

УДК 577.11:612.015.3:613.83) – 092.9

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОДЕРЖАНИЯ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ В ТАЛАМИЧЕСКОЙ ОБЛАСТИ КРЫС ПРИ ВВЕДЕНИИ МОРФИНА И ЕГО ОТМЕНЕ

М.Н. Курбат, В.В. Лелевич

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Проведено комплексное сравнительное исследование содержания серосодержащих аминокислот в таламической области крыс при длительном введении морфина и в динамике морфинового абстинентного синдрома. Выявлены особенности обмена цистина, цистеиновой кислоты, цистатионина, метионина и таурина у крыс, находящихся в состоянии наркотической зависимости.

Ключевые слова: ЦНС, головной мозг, таламическая область, морфин, серосодержащие аминокислоты.

In this research a complex comparative investigation of sulphur-containing amino acids in the thalamic region of rats with prolonged morphine intoxication, as well as in the dynamics of morphine abstinent syndrome development has been carried out. The peculiarities of cystine, cysteate, cystathionine, methionine and taurine metabolism in the addicted rats have been revealed.

Key words: CNS, brain, thalamic region, morphine, sulphur-containing amino acids.

Введение

Изучение механизмов формирования опиатной абстиненции способствовало накоплению новой информации о роли разнообразных метаболических отклонений в ЦНС при этом состоянии. Согласно эпидемиологическим исследованиям, наиболее часто потребляемыми наркотическими средствами в РБ являются опий кустарного производства, героин и его самодельные аналоги [7]. Влияние морфина на ЦНС разнообразно. В основном, это депрессивные эффекты: анальгетический, седативный, снотворный, угнетение центров дыхания, терморегуляции и кашлевых рефлексов. Вместе с тем, морфин оказывает и возбуждающее действие на пусковые зоны рвотного рефлекса, на центры глазодвигательных и блуждающих нервов, а также стимулирует высвобождение антидиуретического гормона, сокращение гладкой мускулатуры кишечника, повышает тонус сфинктера Одди, желчных протоков и сфинктера мочевого пузыря. Под действием морфина повышается и тонус бронхиальных мышц [6].

Продолжающиеся введения в организм наркотических веществ приводят к появлению физической зависимости, которая характеризуется толерантностью, когда для получения положительного подкрепления необходимы все большие дозы наркотика. Начало абстиненции инициируется резким прекращением поступления опиатов в организм (спонтанная абстиненция), либо с помощью антагонистов опиоидных рецепторов: налоксона, налтрексона или налмефена (так называемый «индуцированный» абстинентный синдром). Ослабление опиоидной нейротрансмиссии немедленно сказывается на состоянии других нейромедиаторных систем, в первую очередь, катехоламинергических, глутаматергических, ГАМК-ергических, холинергических [1, 20].

Довольно глубоко раскрыты нарушения нейромедиаторного обмена, в меньшей степени белко-

во-аминокислотного, углеводного и липидного [8, 12]. Однако отдельные механизмы, к которым относится обмен серосодержащих аминокислот, нуждаются в более детальном изучении, что и послужило основой для данного исследования.

Нейрофизиологические механизмы наркотической зависимости базируются в стволовых и лимбических структурах мозга, где располагается так называемая «система подкрепления» [10]. В головном мозге млекопитающих обнаружены области, электрическое раздражение которых приводит к появлению выраженных приятных ощущений и желанию повторять стимуляции [16]. Эти зоны позитивного подкрепления охватывали практически всю лимбическую систему, лобные доли коры, латеральный гипоталамус и пути от среднего мозга, моста и верхних отделов продолговатого мозга. Полагают, что положительное подкрепление связано в первую очередь с активацией μ -опиатных рецепторов в вентральной покрышке среднего мозга и δ -рецепторов в прилежащем ядре. Дофаминсодержащие нейроны, тела которых расположены в вентральной покрышке, дают отростки в область срединного переднего мозга, где иннервируют прилежащее ядро, вентральную часть бледного шара, фронтальную и поясную извилины коры мозга и другие отделы переднего мозга. Разрушение структур, содержащих тела нейронов (вентральная покрышка), их аксоны и окончания (структуры промежуточного и переднего мозга), приводило к существенному уменьшению восприятия положительно подкрепляющего действия психоактивных веществ [2].

К настоящему времени достаточно полно изучены регуляторные свойства аминокислот и их дериватов в процессах биосинтеза белка и высокоактивных биологических субстанций (медиаторы, гормоны), регуляции активности ключевых реакций промежуточного обмена, интеграции основных метаболических потоков (гликолиз, глюконео-

генез, синтез сложных липидов, цикл трикарбоновых кислот), а также функционального состояния органов и систем [15].

Как известно, метаболизм серосодержащих аминокислот в мозге коренным образом отличается от такового в периферических тканях [14]. Это обуславливается широким участием активной формы метионина (S-аденозилметионина) в реакциях метилирования при синтезе катехоламинов, гистамина, фосфотидилэтаноламина. Цистатионин – продукт конденсации гомоцистеина и серина – будучи промежуточным метаболитом в обмене серы, важен для синтеза сульфатидов и некоторых других нейроспецифических сложных липидов мозга. Кроме того, ЦНС отличается от периферических тканей довольно высоким содержанием таурина [9].

В этой связи представилось интересным изучить изменение содержания серосодержащих аминокислот при введении морфина и его отмене.

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на 40 белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г, содержащихся на обычном рационе вивария. Наркотизацию проводили 1% раствором морфина гидрохлорида, назначаемым для развития зависимости внутрибрюшинно в нарастающих дозах в течение 7 суток. Абстинентный синдром вызывали отменной наркотика. Животных декапитировали через 1 час (хроническая морфиновая интоксикация (ХМИ)), 1, 3 и 7 суток после отмены (морфиновый абстинентный синдром (МАС)). Контрольным животным вводили адекватные количества физиологического раствора. После декапитации на холоду извлекался головной мозг и выделялся таламус и гипоталамус (таламическая область) [13], которая немедленно замораживалась в жидком азоте, где хранилась до исследования. Количественная идентификация серосодержащих аминокислот (цистин, цистеиновая кислота, цистатионин, метионин и таурин) в ткани таламической области проводилась на аминоканализаторе ААА-339М методом катионной хроматографии [3].

Животных умерщвляли одномоментной декапитацией в соответствии с «Правилами проведения научных исследований с использованием экспериментальных животных (Приложение 4: порядок проведения эвтаназии)».

Обработку экспериментальных данных проводили параметрическим методом с применением критерия Стьюдента при помощи пакета программ «Statistika 6.0».

Результаты и обсуждение

Анализ результатов экспериментов (таблица) по изучению влияния 7-дневного поступления морфина гидрохлорида и его отмены на аминокислотный пул серосодержащих аминокислот показал, что наиболее выраженные в количественном значении изменения изучаемых показателей отмечается при развитии абстинентного синдрома (особенно при 3-х и 7-дневной отмене наркотика).

Заслуживает внимания, что при МАС любой длительности (от 24 часов до 1 недели) возраста-

Таблица - Содержание серосодержащих аминокислот (мкмоль/г ткани) в таламической области крыс при длительном введении морфина и его отмене (M±m)

Показатель	Контроль	ХМИ	МАС 1 сутки	МАС 3 суток	МАС 7 суток
Мет	0,28± 0,010	0,29± 0,012	0,28± 0,023	0,29± 0,019	0,33± 0,0152*
Тау	0,65± 0,044	0,59± 0,036	0,62± 0,060	0,64± 0,096	0,79± 0,125
Цис	0,28± 0,007	0,28± 0,017	0,31± 0,006*	0,31± 0,008*	0,32± 0,008*
ЦК	0,14± 0,011	0,28± 0,018*	0,20± 0,028°	0,35± 0,069*	0,25± 0,029*
Цтн	0,09± 0,006	0,10± 0,003	0,07± 0,003	0,08± 0,005*°	0,10± 0,004

Примечание: 1. Мет – метионин, тау – таурин, цис – цистин, ЦК – цистеиновая кислота, мет – метионин, цтн – цистатионин.

2. * - статистически достоверные различия в сравнении с контролем (p<0,05); ° - статистически достоверные различия в сравнении с группой животных, находящихся в состоянии хронической морфиновой интоксикации (p<0,05).

ет количество цистина в среднем на 10% в сравнении с контрольным значением; в то время как при хронической морфиновой интоксикации этот показатель не изменяется. Цистин – продукт восстановления цистеина под действием НАД-зависимой цистеинредуктазы – путем окисления тиоловой (-SH) группы может превращаться в цистеиновую кислоту [4]. Резкое повышение цистеата более чем в 2 раза при морфиновом абстинентном синдроме длительностью 3 и 7 суток, вероятно, свидетельствует об активации данного метаболического пути. Однако дальнейшее превращение путем декарбоксилирования с образованием таурина, возможно, блокировано, что подтверждается неизменяющимся уровнем таурина и накоплением его метаболического предшественника цистеиновой кислоты в таламической области опытных животных.

Некоторые исследователи говорят о предполагаемой нейромедиаторной роли цистеиновой кислоты, учитывая ее возбуждающую активность на нейроны головного мозга, аналогичную активности дикарбоновых аминокислот [11]. Кроме того, производное цистеата, цистеинсульфиновая кислота, связывается с глутаматными рецепторами и конкурирует с глутаминовой кислотой за ее специфический захват и транспорт. Все серосодержащие аминокислоты активно высвобождаются срезами мозга под влиянием ионов калия и имеют, по видимому, специфические Na⁺-зависимые и Na⁺-независимые рецепторы и являются природными агонистами возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот. Следовательно, учитывая перечисленные факторы, рассматривать высокий уровень цистеиновой кислоты в данном отделе головного мозга как инертный биохимический показатель вряд ли целесообразно.

Стабильный фонд таурина в изучаемом регионе центральной нервной системы при токсическом воздействии наркотика обусловлен низкой нейрохимической активностью данного соединения в таламической области. Наиболее высокие концентрации таурина отмечаются в коре мозга, мозжечке, полосатом теле и особенно в ретине. При автордиографическом исследовании обнаруживается

преимущественно глиальная локализация таурина. На основании данных биохимических исследований предполагается существование тауринсодержащего нейронного пути от обонятельной луковицы к пириформной коре [9].

Таурин, как и ГАМК, ингибирует передачу нервных импульсов. Предшественники обоих соединений (глутамат и цистеинсульфинат) обладают противоположным возбуждающим действием. Таурин оказывает общий угнетающий эффект на ЦНС и, по мнению целого ряда исследователей, обладает большинством признаков нейромодулятора. Однако до тех пор, пока не будут идентифицированы тауринергические нейроны, изолированы специфические рецепторы, найдены агонисты, можно считать, что он играет более универсальную, чем нейротрансмиттерная, нейроэффекторную роль [21].

Стабильность концентрации таурина также обусловлена трудностью его транспорта через гематоэнцефалический барьер (вследствие высокой полярности молекулы) [19, 22].

Возрастание уровня метионина при отмене введения морфина на протяжении 1 недели в некоторой степени отражает нарушение процессов метилирования, вследствие нарушения превращения метионина в его активную форму S-аденозилметионин и последующее участие в качестве донора метильных групп при синтезе норадреналина, холина, фосфотилэаноламина, нуклеиновых кислот. Процессам метилирования отводится важная роль в проведении сигнала через мембрану, в регулировании текучести мембраны и, наконец, в процессах метилирования ДНК [18].

Кроме участия в реакциях метилирования и биосинтезе белков, метионин может превращаться в цистатионин под влиянием фермента цистатионинсинтазы, через стадию образования промежуточного продукта гомоцистеина и последующего взаимодействия с серином. Цистатионин является одной из недостаточно изученной аминокислотой в организме человека [16]. Биологическая роль его до конца не выявлена. Интересно отметить, что мозг человека содержит более высокие концентрации данной аминокислоты, чем мозг животных. Концентрация его в мозге человека повышается в процессе развития, а в мозге крысы, напротив, снижается. При некоторых психических заболеваниях, а также при действии нейротоксинов содержание цистатионина в мозге резко возрастает. В то же время у некоторых умственно отсталых больных с врожденным нарушением обмена серосодержащих аминокислот его содержание в головном мозге было чрезвычайно низким. Будучи промежуточным метаболитом в обмене серы, цистатионин важен для синтеза сульфатидов и сульфатированных мукополисахаридов ЦНС.

Проведенными экспериментами установлено, что при МАС длительность 3 суток уровень серина в таламической области повышается [5], а цистатионина снижается, что может являться следствием нарушения утилизации серина для синтеза цистатионина.

Заключение

Таким образом, в основе реализации центральных эффектов морфина гидрохлорида могут лежать нарушения аминокислотного пула серосодержащих аминокислот таламической области. С другой стороны, психоактивные вещества, к которым относятся опиоиды, несомненно, изменяют метаболизм в ЦНС, в том числе и обмен цистина, цистеиновой кислоты, цистатионина, метионина и таурина. Именно этим может быть объяснен обнаруженный аминокислотный дисбаланс в фонде серосодержащих аминокислот при длительном поступлении в организм морфина и при его отмене.

Литература

1. Анохина, И.П. Биологические механизмы предрасположенности к зависимости от психоактивных веществ / И.П. Анохина // Вопросы наркологии – 2006. - №1. - С. 21-30.
2. Арзуманов, Ю.Л. Нейрофизиологические аспекты наркологии / Ю.Л. Арзуманов, С.К. Судаков // Национальный научный центр наркологии [Электронный ресурс]. – 2006. – Режим доступа: <http://www.nncn.ru/index.php?id=31>. – Дата доступа 30.06.2007.
3. Бенсон, Дж. В. Хроматографический анализ аминокислот и пептидов на сферических смолах и его применение в биологии и медицине / Дж. В. Бенсон, Дж.А. Патерсон; под ред. Ю.А. Овчинникова // Новые методы анализа аминокислот, пептидов и белков. - М., 1974. - С. 9-84.
4. Березов, Т.Т. Биологическая химия / Березов, Т.Т., Коровкин, Б.Ф. - 3-е издание. - М.: Медицина, 1998. - 704с.
5. Курбат, М.Н. Фонд свободных аминокислот головного мозга крыс при морфиновой интоксикации: автореф. дис. ... канд. мед. наук : 03.00.04 / М.Н. Курбат; Институт биохимии НАН Б. - Гродно, 2006. - 24 с.
6. Курбат, Н.М. Фармакорепекулярный справочник врача. / Н.М. Курбат Н.М., П.Б. Станкевич // Мн.: Вышэйш. шк., 2003. - 606 с.
7. Наркопотребление и незаконный оборот наркотиков в Республике Беларусь: Отчет. / Лелевич В.В. [и др.]. - Мн: Альтиора – 46с.
8. Нейрохимия опийной наркомании / А.И. Головкин [и др.] // Нейрохимия. – 2000. – Т. 17. - №1. - С. 3-12.
9. Нефедов, Л.И. Таурин (биохимия, фармакология, медицинское применение) / Л.И. Нефедов // Гродно, 1999. - 140 с.
10. Судаков, С.К., Судаков, К.В. Церебральные механизмы опийной зависимости / С.К. Судаков, К.В. Судаков // Наркология. – 2003. - №1. - С. 38-43.
11. Brosnan, J.T., Brosnan, M.E. The sulfur-containing amino acids: an overview / J.T. Brosnan, M.E. Brosnan // J. Nutr. – 2006. – Vol. 136. - 6 Suppl. - P. 1636S-1640S.
12. Dole, V.P. Biochemistry of addiction / V.P. Dole, // Ann. Rev. biochem. – 1970. – Vol. 39. – P. 821-840.
13. Glowinski, J. Regional studies of catecholamines in the rat brain. The disposition of (H3)-norepinephrine, (H3)-dopamine and (H3)-DOPA in various regions of the brain / J. Glowinski, L. Iversen // Neurochem. – 1966. – Vol. 13. – P. 655-669.
14. Jones, P. Studies on amino acid metabolism in the brain using 15N-labeled precursors / P. Jones, H.S. Bachelard // Neurochem. Res. – 1999. – Vol. 24. - №11. - P. 1327-1331.
15. Meijer, A.J. Amino acid signalling and the integration of metabolism / A.J. Meijer, P.F. Dubbelhuis // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2004. – Vol. 313. - №2. - P. 397-403.
16. Miller, A.L. The methionine-homocysteine cycle and its effects on cognitive diseases / A.L. Miller // Altern. Med. Rev. – 2003. – Vol. 8. - №1. - P. 7-19.
17. Milner, P.M. Brain-stimulation reward: a review / P.M. Milner // Can. J. Psychol. – 1991. - Vol. 45. - P. 11-36.
18. Mischoulon, D. Role of S-adenosyl-L-methionine in the treatment of depression: a review of the evidence / D. Mischoulon, M. Fava. // Am. J. Clin. Nutr. – 2002. – Vol. 76. - №5. - P. 1158S-1161S.
19. Ohtsuki, S. New aspects of the blood-brain barrier transporters; its physiological roles in the central nervous system / S. Ohtsuki // Biol. Pharm. Bull. – 2004. – Vol. 27. - №10. - P. 1489-1496.
20. Reid, A. Neuropharmacology of addiction / A. Reid, A. Lignoford-Hughes // Psychiatry. – 2006. – Vol. 5. - №12. - P. 449-454.
21. Schuller-Levis, G.B., Taurine: new implications for an old amino acid / G.B. Schuller-Levis, E. Park // FEMS Microbiol. Lett. – 2003. – Vol. 226. - №2. - P. 195-202.
22. Hawkins, R.A. Structure of the blood-brain barrier and its role in the transport of amino acids / R.A. Hawkins, R.L. O'Kane, I.A. Simpson // J. Nutr. – 2006. - Vol. 36. - 1Suppl. - P. 218S-226S.

Поступила 31.08.07