

УДК 616.89-008.441.13-07-08:612.398.192

УРОВЕНЬ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ПЛАЗМЕ КРОВИ И ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ ТАУРИНА И ЦИНКА СУЛЬФАТА

Е.М. Дорошенко, М.В. Горецкая, В.Ю. Смирнов,
Г.М. Сухоцкая, В.М. Шейбак

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Композицию, состоящую из таурина и цинка сульфата, вводили однократно внутривентрикулярно в дозе 400 мг/кг массы 20 белым крысам-самкам породы Вистар массой 220-260 г. Показано, что сочетание аминокислоты таурин и микроэлемента цинка при внутривентрикулярном введении вызывает существенный сдвиг соотношения концентраций тормозных и возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот в исследованных отделах мозга. Это позволяет предположить, что данное сочетание соединений является перспективным для дальнейших фармако-биохимических исследований.

Ключевые слова: таурин, цинка сульфат, свободные аминокислоты, головной мозг.

Composition of taurine + zinc sulphate was administered (intraperitoneally, 400 mg/kg as a bolus dose) to female Wistar rats (n=20, body weight 220-260 g). Such combination caused after the i.p. injection the substantial shift in concentration ratio between inhibitory and excitatory amino acid neurotransmitters in the brain segments studied. This suggests that taurine/ZnSO₄ combination requires the further pharmacobiochemical investigations.

Key words: taurine, zinc sulphate, free amino acids, brain.

Аминокислота таурин широко распространена в тканях животных, но, вероятно, обладает особым сродством к возбудимым тканям, таким, как нервная ткань и мышцы [17]. Значительные количества таурина обнаружены в печени, которая является местом образования таурохолевой кислоты и в почках, где скорость экскреции обнаруживает генетическую, пищевую и внешнюю зависимость [14]. Несмотря на интенсивные исследования в последние 20 лет возможной биологической роли таурина, полученные данные больше полезны в освещении влияния этой аминокислоты на ряд кажущихся несвязанными биологических и биохимических феноменов, а не в понимании механизмов, которыми таурин вызывает эти различные действия.

В значительной степени все биологические свойства таурина в возбудимых тканях имеют отношение к единственному феномену: регуляции порога возбуждения. Данные указывают на мембраностабилизирующий эффект таурина, путем воздействия на мобилизацию ионов кальция в момент поляризации. В качестве последствий или как отражение дополнительного действия таурина, он влияет на движение ионов калия и хлора [11].

Противосудорожный эффект таурина наблюдался у целого ряда животных, но в гораздо меньшей степени, чем при данных нарушениях у человека. Таурин вызывает ингибирование возбудимых нейронов, которое характеризуется достаточно медленным началом и более медленным временем восстановления после прекращения воздействия, по сравнению с эффектами в подобных условиях ГАМК или глутамата. In vivo противосудорожные

действия таурина на спонтанные или экспериментальные судороги характеризуются заметным снижением их частоты и выраженности. Более того, некоторые данные указывают, что в специальных условиях предварительное введение таурина может препятствовать возникновению судорог [13].

Предполагаемое действие таурина может быть связано с влиянием на компартментализированный метаболизм глутамата, в случае, когда этот метаболизм нарушается. Регуляторные процессы, связывающие глутамат, глутамин, ГАМК и аспартат в интегрированный метаболический цикл, имеют место в различных анатомических структурах, часть из которых является нейрональными, часть – глиальными. Когда в тканях ЦНС наблюдаются колебания в концентрации таурина и, главным образом, глутамата в нейронах, изменения возбуждения в ЦНС коррелируют с уровнями таурина и глутамина, которые, в основном, находятся в клетках глии. Это можно интерпретировать так, что таурин, высвобождаемый из нейронов, захватывается клетками глии. При этом сниженный уровень глутамата почти стехиометрически компенсируется повышением глутамина, т.е. глутамат, высвобождаемый из возбудимых нейронов, поступает в глию, где превращается в глутамин. При введении таурина уровень глутамата повышается и уровень глутамина имеет тенденцию к возвращению к норме, что может указывать на то, что в этих условиях таурин препятствует стимуляции путем высвобождения глутамата [8].

Показано, что потенцирование NMDA-рецепторов в культуре нервных клеток при внесении в среду инкубации глутамата и цистеина заметно умень-

шается в присутствии катионов цинка или после предварительной обработки культуры клеток солями цинка [12]. Таким образом, есть основания полагать, что таурин и цинк являются синергистами в способности ослаблять действие возбуждающих аминокислот в клетках мозга.

Целью работы явилось определение влияния таурина и цинка сульфата после их одновременно однократного парентерального введения на уровень нейрональных аминокислот в отделах мозга крыс.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 20 белых крысах-самках породы Вистар массой 220-260 г. Композицию, состоящую из таурина и цинка сульфата (16 : 1 по массе), вводили внутривентриально однократно в дозе 400 мг/кг массы из расчета 1 мл смеси на 100 г массы животного. Контрольная группа животных получала соответствующий объем изотонического раствора. Крыс забивали декапитацией через 1 и 24 ч. Отделы головного мозга (ствол, стриатум, гипоталамус) выделяли на холоду и фиксировали в жидком азоте в течение 3 мин. после забоя. Содержание свободных аминокислот определяли в хлорнокислых экстрактах плазмы крови и ткани мозга (в 0,2 М растворе хлорной кислоты) методом катионообменной хроматографии или обращенно-фазной ВЭЖХ с флуоресценцией, соответственно [3]. Статистическую обработку полученных данных (t-тест) проводили с использованием пакета Statistica 6.0.

Результаты и обсуждение

Однократное введение композиции, содержащей таурин и цинка сульфат, внутривентриально, вызывало изменение общего состояния животных, которое проявлялось общей заторможенностью, вялостью и арефлексией уже через 1 час после инъекции. Через 24 ч общее состояние и поведение подопытных животных не отличалось от такового в контрольной группе.

Анализ аминокислотного пула плазмы крови выявил общее снижение концентраций большинства аминокислот через 1 ч после введения композиции. Достоверно снижались концентрации треонина (на 68%), валина (на 23%), метионина (на 21%), изолейцина (на 42%), лейцина (на 36%), фенилаланина (на 30%) и лизина (на 38%). Среди заменимых аминокислот достоверно меньше контрольных уровней были концентрации серина (на 27%), глутамина (на 26%), глутамата (на 44%) и гистидина (на 57%).

Через 24 ч после парентерального введения композиции, состоящей из таурина и цинка сульфата, в плазме крови уровни свободных аминокислот по существу не отличались от контрольных значений, тем не менее, соотношение фенилаланин/тирозин было выше, чем в контрольной группе (1,62 против 1,28), так же, как и соотношение разветвленные аминокислоты/ароматические аминокислоты (5,36

против 4,89).

Среди исследованных отделов мозга (ствол, стриатум и гипоталамус) однократное внутривентриальное введение композиции, содержащей таурин и цинка сульфат, через 1 ч приводило к наиболее выраженным изменениям концентраций нейрональных свободных аминокислот в стволе мозга (рисунок 1). В этом отделе мозга регистрировалось увеличение цистеиновой кислоты (в 3,5 раза), аспартата (в 4,5 раза), глутамата (в 3,5 раза), аспарагина (в 2 раза), серина (на 51%), глутамина (в 3,7 раза), гистидина (в 4,4 раза), треонина (в 4,2 раза), фосфоэтанолamina (в 4,9 раза), аргинина (на 52%) и аланина (в 2 раза). Ниже контрольных значений были уровни глицина и ГАМК, на 25% и 23%, соответственно. Известно, что основные возбуждающие аминокислоты в мозге глутамат и аспартат, тогда как ГАМК и глицин являются тормозными нейромедиаторами. Сопоставляя общее состояние животных через 1 ч после введения композиции, и обнаруживаемые изменения, вероятно, следует считать их компенсаторной реакцией в ответ на введение таурина и цинка, соединений, обладающих депрессивным действием [8]. Следует отметить, что содержание таурина в стволе мозга имело тенденцию к повышению (увеличение в среднем на 25%) (см. рис.1).

В стриатуме через 1 ч после введения композиции изменения в содержании нейрональных аминокислот были менее значительны в количественном отношении. Регистрировалось практически двукратное падение уровня глутамина и снижение на 30% концентрации треонина (рисунок.2). Несколько повышались уровни аргинина (на 33%), аланина (на 18%) и β -аланина (на 60%). Следует заметить, что, как и в стволе мозга, концентрация таурина в стриатуме имела некоторую тенденцию к повышению (увеличение на 10%) (см. рис.2).

Известно, что среди всех нейронов мозга клетки гипоталамуса наиболее чувствительны к гипоксии и эксайтотоксическим агентам [10]. В данном эксперименте через 1 ч после введения композиции изменения в содержании нейрональных аминокислот в гипоталамусе характеризовались снижением концентрации аспартата (на 17%) и треонина (на 38%) при одновременном повышении количества глутамина (на 51%) (рисунок 3). Аналогично вышеуказанным отделам мозга, в гипоталамусе также отмечалась некоторая тенденция к повышению уровня таурина (увеличение на 20%).

Таким образом, через 1 ч после введения композиции наиболее выраженные изменения регистрируются в стволе мозга, где общее содержание нейрональных аминокислот повышается на 74%, тогда как в стриатуме и гипоталамусе их суммарное количество составляло 94% и 96% от контрольных значений, соответственно. Различия в содержании аминокислот в отделах мозга могут отражать резкие изменения их концентраций в плазменном пуле и являться результатом различной проницаемости гематоэнцефалического барьера в

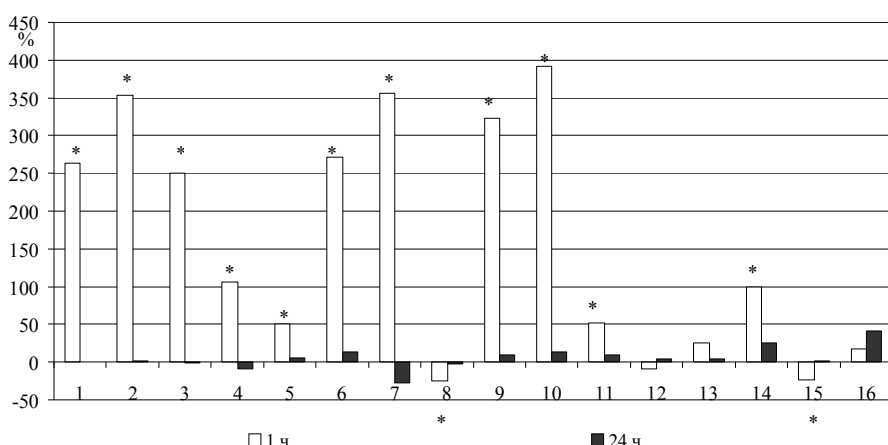


Рис. 1. Изменения содержания нейроактивных аминокислот в стволе мозга крыс после совместного введения таурина и цинка сульфата (% относительно контрольной группы)

Примечание к рисункам 1-3:

1 - Цистеиновая кислота, 2 - Аспартат, 3 - Глутамат, 4 - Аспарагин, 5 - Серин, 6 - Глутамин, 7 - Гистидин, 8 - Глицин, 9 - Треонин, 10 - Фосфоэтаноламин, 11 - Аргинин, 12 - β-Аланин, 13 - Таурин, 14 - Аланин, 15 - ГАМК, 16 - Тирозин

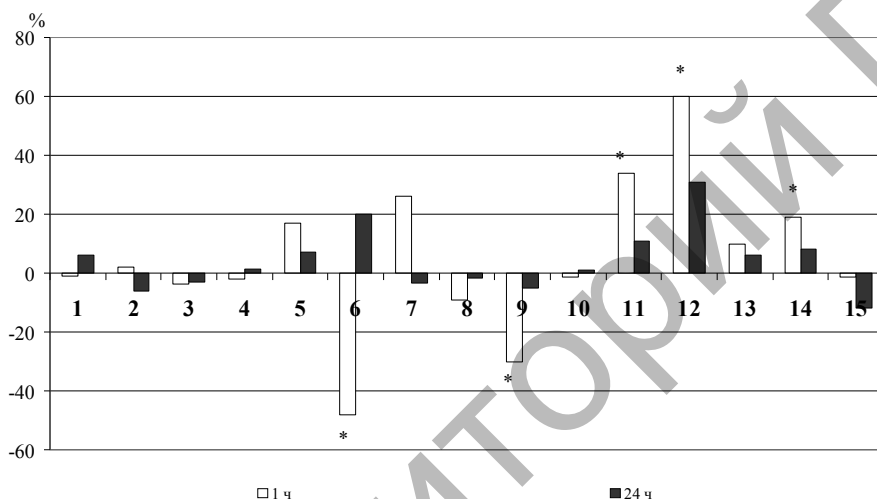


Рис. 2. Изменения содержания нейроактивных аминокислот в стриатуме мозга крыс после введения совместного введения таурина и цинка сульфата (% относительно контрольной группы)

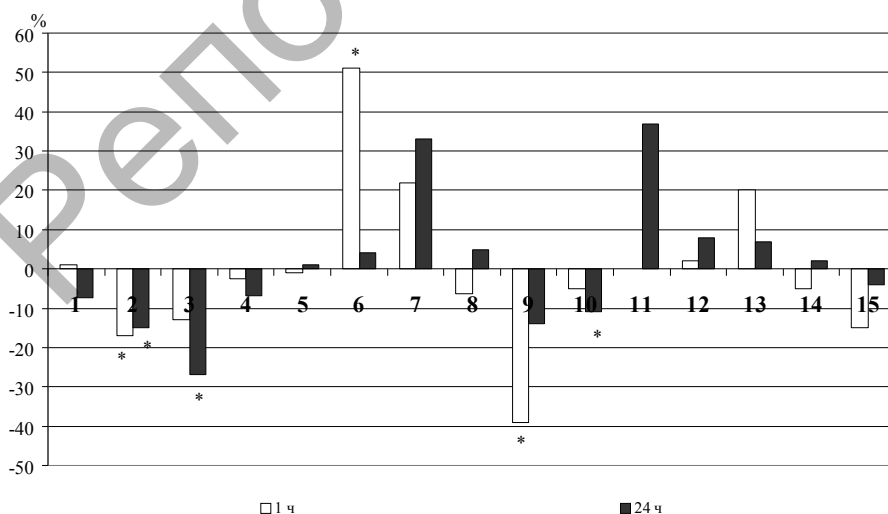


Рис. 3. Изменения содержания нейроактивных аминокислот в гипоталамусе мозга крыс после совместного введения таурина и цинка сульфата (% относительно контрольной группы)

обсуждаемых регионах мозга [10].

Через 24 ч после однократного внутривентрикулярного введения композиции в исследованных отделах мозга содержание нейроактивных аминокислот, в основном, нормализовалось, за исключением гипоталамуса. В этом отделе мозга продолжала оставаться сниженной концентрация аспартата, регистрировалось падение уровня глутамата (на 27%) и фосфоэтанолamina (на 11%) (см. рис. 3). При этом общее содержание нейроактивных аминокислот составило только 88% от контрольных значений. Это согласуется с общей нормализацией плазменного пула свободных аминокислот через 24 ч после введения композиции.

Сочетание в исследуемой композиции таурина и катионов цинка представляется весьма перспективным по целому ряду причин. Показано, что основной функцией таурина в организме является «переустановка» конкретного физиологического или биохимического параметра, либо путём снижения важности возникшего состояния посредством стимуляции регуляторных механизмов, либо путём активации соответствующего процесса для восстановления конкретного параметра, когда тот ниже нормы. С другой стороны, когда физиологическая регуляция любого из этих параметров адекватна, эффект дополнительного введения таурина минимален. Это должно объяснять его низкую токсичность при физиологических состояниях, в противоположность выраженным эффектам аминокислоты в условиях ее чрезмерной потери, низких тканевых уровней или клинических заболеваний, связанных с нарушением тканевой секвест-

рации таурина или его межклеточным перераспределением [7, 15]. Во всех этих процессах важная роль принадлежит катионам цинка, баланс в ЦНС которых играет важную роль в стабилизации функций самых разных рецепторов (NMDA, GABA, DOPA, ацетилхолиновых). Он является также одним из нейропротективных факторов, взаимодействующих с факторами роста нервов и цитокинами. Таурин может выступать агонистом многих нейропротекторов, облегчая их проникновение через гематоэнцефалический барьер и изменяя сродство лигандов к рецепторам [1, 8, 16].

Показано положительное влияние таурина на восполнение метаболитов цикла глутаминовой кислоты, наблюдаемое при экспериментальной эпилепсии. В этом гомеостатическом механизме таурин (высвобождение/связывание в комплекс) и глутаматдегидрогеназа (стимуляция/ингибирование) конкурируют за ограниченное количество Zn^{2+} [8]. Известно, что цинк связан с рядом функционально важных клеточных белков, изменяет метаболическую активность клетки, обладает антиоксидантными свойствами, регулирует апоптоз, изменяет экспрессию генов, защищает клетки от нейротоксических веществ, способствует пролиферации клеток и его содержание изменяется при различных патологических состояниях ЦНС [6, 9]. Предварительные исследования, проводившиеся на гиппокампе крысят, указывают на корреляцию между содержанием цинка и таурина, главным образом, в dentate gyrus. У взрослых крыс в данном отделе мозга корреляция значительно выше по сравнению с гиппокампом, что может быть связано с большей способностью первой из этих областей к пролиферации. Взаимодействия таурина с цинком являются критическим моментом многих исследований, направленных на понимание механизмов, участвующих в развитии и регенерации ЦНС.

Таким образом, данная композиция, содержащая только таурин и цинка сульфат, в отличие от других тестируемых нами ранее композиций, содержащих, кроме таурина, ряд незаменимых аминокислот [2, 4, 5], способна вызывать существенный сдвиг соотношения концентраций тормозных и возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот. Поскольку уровень самого таурина достоверно не изменился ни в одной из исследуемых структур мозга и ни в одном сроке наблюдения, можно предположить опосредованное действие композиции, реализуемое через влияние на функционально-метаболические взаимосвязи между

нейротрансмиттерными системами, которые во многом обусловлены влиянием катионов цинка [1], что будет являться предметом последующих исследований.

Литература

1. Громова О.А., Кудрин А.В., Катаев С.И. и др. Влияние церебральной гипоксии на микроэлементный гомеостаз головного мозга // Ж. неврологии и психиатрии – 2003. – №11. – С.59-61.
2. Дорошенко Е.М., Разводовский Ю.Е. Эффекты совместного введения триптофана, аминокислот с разветвленной углеводородной цепью и таурина на фонд нейроактивных соединений в отделах головного мозга крыс при синдроме отмены этанола / Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза: Материалы междунар. науч. конф., 28–29 сент. 2000 г., Гродно. В 2 ч. Ч.1 / Под общ. ред. Л.И. Нефёдова. – Гродно: ГрГУ, 2000. – С.155-160.
3. Дорошенко Е.М. Формирование фонда биогенных аминов и нейроактивных аминокислот в головном мозге крыс при алкогольной интоксикации и отмене этанола. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Минск, 1994. – 20с.
4. Смирнов В.Ю., Разводовский Ю.Е., Дорошенко Е.М. Метаболические эффекты композиции АРУЦ и таурина на фоне субхронической интоксикации барбитуратами // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины — 2004, № 5 — С.507–510
5. Смирнов В.Ю., Разводовский Ю.Е., Дорошенко Е.М., Островский С.Ю. Влияние композиции аминокислот с разветвленной углеводородной цепью, триптофана и таурина на обмен аминокислот в экспериментальных моделях алкоголизма // Украинский биохимический журнал, 2003. — т.75, №4. — С.101-107 (77-83)
6. Шейбак В.М., Шейбак Л.Н. Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинк-содержащих препаратов – Гродно, 2003. – 82 с.
7. DeLa Rossa, Stepanuk M.H. The effect of taurine depletion with guanidinoethane sulfonate on bile acid metabolism in the rat //Life Sci. - 1985. - Vol.36. - P.1347-1351.
8. Gelder N.M. The central mechanism of action for taurine: osmoregulation, bivalent cations, and excitation threshold // Biochem. Res. - 1983. - V.8, N5. - P.687-699.
9. Grungreiff K. Zinc in liver disease // J.Trace Elements in Experimental Medicine – 2002. – V.15. – P.67-78
10. Hussy N. Glial cells in the hypothalamo-neurohypophyseal system: key elements of the regulation of neuronal electrical and secretory activity // Prog. Brain Res. – 2002. – V.139. – P.95-112.
11. Idrissi A., Trenkner E. Taurine regulates mitochondrial calcium homeostasis // Adv. Exp. Med. Biol. – 2003. – V.526. – P.527-536.
12. Janaky R., Varga V., Hermann A. Mechanisms of L-cysteine neurotoxicity //Neurochem. Res. 2000. – V.25, N9-10. – P.1397-1405
13. Kirchner A, Breustedt J, Rosche B, Heinemann UF, Schmieden V. Effects of taurine and glycine on epileptiform activity induced by removal of Mg^{2+} in combined rat entorhinal cortex-hippocampal slices //Epilepsia – 2003. – V.44, N9. – P.1145-1152.
14. Lima L, Obregon F, Cubillos S, Fazzino F, Jaimes I. Taurine as a micronutrient in development and regeneration of the central nervous system // Nutr Neurosci. -2001. – V.4, N6. – P.439-443.
15. Sturman J.A., Hayes K.C. The biology of taurine in nutrition and development // Adv. Nutr. Res. - 1980. - Vol.3. - P.213-299.
16. Swinkels J.W.G.M., Kornegay E.T., Zhou W. Effectiveness of zinc amino acid chelate and zinc sulfate in restoring serum and soft tissue zinc concentrations when fed to zinc-depleted pigs // J.Anim. Sci. – 1996. – V.74. – P.2420-2430
17. Wu J.Y., Tang X.W., Tsai W.H. Taurine receptor: kinetic analysis and pharmacological studies // Adv. Med. Biol. — 1992. — V.315. — P.263-268

Поступила 16.06.06