

УДК 616.441.577.112

3.3.3 Патологическая физиология

DOI: 10.37903/vsgma.2022.4.2 EDN: LMOSCX

ВЛИЯНИЕ ТАУРИНА НА СПЕКТР АМИНОКИСЛОТ КОРЫ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ПРИ ИШЕМИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА**© Разводовский Ю.Е.¹, Смирнов В.Ю.², Троян Э.И.², Дорошенко Е.М.²,
Переверзев В.А.³, Максимович Н.Е.²**¹Институт биохимии биологически активных соединений НАН Беларуси, 230009, Республика Беларусь, Гродно, ул. Бульвар ленинского комсомола, 50²Гродненский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 230009, ул. Горького, 80³Белорусский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 220116, Минск, пр. Дзержинского, 83*Резюме*

Цель. Характеристика изменений пула аминокислот и их производных коры лобной и теменной доли больших полушарий мозга крыс при введении таурина на фоне субтотальной ишемии головного мозга (СИГМ).

Методика. Эксперимент выполнен на 18 белых беспородных крысах-самках. СИГМ моделировали у 12 крыс путём перевязки обеих общих сонных артерий в течение одного часа. Таурин (в дозе 100 мг/кг массы тела) вводили внутривенно непосредственно перед перевязкой общих сонных артерий. Содержание аминокислот и их дериватов в хлорнокислых гомогенатах тканей определяли методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Результаты. СИГМ вызвала снижение в коре больших полушарий уровней глутамата, аспарагина, тирозина, триптофана, орнитина, лизина и 1-метилгистидина. Введение таурина при СИГМ повышало уровни треонина, серина, глутамина и валина, а также родственных соединений – глутатиона, фосфоэтанолamina, α-аминомасляной кислоты, снижало концентрации цитруллина, аргинина, аланина, метионина, фенилаланина, гистидина, γ-аминомасляной кислоты (ГАМК), цистатионина и этаноламина.

Заключение. Субтотальная ишемия головного мозга вызывает обеднение пула свободных аминокислот коры больших полушарий. Введение таурина частично корригирует аминокислотный дисбаланс пула свободных аминокислот коры больших полушарий, вызванный СИГМ.

Ключевые слова: аминокислоты, кора больших полушарий, субтотальная ишемия головного мозга, таурин

EFFECT OF TAURINE ON THE SPECTRUM OF FREE AMINO ACIDS IN THE BRAIN CORTEX OF RATS UNDERGOING CEREBRAL ISCHEMIA**Razvodovsky Yu.E.¹, Smirnov V.Yu.², Troyan E.I.², Doroshenko E.M.², Pereverzev V.A.³,
Maksimovich N.E.²**¹Institute biochemistry of biologically active substances Academy of science of Belarus, 50, Boulevard of Lenin's komсомol St., 230009, Grodno, Republic of Belarus²Grodno State Medical University, 80, Gorkogo St., 230009, Grodno, Republic of Belarus³Belarusian State Medical University, 83, Dzerzhinsky Av., 220116, Minsk, Republic of Belarus*Abstract*

Objective. Characteristics of changes in the pool of amino acids in the cortex of the frontal and parietal lobes of cerebral hemispheres of rats after administration of taurine against the background of subtotal cerebral ischemia (SCI).

Methods. The experiment was carried out on 18 white outbred female rats. SCI was simulated in 12 rats by ligation of both common carotid arteries for one hour. Taurine (at a dose of 100 mg / kg body weight) was injected intravenously just before ligation of the common carotid arteries. The content of amino acids

and their derivatives in perchloric acid homogenates of tissues was determined by reversed-phase high-performance liquid chromatography (HPLC).

Results. SCI caused a decrease in the cerebral cortex levels of glutamate, asparagine, tyrosine, tryptophan, ornithine, lysine and 1-methylhistidine. The introduction of taurine in SIGM increased the levels of threonine, serine, glutamine and valine, as well as related compounds – glutathione, phosphoethanolamine, α -aminobutyric acid, decreased the concentrations of citrulline, arginine, alanine, methionine, phenylalanine, histidine, GABA, cystathionine and ethanolamine.

Conclusions. Subtotal cerebral ischemia causes depletion of the pool of free amino acids in the cerebral hemispheres. The introduction of taurine partially corrects the amino acid imbalance of the pool of free amino acids in the cerebral hemispheres caused by SIGM.

Keywords: amino acids, biogenic amines, brain cortex, subtotal cerebral ischemia, taurine

Введение

Актуальной задачей является поиск нейропротекторных средств, улучшающих восстановление нервных клеток, поврежденных ишемией-реперфузией, среди биологически активных соединений и естественных метаболитов. Аминокислоты и их производные играют важную роль в функционировании головного мозга, участвуя в биосинтезе мембранных белков и сигнальных молекул, гормонов и регуляторных пептидов [2-4]. Поэтому развитие дисбаланса в фонде аминокислот головного мозга может стать причиной возникновения различных невро-психических расстройств [5].

Таурин является высокоактивным природным соединением, обладающим антиоксидантными, мембраностабилизирующими и адаптогенными свойствами. Таурин играет интегральную роль в процессах осморегуляции, нейропротекции и нейромодуляции [2, 5-10].

Механизм нейропротекции таурина основан на поддержании внутриклеточного гомеостаза ионов кальция через ингибирование реверсного режима $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ насоса, ингибирование L-, P/Q-, N-потенциал-зависимых кальциевых каналов, предотвращение поступления Ca^{2+} через кальциевые каналы NMDA рецепторов, ингибирование высвобождения ионов кальция из эндоплазматического ретикулума и поддержания внутримитохондриального гомеостаза кальция [63]. Таурин оказывает защитный эффект в отношении глутамат-индуцированной эксайтотоксичности посредством активации GABA_A и стрихнин-чувствительных глициновых рецепторов [11-20].

Результаты экспериментальных и клинических исследований позволяют рассматривать его как эффективное средство метаболической коррекции целого ряда патологических состояний [2, 3, 6].

Целью исследования была характеристика изменений пула свободных аминокислот и их производных коры лобной и теменной долей левого и правого полушарий мозга крыс при введении таурина на фоне СИГМ.

Методика

Эксперименты выполнены на 18 белых беспородных крысах-самках (по 6 животных в каждой группе), массой 180-220 г. Крысам опытных групп моделировали субтотальную ишемию головного мозга (СИГМ) путём перевязки обеих сонных артерий в течении одного часа. Таурин вводили внутривенно в дозе 100 мг/кг непосредственно перед перевязкой общей сонной артерии. Контрольную группу составили ложнооперированные животные, получавшие эквивалентное количество изотонического раствора NaCl. Все оперативные манипуляции проводились в условиях внутривенного тиопенталового наркоза (60 мг/кг). После извлечения головного мозга осуществляли изъятие фрагментов лобной доли больших полушарий (кора с подлежащим белым веществом) на стороне перевязки с его последующим замораживанием в жидком азоте.

Подготовка пробы для исследования включала гомогенизацию в 10-ти кратном объеме 0,2M хлорной кислоты, центрифугирование в течение 15 мин при 13 000 g и 4°C с последующим отбором супернатанта. Спектр определяемых соединений включал аминокислоты и их производные, фосфоэтаноламин (PEA) и этаноламин (EA). Анализ проводился на хроматографе

Agilent 1100 методом обращенно-фазной жидкостной хроматографии [1]. В работе использовались реактивы квалификации не ниже хч.

Статистическую обработку данных проводили в программе R. В случае выполнения условий применимости применялся параметрический дисперсионный анализ с поправкой Тьюки на множественность сравнений. В случае нарушения этих условий применялся непараметрический дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса с поправкой Бенъямини-Хохберга на множественность сравнений. Также в работе использовались результаты линейного дискриминантного анализа.

Результаты исследования и их обсуждение

Субтотальная ишемия головного мозга вызвала снижение в коре головного мозга крыс уровней глутамата, тирозина, триптофана, орнитина, лизина и 1-метилгистидина (табл. 1). Следствием этих изменений являлось обеднение суммарного пула свободных аминокислот коры головного мозга (табл. 2). Анализ изменений других интегральных показателей аминокислотного пула свидетельствует о снижении суммарного содержания гликогенных, нейротрансмиссивных и возбуждающих аминокислот. Обеднение пула ароматических аминокислот (ААК) на фоне стабильного уровня АРУЦ обусловило повышение соотношения АРУЦ/ААК (табл. 2).

Таблица 1. Концентрация свободных аминокислот и родственных соединений в коре больших полушарий крыс при введении таурина на фоне субтотальной ишемии ГМ, нмоль/г

Аминокислоты	Контроль	СИГМ	СИГМ + таурин	P	Динамика
Asp	5048±284	4932±166	5326±160	0,406	--
Glu	13333±340	11392±275*	13800±369†	<0,001	↓-
Asn	206±9,41	182±4,59	198±7,39	0,067	--
Ser	1222±26,7	1249±17,7	1485±24*†	<0,001	-↑
αAAA	46,6±1,65	41,8±1,39	36,9±3,43*	0,019	↓
Gln	6606±221	6281±248	7773±228*†	<0,001	-↑
His	156±8,47	152±4,6	116±3,71*†	<0,001	↓
3-MHis	60±3,64	56,4±3,46	58±2,74	0,743	--
Gly	1436±55,4	1337±49,3	1377±52,5	0,412	--
PEA	2080±94,6	2158±103	2566±121*†	0,004	-↑
Thr	763±21,1	747±15,5	953±37,1*†	<0,001	-↑
1-MHis	20,9±1,86	16,2±0,945*	12,9±0,719*	<0,001	↓↓
Ctr	35,1±1,97	32,5±1,76	26,3±1,38*†	0,002	↓
Arg	180±6,33	165±4,48	123±3,15*†	<0,001	↓
Ala	1937±113	1818±81,9	1287±71,1*†	<0,001	↓
Tau	8823±264	8680±224	9333±249	0,153	--
GABA	4017±195	3491±180	2340±139*†	<0,001	↓
Tyr	117±9,52	76±2,49*	63,9±2,31*	<0,001	↓↓
αABA	10,6±1	10,4±0,802	17,1±1,24*†	<0,001	-↑
EA	1550±79,6	1775±96,7	1052±65,6*†	<0,001	↓
Val	154±4,58	154±5,59	179±6,53*†	0,003	-↑
Met	98,4±5,55	97,9±3,35	75,3±3,01*†	<0,001	↓
Ctn	70,3±4,82	80,1±5,25	101±7,26*†	0,002	-↑
Trp	75,1±2,87	62,3±1,77*	63,2±2,28*	<0,001	↓↓
Phe	134±4,96	126±3,11	116±3,48*	0,007	↓
Ile	91,4±4,41	88,2±4,2	92,7±3,92	0,734	--
Leu	164±10,1	168±8,43	173±5,08	0,745	--
Orn	33,4±3,3	22,8±1,4*	14,9±0,888*†	<0,001	↓↓
Lys	443±10,5	393±12*	453±8,69†	<0,001	↓-

Примечание: p<0,05 при сравнении с группами: * – контроль; † – СИГМ

Введение таурина при СИГМ не вызвало повышения его уровня в коре больших полушарий головного мозга. Тем не менее, его введение оказывало влияние на уровни свободных аминокислот и их производных в этом отделе головного мозга (табл. 1). Так, повышались уровни треонина, серина, глутамина и валина, а также родственных соединений – глутатиона, фосфоэтанолamina, α -аминомасляной кислоты, снижались концентрации цитруллина, аргинина, аланина, метионина, фенилаланина, гистидина, ГАМК, цистатионина и этаноламина. Введение таурина предотвращало снижение уровней глутамата и лизина при СИГМ. В то же время, таурин не оказывал влияния на уровни тирозина, триптофана и 1-метилгистидина – аминокислот, содержание которых снижалось при СИГМ.

Таблица 2. Интегральные показатели аминокислотного фонда коры больших полушарий крыс (нмоль/г) и их соотношения при СИГМ

Аминокислоты	Контроль	СИГМ	СИГМ + таурин	P	Динамика
ААК	326±16,6	265±6,01*	243±7,55*	<0,001	↓↓
АРУЦ	409±17,7	410±16,7	444±14,3	0,226	--
Заменимые	29905±592	27269±535*	31309±581†	<0,001	↓-
Незаменимые	2078±55,4	1989±40,6	2221±54,6†	0,007	-↑
Гликогенные	31139±611	28509±549*	32692±603†	<0,001	↓-
Кетогенные	606±16,8	560±16	626±10,2†	0,008	-↑
Нейротрансмиттерные	32656±644	29832±538*	32175±696†	0,005	↓-
Возбуждающие	18380±367	16325±338*	19125±413†	<0,001	↓-
Тормозные	14276±421	13508±356	13049±345	0,074	--
АРУЦ/ААК	1,29±0,0617	1,55±0,0529*	1,86±0,073*†	<0,001	↑↑
Заменимые/Незаменимые	14,5±0,307	13,7±0,219	14,2±0,326	0,186	--
Гликогенные/Кетогенные	51,9±1,37	51,4±1,2	52,5±1,15	0,825	--
Возбуждающие/Тормозные	1,3±0,0397	1,22±0,0343	1,48±0,0308*†	<0,001	-↑
Суммарный пул АК	45142±931	41729±740*	45468±850†	0,004	↓-

Примечание: p<0,05 при сравнении с группами: * – контроль; † – СИГМ

Снижение уровня аланина скорее всего обусловлено активацией гликолиза. Рост уровней серина и фосфоэтанолamina, а также нормализация уровня глутамата, вероятно связано с нарушением гомеостаза пула таурина в коре головного мозга, т.к. между их уровнями (как в норме, так и при ишемии и введении таурина) сохраняется сильная положительная корреляционная связь (табл. 3). Нормализация уровня лизина может быть обусловлена торможением его катаболизма, о чём свидетельствует снижение уровня его продукта, α -аминоадипиновой кислоты, а также ослабление корреляции последней с глутаматом. Как известно, катаболизм лизина необходим для функционирования мозга: глутамат, треть которого в мозге синтезируется из лизина, регулирует нервную передачу [13]. Повышение уровня глутамата до контрольных значений с одновременным снижением его продукции из лизина может объясняться другими путями его пополнения (например, за счёт активации трансминазной реакции цистеинсульфинат-глутамат).

Анализ интегральных показателей АК пула показывает нормализацию на фоне при введении таурина на фоне СИГМ суммарного содержания гликогенных, нейротрансмиттерных, возбуждающих аминокислот, а также суммарного пула аминокислот. В целом, введение таурина сдвигает баланс возбуждающих и тормозных аминокислот-трансммиттеров в сторону первых.

Таблица 3. Результаты дискриминантного анализа аминокислотного фонда

Аминокислоты	Контроль	СИГМ	СИГМ + Tau
α -AAA - Glu	0,68*	0,663*	0,416
Ser - Glu	0,724*	0,761*	0,859*
PEA - Glu	0,867*	0,768*	0,781*
PEA - Ser	0,68*	0,707*	0,728*
PEA - Gly	0,762*	0,855*	0,809*

Примечание: p<0,05 при сравнении с группами: * – контроль; † – СИГМ

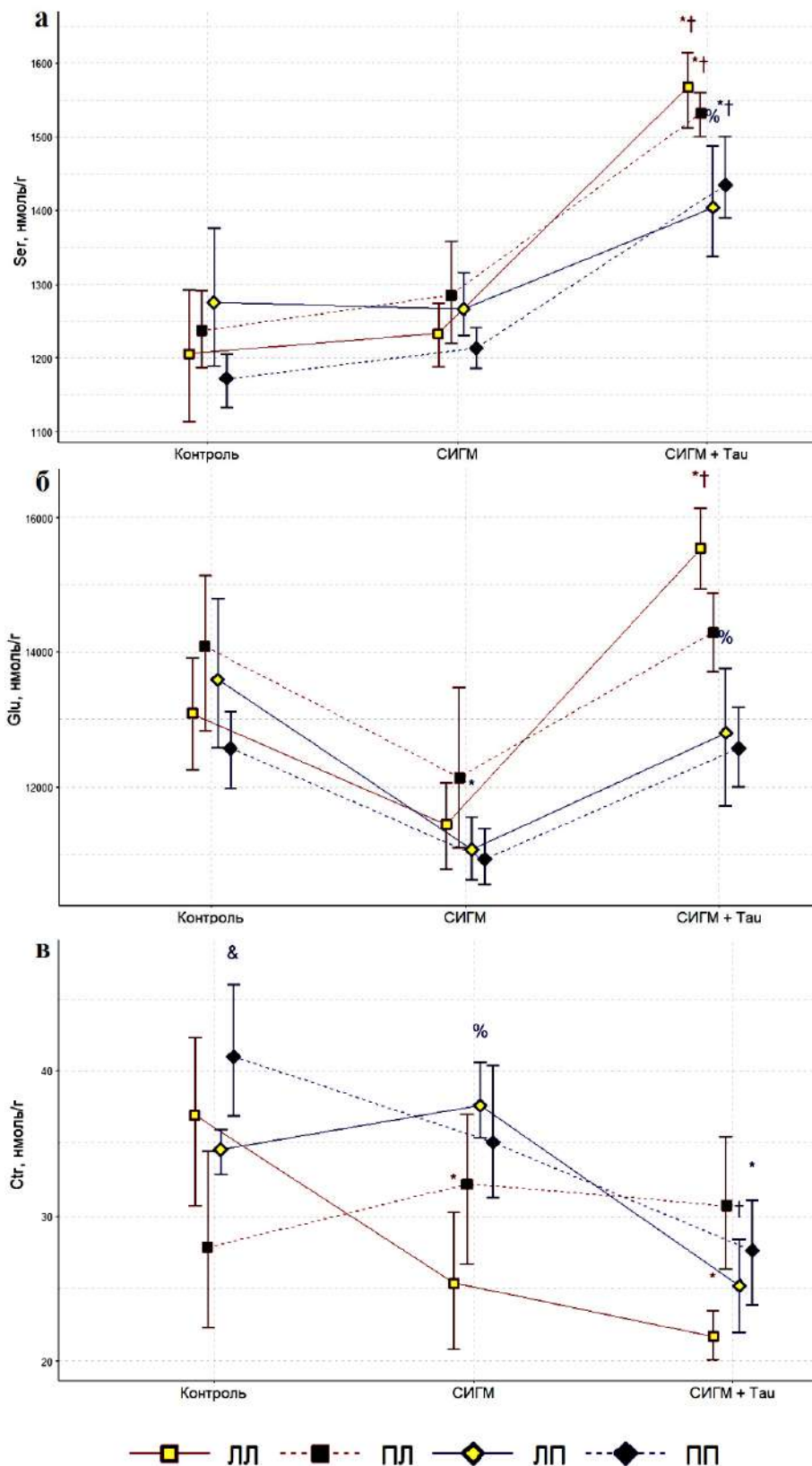


Рис. 1. Влияние СИГМ и введения таурина на его фоне на уровни серина (а), глутамата (б) и цитрулина (в) в различных зонах коры ГМ. $p < 0,05$ при сравнении с группами: * – контроль; † – СИГМ; & – левая-правая зона; % – париетальная-лобная зона

Существенной ассиметрии в содержании свободных аминокислот в различных зонах коры не наблюдалось как в контрольной группе, так и в группе с СИГМ. Исключением являлся цитруллин, имевший различную концентрацию в правой и левой доле париетальной зоны коры головного мозга в контроле, а также в правой и левой доле лобной зоны коры при СИГМ (рис. 1-в). Введение таурина не сопровождалось ассиметрией содержания свободных аминокислот и их производных в различных зонах коры, за исключением серина и глутамата, имевших небольшое различие концентраций в правой и левой доле лобной зоны коры больших полушарий (рис. 1-а, б). Подтверждает ассиметрию уровней этих соединений в различных зонах коры больших полушарий и дискриминантный анализ. В табл. 4 приведены наиболее значимые показатели в дискриминации аминокислотного фонда зон коры больших полушарий в контроле, при СИГМ и при введении на её фоне таурина.

Таблица 4. Результаты дискриминантного анализа аминокислотного фонда различных зон коры головного мозга в контроле и при ишемии

АК	Лямбда Уилкса	Частная Лямбда Уилкса	хи-квадрат	F-искл	p
контроль					
Сtr	0,874	0,572	2,15	3,737	0,0346
Tau	0,693	0,722	5,875	1,924	0,169
СИГМ					
Сtr	0,922	0,5385	1,29	4,284	0,0226
GABA	0,646	0,7688	6,99	1,504	0,254
СИГМ + таурин					
Glu	0,3391	0,4682	16,76	5,30	0,012
Lys	0,3389	0,4686	16,77	5,29	0,012
Gln	0,2962	0,5361	18,86	4,039	0,0291

Выводы

1. Субтотальная ишемия головного мозга вызывает обеднение пула свободных аминокислот коры больших полушарий, в том числе, снижаются уровни глутамата, орнитина, лизина и ААК.
2. Введение таурина при СИГМ повышает уровни треонина, серина, глутамина, валина, снижает концентрации цитруллина, аргинина, аланина, метионина, фенилаланина, гистидина, ГАМК и этаноламина, предотвращает снижение уровней глутамата и лизина, но не нормализует концентрации ароматических аминокислот.
3. Существенной ассиметрии структуры пула свободных аминокислот в различных зонах коры больших полушарий при СИГМ и введении таурина на её фоне не выявлено.

Литература (references)

1. Барковский Е.В., Бокуть С.Б., Бородинский А.Н. и др. Современные проблемы биохимии. Методы исследований. – Минск: Высшая школа, 2013. – 491 с. [Barkovskiy E.V., Bokun S., Borodinskiy A.N., i dr. *Sovremennye problemy biochimii. Metody issledovania. The contemporary problems of biochemistry. Methods of investigation.* – Minsk: Highest school, 2013. – 491 p. (in Russian)]
2. Нефедов Л.И. Биологическая роль таурина. Вести АН Беларуси. – 1992. – № 3-4. – С. 99-106. [Nefjodov L.I. *Vesti AN Belarusi. Proceedings of Academy of Science of Belarus.* – 1992. – N3-4. – P. 99-106. (in Russian)]
3. Разводовский Ю.Е., Троян Э.И., Дорошенко Е.М. и др. Содержание аминокислот и их производных в коре головного мозга крыс при его частичной ишемии // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. – 2019. – Т.18, №1. – С. 5-9. [Razvodovsky Y.E., Troyan E.I., Doroshenko Ye.M. i dr. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoy medicinscoy academii. Bulletin of the Smolensk State Medical Academy.* – 2019. – V.18, N1. – P. 5-9. (in Russian)]
4. 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. [Smirnov V.Y., Razvodovsky Y.E., Doroshenko E.M., Ostrovsky S.Y. *Ukrainskiy biochimitzeskiy zurnal. Ukrainal biochemical journal.* – 2003. – V.75, N4. – P. 101-107. (in Russian)]

5. Butcher S.P., Bullock R., Graham D.I., McCulloch J. Correlation between amino acid release and neuropathologic outcome in rat brain following middle cerebral artery occlusion // *Stroke*. – 1990. – N21. – P. 1727-1733.
6. Harada H. Oral taurine supplementation prevents the development of ethanol-induced hypertension in rat // *Hypertension Research*. – 2000. – V.23, N3. – P. 277-284.
7. Huxtable R.J. Taurine in the central nervous system and the mammalian actions of taurine // *Progress in Neurobiology*. – 1989. – N 32. – P. 471-533.
8. Kang Y.S. Taurine transport mechanism through the blood-brain barrier in spontaneously hypertensive rats // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2000. – V.483. – P. 321-324.
9. Kingston R., Kelly C.J., Murray P. The therapeutic role of taurine in ischaemia-reperfusion injury // *Current Pharmaceutical Design*. – 2004. – N10. – P. 2401-2410.
10. Menzie J., Pan C., Prentice H., Wu J.Y. Taurine and central nervous system disorders // *Amino Acids*. – 2012. – V.46, N1. – P. 31-46.
11. Menzie J., Prentice H., Wu J.E. Neuroprotective mechanisms of taurine against ischemic stroke // *Brain Science*. – 2013. – N3. – P. 877-907.
12. Pan C., Prentice H., Price A.L., Wu J.Y. Beneficial effect of taurine on hypoxia- and glutamate-induced endoplasmic reticulum stress pathways in primary neuronal culture // *Amino Acids*. – 2012. – N43. – P. 845-855.
13. Papes F. The essential amino acid lysine acts as precursor of glutamate in the mammalian central nervous system // *FEBS Letters*. – 2001. – V.488, N1-2. – P. 34-38.
14. Saransaari P., Oja S.S. Modulation of taurine release in ischemia by glutamate receptors in mouse brain stem slices // *Amino Acids*. – 2010. – N 38. – P. 739-746.
15. Saransaari P., Oja S.S. Taurine and neural cell damage // *Amino Acids*. – 2000. – V.19. – P. 509-526.
16. Sun M., Gu Y., Zhao Y., Xu C. Protective functions of taurine against experimental stroke through depressing mitochondria-mediated cell death in rats // *Amino Acids*. – 2011. – N40. – P. 1419-1429
17. Sun M., Xu C. Neuroprotective mechanism of taurine due to up-regulating calpastatin and down-regulating calpain and caspase-3 during focal cerebral ischemia // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2008. – N28. – P. 593-611.
18. Wang G.H., Jiang Z-L., Fan X.J et al. Neuroprotective effect of taurine against focal cerebral ischemia in rats possibly mediated by activation of both GABAA and glycine receptors // *Neuropharmacology*. – 2007. – N52. – P. 1199-1209.
19. Wu J.Y., Prentice H. Role of taurine in the central nervous system // *Journal of Biomedical Science*. – 2010. – N17. – P1.
20. Wu J.Y., Wu H., Jin Y. et al. Mechanism of neuroprotective function of taurine // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 2009. – V.643. – P. 169-179.

Информация об авторах

Разводовский Юрий Евгеньевич – заведующий отделом медико-биологических проблем алкоголизма государственного предприятия «Институт биохимии биологически активных соединений Национальной академии наук Беларуси», Гродно, Республика Беларусь. E-mail: razvodovsky@tut.by

Смирнов Виталий Юрьевич – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник УО «Гродненский государственный медицинский университет» Минздрава Республики Беларусь. E-mail: vit_sm@mail.ru

Троян Элина Ивановна – кандидат биологических наук, доцент кафедры патологической физиологии им. Д.А. Маслакова, УО «Гродненский государственный медицинский университет» Минздрава Республики Беларусь. E-mail: mne@grsmu.by

Дорошенко Евгений Михайлович – кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник УО «Гродненский государственный медицинский университет» Минздрава Республики Беларусь. E-mail: vit_sm@mail.ru

Переверзев Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии УО «Белорусский государственный медицинский университет» Минздрава Республики Беларусь. E-mail: Pereverzev2010@mail.ru; PereverzevVA@bsmu.by

Максимович Наталья Евгеньевна – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патологической физиологии им. Д.А. Маслакова, УО «Гродненский государственный медицинский университет» Минздрава Республики Беларусь. E-mail: mne@grsmu.by

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.