-сульфат (5-НТ), триптамин гидрохлорид (TRN), N-ацетилтриптофан (NAT) (Reanal, Венгрия), L-триптофан (Trp), 5-гидрокси-

индолуксусную кислоту (5-HIAA), мелатонин (Mel), N-ацетилсеротонин (NAS), ванилиновую кислоту (VA), 5-метоксииндолуксусную кислоту (5-MIAA), 5-гидрокситриптофан (5-НТР) (Sigma, США). Тридистиллированную воду для подвижных фаз пропускали через патрон «Norgenic» (Millipore, США), подвижные фазы фильтровали через мембранный фильтр 0,22 мкм.

Определения проводили методом изократической обращено-фазовой ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1100. Колонка 3×250 мм Separon SGX C_{18} , 8 мкм (Элсико, Россия) термостатировалась при 30°C, скорость потока 0,5 мл/мин. Введение образцов осуществлялось автосамплером (ALS G1313A), объем 20 мкл. Детектирование по природной флуоресценции 280/340 нм. Для определения Trp, 5-НТР, 5-НТ и 5-HIAA использовали подвижную фазу, содержащую 0,1 М KH_2PO_4 , 17 мМ уксусной кислоты, 25 мг/л ЭДТА, 1 мМ гептилсульфоната натрия, 0,8 мМ октилсульфоната натрия и 11 % метанола (об.). Определение NAS, NAT, TRN, 5-MIAA и Mel проводили по методу [1]. Интегрирование и расчет содержания триптофана и его метаболитов проводили с помощью программы ChemStation версии A.10.01.

Статистическая обработка данных (корреляционный анализ и t-критерий Стьюдента, U-тест Манна-Уитни для проверки достоверностей, когда различались значения дисперсий, либо отмечалось отклонение от нормального распределения) проводилась с помощью пакета Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

Продолжительная интоксикация алкоголем не изменяла содержание Trp в плазме крови и печени. Введение композиции А достоверно снижало уровень Trp в плазме, при сравнении с контролем, в то время как уровень его в печени не изменялся. Смесь В повышала содержание Trp в плазме и печени, в сравнении с контролем и ХАИ (табл. 1). ХАИ в плазме крови увеличивала только уровень тирозина. Отмечено, что содержание фенилаланина и АРУЦ при этом не изменяется (Ю.Е. Разводовский и др., в печати) таким образом, транспорт Trp в мозг и периферические ткани не претерпевал существенных изменений, о чем говорит также отсутствие достоверных изменений в содержании этой аминокислоты в печени и отделах головного мозга. Наблюдавшееся после введения смеси А снижение уровня Trp в плазме крови может объясняться тем, что условия для снижения его транспорта создавало повышение уровней лейцина, тирозина и таурина (Ю.Е. Разводовский и др., в печати). Возможно, определенную роль играл таурин, так как он увеличивает транспорт АРУЦ [3] в нервную ткань, снижая содержание Trp [8]. Смесь А на фоне ХАИ не изменяла скорость катаболизма Trp в печени, об этом косвенно свидетельствует его неизменный уровень. Повышение в плазме уровня Trp после введения композиции В было связано с созданием градиента его концентрации между энтероцитами и кровью. В печени снижался катаболизм Trp по диоксигеназному пути, о чем косвен-

но говорит повышение уровня Trp. После введения смеси В создавались условия для увеличения доступности Trp в мозге: снижение катаболизма Trp в печени, повышение уровня Trp в крови за счет поступления его в составе композиции и повышение содержания в плазме крови тирозина и фенилаланина при неизменных уровнях АРУЦ (Ю.Е. Разводовский и др., в печати).

В эпифизе ХАИ не изменяла содержание Trp и его метаболитов. Аминозоль А в железе снижал содержание Trp, при сравнении с контролем. В эпифизе смесь В понижала концентрацию TRN, по отношению к контролю (табл. 2). Хроническая алкогольная интоксикация сопровождалась появлением корреляционной связи 5-НТ–NAS ($r=0,92$) и ослаблением связи TRN–5-МIAA ($r=0,82$ против $r=0,90$) в эпифизе. Сохранялась связь Trp–5-НIAA ($r=0,82$). Такие изменения свидетельствуют о перераспределении потока 5-НТ между окислительным дезаминированием и N-ацетилирующей цепочкой. Аминозоль А в эпифизе снижал синтез и катаболизм 5-НТ за счет снижения доступности Trp. На это указывает достоверное снижение содержания Trp, понижение уровней 5-НТ, 5-НIAA (изменения носили недостоверный характер) и появление корреляционной связи 5-НТ–5-НIAA ($r=0,85$). Кроме того, снижался синтез NAT и TRN, что указывает тенденция к снижению их содержания и ослабление связи NAT – TRN ($r=0,93$ против $r=0,99$). Угнетался синтез Mel и 5-МIAA, о чем свидетельствует тенденция к снижению их уровней. Таким образом, снижение доступности Trp угнетает его катаболизм по гидроксилазной и минорным катаболическим цепочкам в эпифизе. Смесь В увеличивала окисление TRN в эпифизе, о чем говорит снижение его уровня. Усиление корреляционной связи Trp–5-НIAA ($r=0,89$ против $r=0,82$, а также ослабление связи 5-НТ–NAS ($r=0,84$ против $r=0,92$ при ХАИ) означает частичное снижение метаболических эффектов ХАИ за счет воздействия на метаболизм серотонина.

ХАИ в стриатуме не изменяла уровней всех исследованных соединений. Смесь А понижала содержание NAT, при сравнении с контролем. После введения аминозоля В в стриатуме увеличивались уровни 5-НТР, 5-НIAA и TRN, в сравнении с ХАИ (табл. 3). В стриатуме ХАИ вызывала появление корреляционной связи Trp–5-НТ ($r=0,84$) и ослабление – 5-НТ–5-НIAA ($r=0,78$ против $r=0,96$). Нарушались связи между концентрациями минорных метаболитов и метаболитами гидроксилазного пути обмена Trp. Возможно, это связано с перераспределением потока Trp в пользу гидроксилирующей цепочки. Снижение содержания NAT после введения смеси А, а также появление корреляционной связи NAT–5-НIAA ($r=0,82$), NAT–NAS ($r=0,89$), и отмечаемая тенденция к снижению уровня TRN означает, что осуществляется адаптивное перераспределение потока Trp с минорных цепочек его катаболизма на гидроксилирующую ветвь. В пользу этого говорит и отсутствие изменений в уровнях 5-НТР, 5-НТ, 5-НIAA и NAS. В стриатуме

введение аминозоля В сопровождалось увеличением уровней 5-НТР, 5-НIAA и изменением корреляционной связи 5-НТ–5-НIAA ($r=0,94$ против $r=0,78$ при ХАИ, $r=0,96$ в контроле). На фоне отмечаемой тенденции к увеличению уровня Trp отмечалось повышение синтеза TRN, о чем свидетельствует увеличение концентрации последнего. Таким образом, данный аминозоль стимулирует синтез серотонина и его катаболизм за счет увеличения доступности Trp, частично устраняя метаболические эффекты ХАИ.

В лобной доле коры больших полушарий ХАИ не изменяла содержание Trp и его метаболитов. Композиция А в этом отделе мозга увеличивала содержание 5-НТР, при сравнении с контролем, и концентрацию NAS, в сравнении с контролем и ХАИ. Уровни 5-НТ и Mel были снижены, по отношению к ХАИ. Композиция В достоверно повышала содержание NAT и NAS, при сравнении с контролем. Снижались уровни 5-НТР, Mel при сравнении с ХАИ (табл. 4). Интоксикация этанолом сопровождалась исчезновением корреляционной связи Trp–NAS и возникновением новых TRN–5-НТ ($r=0,88$), 5-НТ–Mel ($r=0,79$). В перераспределении Trp между декарбоксилазным и гидроксилазным путями возможен вклад Mel. В лобной доле коры смесь А снижала декарбоксилирование 5-НТР, о чем свидетельствует повышение уровня 5-НТР и снижение 5-НТ. Снижался синаптический выброс медиатора за счет снижения его синтеза, в пользу чего говорит снижение уровня амина, отмечаемая тенденция к понижению содержания 5-НIAA и появление корреляционной связи 5-НТР – 5-НIAA ($r=0,77$). Увеличение содержания NAS означает, что в катаболизм 5-НТ вовлекается его метаболический пул, это также косвенно подтверждается снижением его уровня. Кроме того, в лобной доле коры увеличивалось окисление Mel, в пользу этого свидетельствует понижение его уровня. Аминозоль В в лобной доле коры увеличивал декарбоксилирование 5-НТР, о чем говорит снижение уровня 5-НТР. Данный аминозоль, кроме того, увеличивал активность N-ацетилтрансферазы, в результате чего увеличивался катаболизм 5-НТ и Trp, о чем свидетельствует повышение концентраций NAT и NAS. Возможно, увеличение активности N-ацетилтрансферазы было связано с ослаблением ингибирующего влияния Mel [12], поскольку содержание последнего снижалось.

Интоксикация этанолом в гипоталамусе характеризовалась отсутствием достоверных изменений в уровнях всех изученных соединений. В гипоталамусе аминозоль А снижал концентрацию Trp при сравнении с интактным контролем и группой ХАИ, в то время как уровни Mel и NAS были повышены относительно ХАИ. Аминозоль В в этом отделе мозга снижал уровень 5-НТР и увеличивал Mel при сравнении с контролем и ХАИ (табл. 5). ХАИ сопровождалась разрушением связей Trp–NAS и возникновением 5-НТ–5-НIAA ($r=0,82$) и 5-НIAA–NAS ($r=0,86$). Это означает, что ХАИ вызывает перераспределение потока 5-НТ между катаболичес-

Таблица 1 – Содержание триптофана в плазме крови (мкмоль/л) и в печени (нмоль/г ткани) после введения смеси А (500 мг/кг) или В (600мг/кг) на фоне ХАИ, среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + смесь А	ХАИ + смесь В
Тгр, плазма	35,1 $\pm$ 1,55	32,2 $\pm$ 1,26	29,2 $\pm$ 2,24*	48,5 $\pm$ 2,17* †
Тгр, печень	14,0 $\pm$ 1,0	14,5 $\pm$ 1,3	12,1 $\pm$ 1,4	19,4 $\pm$ 1,2* †

Примечание к табл. 1-7: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, † – по отношению к ХАИ

Таблица 2 – Содержание триптофана и его метаболитов в эпифизе крыс после введения смеси А (500 мг/кг) или В (600мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/эпифиз), среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + смесь А	ХАИ + смесь В
Тгр	0,0224 $\pm$ 0,0026	0,0256 $\pm$ 0,0047	0,01623 $\pm$ 0,0017*	0,02263 $\pm$ 0,0013
5-НТР	0,0014 $\pm$ 0,0004	0,0012 $\pm$ 0,0003	0,00112 $\pm$ 0,00008	0,00109 $\pm$ 0,00013
5-НТ	0,0635 $\pm$ 0,0215	0,061 $\pm$ 0,019	0,02423 $\pm$ 0,00465	0,06575 $\pm$ 0,0135
5-НIAA	0,0036 $\pm$ 0,001	0,0043 $\pm$ 0,0013	0,00183 $\pm$ 0,00035	0,0037 $\pm$ 0,00058
NAS	0,00070 $\pm$ 0,00018	0,0010 $\pm$ 0,0005	0,00046 $\pm$ 0,00010	0,00131 $\pm$ 0,00044
NAT	0,00013 $\pm$ 0,00002	0,00014 $\pm$ 0,00005	0,00007 $\pm$ 0,00002	0,00007 $\pm$ 0,00002
TRN	0,00014 $\pm$ 0,00003	0,00016 $\pm$ 0,00007	0,00009 $\pm$ 0,00002	0,00006 $\pm$ 0,00001*
5-MIAA	0,0051 $\pm$ 0,0011	0,0029 $\pm$ 0,0004	0,003 $\pm$ 0,00088	0,00278 $\pm$ 0,00058
Mel	0,00031 $\pm$ 0,00007	0,00033 $\pm$ 0,00013	0,00017 $\pm$ 0,00003	0,00020 $\pm$ 0,00002

Таблица 3 – Содержание триптофана и его метаболитов в стриатуме крыс после введения смеси А (500 мг/кг) или В (600 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + смесь А	ХАИ + смесь В
Тгр	14,3 $\pm$ 1,1	14,84 $\pm$ 1,25	16,6 $\pm$ 2,1	17,1 $\pm$ 1,1
5-НТР	0,144 $\pm$ 0,017	0,123 $\pm$ 0,023	0,154 $\pm$ 0,007	0,18 $\pm$ 0,02 †
5-НТ	0,419 $\pm$ 0,098	0,542 $\pm$ 0,206	0,535 $\pm$ 0,080	0,528 $\pm$ 0,078
5-НIAA	0,632 $\pm$ 0,099	0,516 $\pm$ 0,070	0,640 $\pm$ 0,109	0,766 $\pm$ 0,092 †
NAS	0,0190 $\pm$ 0,0027	0,0201 $\pm$ 0,0027	0,0208 $\pm$ 0,0023	0,0392 $\pm$ 0,0172
NAT	0,0192 $\pm$ 0,0020	0,0158 $\pm$ 0,0021	0,0124 $\pm$ 0,0021*	0,0161 $\pm$ 0,0030
TRN	0,0220 $\pm$ 0,0034	0,0180 $\pm$ 0,0047	0,0141 $\pm$ 0,0024	0,0201 $\pm$ 0,0018 †
Mel	0,0325 $\pm$ 0,0165	0,0191 $\pm$ 0,0032	0,0179 $\pm$ 0,0017	0,0171 $\pm$ 0,0016

Таблица 4 – Содержание триптофана и его метаболитов в лобной доле коры больших полушарий крыс после введения смеси А (500 мг/кг) или В (600 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + смесь А	ХАИ + смесь В
Тгр	14,4 $\pm$ 1,8	16,4 $\pm$ 2,2	17,4 $\pm$ 2,2	16,4 $\pm$ 1,3
5-НТР	0,197 $\pm$ 0,0183	0,241 $\pm$ 0,018	0,282 $\pm$ 0,0201*	0,181 $\pm$ 0,0167 †
5-НТ	0,664 $\pm$ 0,1004	0,802 $\pm$ 0,081	0,477 $\pm$ 0,0746 †	0,785 $\pm$ 0,0600
5-НIAA	0,995 $\pm$ 0,0975	0,958 $\pm$ 0,108	0,919 $\pm$ 0,1452	1,10 $\pm$ 0,16
NAS	0,0283 $\pm$ 0,0050	0,0326 $\pm$ 0,0058	0,0475 $\pm$ 0,0030* †	0,0610 $\pm$ 0,0190*
NAT	0,0171 $\pm$ 0,0036	0,0234 $\pm$ 0,0024	0,0184 $\pm$ 0,0022	0,0310 $\pm$ 0,0042*
TRN	0,0182 $\pm$ 0,0021	0,0192 $\pm$ 0,0020	0,0192 $\pm$ 0,0027	0,0205 $\pm$ 0,0031
Mel	0,0769 $\pm$ 0,0073	0,1123 $\pm$ 0,0168	0,0694 $\pm$ 0,0069 †	0,0747 $\pm$ 0,0112 †

Таблица 5 – Содержание триптофана и его метаболитов в гипоталамусе крыс после введения смеси А (500 мг/кг) или В (600 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + смесь А	ХАИ + смесь В
Тгр	15,2 $\pm$ 1,5	14,5 $\pm$ 1,1	10,6 $\pm$ 1,1* †	19,0 $\pm$ 2,0
5-НТР	0,151 $\pm$ 0,0086	0,149 $\pm$ 0,0104	0,135 $\pm$ 0,0087	0,105 $\pm$ 0,0085* †
5-НТ	1,69 $\pm$ 0,26	1,65 $\pm$ 0,23	1,45 $\pm$ 0,19	1,82 $\pm$ 0,24
5-НIAA	1,13 $\pm$ 0,17	1,09 $\pm$ 0,19	0,713 $\pm$ 0,1084	1,31 $\pm$ 0,19
NAS	0,118 $\pm$ 0,056	0,0480 $\pm$ 0,0047	0,0882 $\pm$ 0,0056 †	0,0550 $\pm$ 0,0018
NAT	0,0187 $\pm$ 0,0021	0,0227 $\pm$ 0,0036	0,0151 $\pm$ 0,0029	0,0178 $\pm$ 0,0030
TRN	0,0227 $\pm$ 0,0024	0,0207 $\pm$ 0,0016	0,0168 $\pm$ 0,0030	0,0253 $\pm$ 0,0029
Mel	0,0572 $\pm$ 0,0054	0,0562 $\pm$ 0,0046	0,0754 $\pm$ 0,0082 †	0,0884 $\pm$ 0,0090* †

кими цепочками. Снижение содержания Тгр в гипоталамусе после введения смеси А сопровождается усилением катаболизма 5-НТ по N-ацетилирующей цепочке, о чем говорит повышение уровня NAS. Появление корреляционной связи 5-НТР–5-НIAA ($r=0,76$), а также снижение катаболизма Mel (повышение уровня Mel), свидетельствует об адаптивном стимулирующем влиянии на данную

катаболическую цепь с возможным вовлечением в регуляцию Mel. Аминозоль В вызывал появление корреляционной связи Тгр–5-НIAA ($r=0,92$), что свидетельствует об увеличении потока этой аминокислоты по гидроксилазному пути. Повышение уровня Mel в этом отделе мозга было связано со снижением его деградации.

В среднем мозге ХАИ увеличивала содержание Mel. Смесь А снижала уровень Тгр, в сравнении с ХАИ и уровень NAS, по отношению к контролю. В этой структуре мозга смесь В не изменяла достоверно уровни Тгр и его метаболитов (табл. 6). В среднем мозге ХАИ снижала катаболизм Mel и вызывала исчезновение корреляционных связей между уровнями 5-НIAA и Тгр, 5-НТ. Возникновение связей Тгр–NAS ($r=0,94$), Тгр–5-НТР ($r=0,90$), 5-НТР–NAS ($r=0,97$) говорит об адаптивном перераспределении потока субстрата между окислительной и N-ацетилирующей цепочками в пользу последней. Не исключается вклад Mel в этот адаптивный механизм. Аминозоль А снижал доступность Тгр в среднем мозге, в результате чего снижался катаболизм 5-НТ по N-ацетилирующему пути, о чем говорит снижение уровня NAS. Аминозоль В в этом отделе мозга не оказывал существенного влияния на обмен Тгр.

Алкогольная интоксикация в мозжечке не изменяла уровней всего спектра изученных соединений. Аминозоль А в этой структуре мозга повышал уро-

вень 5-НТР и снижал концентрацию Тгр, в сравнении с контролем. Содержание 5-НТ было снижено, при сравнении с контролем и ХАИ. Аминозоль В в мозжечке увеличивал содержание Тгр и снижал уровень 5-НТР при сравнении с контролем и ХАИ (табл. 7). ХАИ в мозжечке не изменяла потока субстратов всех изученных метаболических цепочек Тгр. В мозжечке смесь А снижала доступ-

ность Trp и синтез 5-НТ за счет угнетения декарбоксилирования 5-НТР, о чем говорит повышение уровня последнего и снижение содержания 5-НТ. Таким образом, данная композиция угнетает серотонинергическую систему в этом отделе мозга. Смесь В увеличивала декарбоксилирование 5-НТР на фоне повышения содержания Trp, при этом не изменяя скорость катаболизма 5-НТ. Это означает, что данный аминоксоль увеличивает синтез 5-НТ, о чем также свидетельствует появление корреляции Trp–5-НТ ($r=0,76$). Таким образом, аминоксоль В увеличивает синтез медиатора за счет увеличения доступности предшественника (Trp).

Заключение

Хроническая алкогольная интоксикация не изменяла уровней Trp в плазме крови, печени и не оказывала влияния на метаболизм Trp в мозжечке. В эпифизе, гипоталамусе, стриатуме, в лобной доле коры хроническая алкогольная интоксикация вызывала адаптивное перераспределение потока Trp между своими катаболическими цепочками в темновую фазу, в то время как в среднем мозге в этот механизм вносил вклад мелатонин.

Аминоксоль на основе АРУЦ и таурина в темновую фазу не изменял уровень триптофана в печени и снижал его содержание в плазме, создавая, тем самым, условия для снижения его уровня в мозге.

В лобной доле коры больших полушарий, гипоталамусе снижался синтез серотонина и увеличивался его катаболизм по N-ацетилирующему пути, в то время как эта катаболическая цепочка угнеталась в среднем мозге. Снижалась активность серотонинергической системы в эпифизе, мозжечке и в стриатуме, адаптивно перераспределялся поток триптофана между минорными и гидроксилазным путем его обмена в пользу последнего. Данная композиция на фоне хронической алкогольной интоксикации усиливала катаболизм мелатонина в лобной доле коры и снижала его деградацию в гипоталамусе. Большинство эффектов на гидроксилазный путь обмена триптофана данной композицией реализовывались через снижение доступности триптофана в головном мозге.

Композиция на основе АРУЦ, таурина и L-триптофана в темновую фазу снижала катаболизм триптофана в печени и повышала содержание его в плазме крови, создавая условия для повышения доступности аминокислоты в мозге. Данный аминоксоль увеличивал функциональную активность гидроксилазного пути обмена триптофана в мозжечке, эпифизе, стриатуме, гипоталамусе, лобной доле коры

Таблица 6 – Содержание триптофана и его метаболитов в среднем мозге крыс после введения смеси А (500 мг/кг) или В (600 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + смесь А	ХАИ + смесь В
Trp	15,7 $\pm$ 1,6	17,8 $\pm$ 0,9	13,5 $\pm$ 1,5 [†]	19,8 $\pm$ 1,2
5-НТР	0,167 $\pm$ 0,0126	0,150 $\pm$ 0,0196	0,145 $\pm$ 0,0130	0,196 $\pm$ 0,0154
5-НТ	1,55 $\pm$ 0,30	1,69 $\pm$ 0,14	1,67 $\pm$ 0,19	1,82 $\pm$ 0,34
5-HIAA	1,45 $\pm$ 0,25	1,73 $\pm$ 0,15	1,41 $\pm$ 0,14	1,76 $\pm$ 0,23
NAS	0,0493 $\pm$ 0,0054	0,0461 $\pm$ 0,0079	0,0269 $\pm$ 0,0056*	0,0717 $\pm$ 0,0106
NAT	0,0218 $\pm$ 0,0038	0,0163 $\pm$ 0,0016	0,0161 $\pm$ 0,0011	0,0165 $\pm$ 0,0009
TRN	0,0216 $\pm$ 0,0032	0,0190 $\pm$ 0,0018	0,0234 $\pm$ 0,0054	0,0167 $\pm$ 0,0010
Mel	0,0719 $\pm$ 0,0048	0,0887 $\pm$ 0,0034*	0,0746 $\pm$ 0,0112	0,0828 $\pm$ 0,0050

Таблица 7 – Содержание триптофана и его метаболитов в мозжечке крыс после введения смеси А (500 мг/кг) или В (600 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + смесь А	ХАИ + смесь В
Trp	16,2 $\pm$ 0,9	15,4 $\pm$ 1,0	12,4 $\pm$ 1,5*	19,8 $\pm$ 1,1* [†]
5-НТР	0,133 $\pm$ 0,0099	0,187 $\pm$ 0,0295	0,190 $\pm$ 0,022*	0,096 $\pm$ 0,0062* [†]
5-НТ	0,175 $\pm$ 0,0352	0,123 $\pm$ 0,0138	0,0778 $\pm$ 0,0143* [†]	0,127 $\pm$ 0,0158
5-HIAA	0,321 $\pm$ 0,0535	0,315 $\pm$ 0,0525	0,338 $\pm$ 0,0316	0,268 $\pm$ 0,0395

и особенно N-ацетилирование серотонина в последнем отделе мозга. В стриатуме увеличивался синтез триптамина, в то время как в эпифизе усиливался его катаболизм. В лобной доле коры этот аминоксоль повышал N-ацетилирование триптофана и усиливал катаболизм мелатонина, в отличие от гипоталамуса, где снижалась его деградация. Большинство эффектов опосредовались через повышение доступности триптофана в мозге за счет поступления его в составе композиции.

Литература

1. Золотухин, М.М. Метод определения метаболитов гидроксилазного пути обмена триптофана в эпифизе крысы с помощью ион-парной хроматографии с детектированием по флуоресценции / М.М. Золотухин, Е.М. Дорошенко // Журнал ГрГМУ. – 2007. – № 2. – С. 25-28.
2. Метаболические эффекты композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью и таурина при синдроме отмены этанола / В.Ю. Смирнов [и др.] // Аминокислоты и их производные в биологии и медицине: материалы II Междунар. науч. конф., Гродно, 10-12 окт. 2001 г. / НАН Беларуси, Институт биохимии, УО ГрГУ им. Я. Купалы; под общ. ред. Л.И. Нефедова. – Гродно, 2001. – С. 103.
3. Нефедов, Л.И. Биологическая роль таурина / Л.И. Нефедов // Вестн АН Беларуси. – 1992. – № 3-4. – С. 99-106.
4. Островский, Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский. – Мн.: Наука і техника, 1995. – С. 62-63, 164-210.
5. Попова, Н.К. Серотонин и поведение / Н.К. Попова, Е.В. Науменко, В.Г. Колпаков. – Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1978. – С. 51-52.
6. Amino Acids (Chemistry, Biology, Medicine); edited by C. Lubec, J.A. Rosenthal. – N.Y.: Escom, 1990. – P. 1196.
7. Badawy, A.A.-B. Tryptophan metabolism in alcoholism / A.A.-B. Badawy // Adv. Exp. Med. Biol. – 1999. – Vol. 467. – P. 265-274.
8. Fernstrom, J.D. Branched-Chain Amino Acids and Brain Function / J.D. Fernstrom // J. Nutr. – 2005. – Vol. 135. – Suppl. 6. – P. 1539S-1546S.
9. Glowinsky, J. Regional studies of catecholamines in the rat brain. The disposition of [3 H]-dopamine and [3 H]-DOPA in various regions of the brain / J. Glowinsky, L.L. Iversen // J. Neurochem. – 1966. – Vol. 13, N. 8. – P. 655-669.
10. Naimova, T.G. Change in the biogenic amine content in rats in acute and chronic alcohol poisoning / T.G. Naimova // Farmakol. Toksikol. – 1978. – Vol. 41, N. 1. – P. 49-52.
11. Sandyk, R. L-tryptophan in neuropsychiatric disorders: a review / R. Sandyk // Int. J. Neurosci. – 1992. – Vol. 67, N. 1-4. – P. 127-144.
12. Voisin, P. Arylamine N-acetyltransferase and arylalkylamine N-acetyltransferase in the mammalian pineal gland / P. Voisin, M.A. Namboodiri, D. Klein // J. Biol. Chem. – 1984. – Vol. 259, N. 17. – P. 10913-10918.

Поступила 02.09.08