

Раздел 2 ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ ТКАНЕЙ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВООБРАЩЕНИЯ

Дорошенко Е.М.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь*

Актуальность. Проблема эффективности лечения и профилактики прогрессирования хронической сердечной недостаточности (ХСН) остается актуальной из-за высоких показателей смертности пациентов [8]. Остаются невыясненными аспекты метаболических нарушений при прогрессировании данной патологии. Их исследование актуально для поиска маркеров прогрессирования, мониторинга эффективности терапии, прогнозирования осложнений и совершенствования методов метаболической коррекции.

Метаболические расстройства, связанные с фондом (пулом) аминокислот, играют значимую роль в развитии ХСН [9]. Методы метаболомики, включая оценку пула свободных аминокислот, находят широкое применение в оценке метаболических нарушений при заболеваниях сердца [5,11]. Среди биохимических сдвигов у пациентов с заболеваниями сердца и сосудов обращает на себя внимание частота нарушений обмена свободных аминокислот, в том числе имеющих отношение к синтезу биологически активных соединений, участвующих в регуляции сократительной функции миокарда, сердечного ритма [14,18]. До сих пор не исследованы взаимосвязи между пулами аминокислот сердца, печени, с одной стороны, и плазмы крови – с другой. Они могут реализовываться на уровне конкуренции за общие системы транспорта, общих метаболических путей, а также наличия компонентов пула, нарабатываемых в одной ткани и расходуемых в других [1]. Установлена роль нарушений превращений серосодержащих аминокислот, в том числе гипергомоцистеинемии, при ишемических поражениях сердца [15]. Делались попытки оценить формирование пула серосодержащих аминокислот в тканях, однако определяли уровни не всех промежуточных продуктов их превращений. Оценка превращений триптофана также актуальна, так как гидроксилазный путь ведет к образованию серотонина, участвующего в регуляции функции сердца через 5-НТ₂-рецепторы [17], а в диоксигеназном образуются кинуренин и антраниловая кислота, влияющие на энергопродукцию [13].

Моноаминоксидаза вносит вклад в продукцию прооксидантов в сердце [16]. Имеются данные о роли таурина в сердечной мышце с позиций его антиоксидантных свойств, а также влияния на липидный обмен [10]. Для оценки относительной значимости превращений цистеина по оксидазному пути информативностью может обладать концентрация его продуктов – цистеинсульфиновой и цистеиновой кислот [12]. Показано, что у пациентов

с ИБС наблюдается аминокислотный дисбаланс, затрагивающий серосодержащие аминокислоты и пул триптофана с недостаточностью серотониновой системы [2].

Цель работы: определить уровни и метаболические соотношения компонентов пула свободных аминокислот и родственных соединений в тканях крыс при экспериментальной недостаточности кровообращения.

Материалы и методы исследования. Экспериментальную недостаточность кровообращения (НК) у крыс моделировали с помощью искусственного сужения просвета брюшной аорты выше места отхождения почечных артерий путем наложения ограничивающей просвет аорты металлической спирали [7, в собственной модификации]. После выделения брюшной аорты накладывали спираль из нихромовой проволоки толщиной 0,27 мм, ограничивающую просвет брюшной аорты, длиной 2,5-3 витка и внутренним диаметром 1 или 0,7 мм. После операции в течение первых двух суток после операции животные получали раствор Дарроу (глюкоза 50,0, хлорид калия 2,7 г, хлорид натрия 9,0 г, вода – 1 л), затем животных переводили на обычное содержание. В эксперименте использовано 36 белых крыс-самцов гетерогенной популяции, массой тела в начале эксперимента 130-180 г, находившихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде, которые адаптировались до операции в течение 14-18 суток. Животным одной из групп была выполнена ложная операция, не включавшая заключительный этап (наложение спирали на аорту) – ложнооперированный контроль (ЛО). После операции животных содержали на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде в течение 12 недель. Данная модель воспроизводит изометрическую гиперфункцию сердца, вызывающую выраженную гипертрофию сердечной мышцы. В качестве срока наблюдения была выбрана стабильная фаза длительной компенсации, которая наблюдается у животных после 1-2 мес после операции. За это время в результате роста крыс степень сужения просвета брюшной аорты прогрессирует, достигая 2,5–3-кратного, впоследствии оставаясь относительно стабильной.

Животных забивали декапитацией. За 12 ч до забоя животных лишали пищи. Образцы тканей (печень, сердце, скелетная мышца) забирали в течение 3 мин и немедленно замораживали в жидком азоте. Образцы тканей гомогенизировали в соотношении 1:10 (по объёму) в среде, содержащей 0,2 М раствор хлорной кислоты, 40 мг/л ЭДТА, 40 мг/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, а также 0,2 мМ норвалина (внутренний стандарт), со скоростью 400-600 об/мин. Навеску ткани 20-100 мг взвешивали, не допуская размораживания, заливали 10-кратным объёмом среды и немедленно гомогенизировали. Далее образцы центрифугировали при 4°C в течение 15 мин при 16000g, супернатант немедленно отсасывали и хранили до исследования при –18°C не более 15 суток. Растворы стандартов, использованные для калибровки хроматографического оборудования, обрабатывали аналогичным способом.

Определение свободных аминокислот и их дериватов проводили в хлорнокислых экстрактах тканей и плазмы крови методом обращенно-фазной хроматографией с предколоночной дериватизацией *o*-фталевым альдегидом и 3-

меркаптопропионовой кислотой и детектированием по флуоресценции (338/445 нм) [6]. Содержание пролина, оксипролина и саркозина определяли в отдельном анализе, в котором предколоночная дериватизация дополнялась этапом дериватизации с FMOС, градиентным элюированием 21-70% ацетонитрила за 10 мин и детектированием по флуоресценции при 265/313 нм.

Для определения ключевых метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана использовали обращенно-фазную ВЭЖХ с изократическим элюированием и комбинированным детектированием по поглощению и флуоресценции. Кинуренин детектировали по поглощению при 362 нм (полоса пропускания 4 нм, референтная длина волны – 430 нм при полосе пропускания 50 нм), кинуреновую кислоту – по флуоресценции её комплекса с ионами цинка при длинах волн: возбуждения 244 нм, эмиссии 386 нм. Триптофан определяли по поглощению при длине волны 280 нм (полоса пропускания 4 нм, референтная длина волны – 430 нм при полосе пропускания 50 нм). Использовали колонку Zorbax Eclipse Plus C₁₈, 3,5 мкм, 2,1x150 мм, которую термостатировали при 40°C. Подвижная фаза: 0,65 г ацетата натрия, 15 мкл CH₃COOH, 550 мг безводного ацетата цинка на 250 мл H₂O, 4 об% ацетонитрила. Пробоподготовка включала нейтрализацию добавлением к 8 мкл хлорнокислых экстрактов 1,6 мкл 1М раствора ацетата натрия.

Уровни общего гомоцистеина и других аминотиолов в ткани печени и сердца определяли методом ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией SH-содержащих соединений (цистеина, гомоцистеина, цистеинилглицина, гамма-глутамилцистеина и глутатиона) с аммоний-7-фторбензол-2-оксо-1,3-диазола-4-сульфонатом (SBD-F) [3] с последующим разделением полученных производных методом обращенно-фазной ВЭЖХ.

При определениях использовался прибор ВЭЖХ Agilent 1200, реактивы квалификации не ниже хч, стандарты определяемых соединений Aldrich. При пробоподготовке использовалась центрифуга Biofuge Primo R+ с охлаждаемым ротором (Thermo Scientific, США). Прием данных и обработка хроматограмм проводились с помощью программы Agilent OpenLab CDS C.01.05.

Для исследуемых показателей определяли базовые параметры описательной статистики. Отклонение распределения значений показателя в выборке от нормального оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова и Шапиро-Уилка. Для всех показателей группа считалась однородной. Для анализа различий трех и более групп при анализе аминокислотного пула тканей проводился дисперсионный анализ с апостериорным сравнением по критерию Тьюки. Для выявления значимости вклада отдельных показателей в комплексную характеристику пула свободных аминокислот и родственных соединений в группах, а также выявления наиболее информативных (меняющихся при использованных воздействиях) показателей использовали дискриминантный анализ. При этом применялась пошаговая процедура, F-критерий Фишера для включения переменных был 2,0, для исключения – 1,9, если не указаны другие значения. Использованные методы анализа данных реализованы с помощью пакета программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q) и бесплатного пакета статистических программ R.

Результаты и их обсуждение. Единственным значимым различием пула свободных аминокислот и родственных соединений печени между группами интактного контроля и ЛО, по данным однофакторного дисперсионного анализа, было повышение уровня 3-метилгистидина (таблица 1). Маловероятно, что оно может объясняться сохранением повышенного распада миофибриллярных белков, учитывая значительный срок после операции (13 нед), тем более что этого эффекта не отмечалось в обеих опытных группах (сужение просвета аорты до 1 и 0,7 мм), более того, уровень 3-метилгистидина в первой был достоверно выше, чем у ЛО.

Таблица 1 – Содержание свободных аминокислот и родственных соединений в печени крыс через 12 нед после искусственного сужения просвета брюшной аорты, нмоль/г ткани, среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	контроль	ложная опер.	опыт (0,7 мм)	опыт (1 мм)
PSer	36 $\pm$ 4,71	50,3 $\pm$ 3,52	45,9 $\pm$ 3,72	60,8 $\pm$ 7,01*
Asp	803 $\pm$ 30,2	790 $\pm$ 36	723 $\pm$ 19,2	663 $\pm$ 43,6*
Glu	2423 $\pm$ 116	2181 $\pm$ 45,3	1745 $\pm$ 105*	2262 $\pm$ 203‡
His	564 $\pm$ 12,2	554 $\pm$ 15,7	550 $\pm$ 19,5	628 $\pm$ 21,6†‡
3-MHis	13,4 $\pm$ 0,761	18,2 $\pm$ 1,35*	15,9 $\pm$ 0,486	13,4 $\pm$ 1,23†
1-MHis	4,21 $\pm$ 0,5	3,44 $\pm$ 0,408	3,41 $\pm$ 0,185	1,92 $\pm$ 0,268*†‡
Arg	17,2 $\pm$ 1,58	18,9 $\pm$ 0,934	15,1 $\pm$ 1,19	29,2 $\pm$ 3,34*†‡
Ala	1288 $\pm$ 354	1319 $\pm$ 227	1491 $\pm$ 72,3	2425 $\pm$ 150*†‡
Lys	579 $\pm$ 26,6	545 $\pm$ 47,6	523 $\pm$ 38,1	418 $\pm$ 27*
Met	72 $\pm$ 4,58	72,9 $\pm$ 4,73	60,5 $\pm$ 4,23	52,4 $\pm$ 2,7*†
CSA	3,11 $\pm$ 0,434	5,04 $\pm$ 0,367*	3,04 $\pm$ 0,648†	1,86 $\pm$ 0,472†
Tau	6955 $\pm$ 1044	5005 $\pm$ 571	4115 $\pm$ 643*	2732 $\pm$ 378*
Cys	478 $\pm$ 35,9	155 $\pm$ 31,6*	161 $\pm$ 6,3*	235 $\pm$ 22,6*
Hcy	1,37 $\pm$ 0,144	0,64 $\pm$ 0,145*	0,599 $\pm$ 0,0546*	0,868 $\pm$ 0,0818*
CysGly	235 $\pm$ 7,19	113 $\pm$ 14,7*	137 $\pm$ 7,43*	184 $\pm$ 11,1*†‡
gGluCys	45,5 $\pm$ 2,16	28,5 $\pm$ 2,72*	32,7 $\pm$ 2,26*	38,9 $\pm$ 2,36†
tGSH	2856 $\pm$ 55,8	1985 $\pm$ 260*	2687 $\pm$ 100†	3682 $\pm$ 177*†‡

Примечание – здесь и в таблицах 2-3:

* – значимые отличия ($p < 0,05$) по отношению к интактному контролю;

† – $p < 0,05$ по отношению к ЛО;

‡ – $p < 0,05$ по отношению к группе с сужением аорты до 0,7 мм.

Сужение просвета аорты до 1 мм привело к ряду сдвигов в пуле исследованных соединений в ткани печени: по отношению к ЛО снижались уровни 1- и 3-метилгистидинов, но повышались уровни аланина и аргинина. После сужения просвета аорты до 0,7 мм снижался уровень глутамата, гистидина, аргинина и аланина, но повышался до контрольных значений уровень 1-метилгистидина. Таким образом, изменения в пуле свободных аминокислот при смешанном типе НК (1 мм) отличаются от таковых при перегрузке сердца давлением и развитием гипертрофии (0,7 мм). В первом случае изменения более выражены и характеризуются более высокими уровнями основных аминокислот гистидина, аргинина, но не лизина, а также аланина.

НК не оказала выраженного влияния на уровни АРУЦ и ароматических аминокислот, а также соотношение между ними.

При рассмотрении компонентов пула серосодержащих соединений обращает на себя внимание, что НК сопровождается снижением содержания гомоцистеина в печени (таблица 1). Как было показано нами ранее, НК сопровождается гипергомоцистеинемией [4], что дает возможность предположить иной, чем печень, источник гомоцистеина крови при этой ситуации и/или активацию транспорта гомоцистеина из тканей. В пользу второго может говорить снижение уровней цистеина в печени всех оперированных животных, а у животных опытных групп, кроме этого, уровней таурина и его предшественника – цистеинсульфината (последнее – по отношению к ЛО). Только в группе с сужением просвета аорты до 1 мм отмечалось значимое снижение уровня метионина, таким образом, торможение превращений серосодержащих соединений, вероятно, не связано с доступностью их основного предшественника. Кроме этого, у оперированных животных снижались уровни двух внутриклеточных метаболитов гамма-глутамильного цикла – цистеинилглицина и гамма-глутамилцистеина, что может означать снижение транспорта аминокислот в гепатоциты и биотрансформации веществ, поступающих в печень с помощью гамма-глутамильного цикла. Уровень глутатиона в обеих опытных группах был выше, чем у ЛО, что свидетельствует о торможении, более вероятно, начальных реакций цикла, чем ресинтеза глутатиона. Таким образом, сдвиги в концентрациях свободных серосодержащих соединений в печени при НК являются более выраженными, чем изменения других показателей пула свободных аминокислот, и включают в себя снижение синтеза таурина, а также ингибирование гамма-глутамильного цикла.

В мышцах крыс сужение аорты вызвало повышение уровня 3-метилгистидина, бета-аланина, а также глицина. Сдвиги, вызванные НК, были довольно скудными, однако заметно, что, как и в печени, более выраженные сдвиги наблюдались после сужения аорты до 1 мм. Так, у животных с сужением аорты до 1 мм уровень бета-аланина снижался более чем вдвое, этаноламина – был существенно выше, чем у ЛО, в то время как при сужении аорты до 0,7 мм достоверных различий с ЛО в исследуемых показателях не наблюдалось (таблица 2). Ни один из сдвигов в опытных группах по отношению к интактному либо ЛО, не был достоверным одновременно в обеих опытных группах, что может свидетельствовать, что отдельные показатели аминокислотного пула скелетных мышц при НК малоинформативны. Тем не менее, уровень цистеинсульфиновой кислоты в мышцах при НК был существенно ниже, чем у ЛО, у которых, в свою очередь, он был более чем вдвое выше контроля. Это, однако, не сопровождалось существенными изменениями концентрации таурина, которая в мышцах весьма высока. Так как не изменялся и уровень гипотаурина, можно предполагать, что основным эффектом НК в отношении обмена серосодержащих аминокислот является влияние на цистиноксидазный путь, более активное использование цистеина в синтезе глутатиона либо торможение трансульфурирования. Для печени, в которой наблюдались более

низкие уровни цистеина при неизменном уровне цистатионина (таблица 1) более вероятны первые два пути, но для мышц мы не можем высказать определенного предположения о возможном механизме.

Таблица 2 – Содержание свободных аминокислот и родственных соединений в мышцах крыс через 12 нед после искусственного сужения просвета брюшной аорты, нмоль/г ткани, среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	контроль	ложная опер.	опыт (0,7 мм)	опыт (1 мм)
PSer	7,93 $\pm$ 0,999	6,37 $\pm$ 0,705	5,01 $\pm$ 0,64*	5,49 $\pm$ 0,575
Glu	1496 $\pm$ 259	1367 $\pm$ 93,8	1984 $\pm$ 235	1075 $\pm$ 40,4†
aAAA	3,41 $\pm$ 0,221	4,42 $\pm$ 0,39	4,82 $\pm$ 0,274*	3,75 $\pm$ 0,54
3-MHis	14,8 $\pm$ 2,09	25,4 $\pm$ 2,02*	20,7 $\pm$ 1,14	21,2 $\pm$ 1,52
Gly	3348 $\pm$ 531	4902 $\pm$ 284*	3652 $\pm$ 284	4584 $\pm$ 169
bAla	7,94 $\pm$ 1,14	19,3 $\pm$ 2,87*	13 $\pm$ 2,64	9,01 $\pm$ 2,07†
Ala	1630 $\pm$ 227	2025 $\pm$ 193	2116 $\pm$ 143	2423 $\pm$ 79*
EA	45,3 $\pm$ 3,65	47,4 $\pm$ 2,81	56 $\pm$ 3,66	71 $\pm$ 11,1*†
Ile	91,9 $\pm$ 7,03	107 $\pm$ 4,8	112 $\pm$ 2,46*	99,9 $\pm$ 5,61
CSA	5,12 $\pm$ 0,694	13,6 $\pm$ 2,33*	5,1 $\pm$ 0,591†	4,91 $\pm$ 1,79†
Tau	11883 $\pm$ 1644	15612 $\pm$ 722	17175 $\pm$ 1289*	14757 $\pm$ 698

В сердце крыс сужение аорты вызвало повышение уровня 3-метилгистидина, бета-аминоизомасляной кислоты, а также аспартата, снижение – уровня саркозина (таблица 3). Сдвиги, вызванные НК, как и в мышцах, были в целом незначительными, однако после сужения аорты до 1 мм наблюдалось повышение уровней бета-аланина и фосфосерина по отношению к интактному контролю, уровень гистидина повышался, а 3-метилгистидина снижался по отношению к ЛО. При сужении аорты до 0,7 мм повышался уровень 1-метилгистидина, оставался сниженным уровень 3-метилгистидина по отношению к ЛО. Уровни саркозина в обеих опытных группах оставались ниже, чем у интактного контроля, но не имели отличий от таковых у ЛО. Таким образом, несмотря на невысокую информативность отдельных показателей аминокислотного пула (как и в мышцах), можно отметить тенденцию к снижению уровня 3-метилгистидина в сердце при НК, т.е. развивающаяся гипертрофия может характеризоваться относительно более низким содержанием распадающихся миофибриллярных белков, являющихся источником 3-метилгистидина. Уровень цистеинсульфината в сердце был снижен уже у ЛО, и его снижение относительно интактного контроля сохранялось в обеих опытных группах.

Дискриминантный анализ пула исследованных соединений в печени крыс выявил, что полная дискриминация групп достигается при использовании критерия включения $F=3$ и исключения $F=2.9$ и при этом наиболее информативными ($p<0,05$) являются уровни цистеина, общего глутатиона, аргинина, глутамата и таурина. Эти показатели также достоверно различались при сравнении групп (таблица 1).

Таблица 3 – Содержание свободных аминокислот и родственных соединений в сердце крыс через 12 нед после искусственного сужения просвета брюшной аорты, нмоль/г ткани, среднее $\pm$ средняя ошибка среднего

	контроль	ложная опер.	опыт (0,7 мм)	опыт (1 мм)
PSer	13 $\pm$ 1,5	14,7 $\pm$ 2,11	18,5 $\pm$ 0,886	19,9 $\pm$ 1,76*
Asp	1558 $\pm$ 150	2246 $\pm$ 172*	2297 $\pm$ 137*	1962 $\pm$ 118
Glu	5668 $\pm$ 309	5421 $\pm$ 259	4540 $\pm$ 174*	5333 $\pm$ 246
His	114 $\pm$ 7,23	124 $\pm$ 9,64	124 $\pm$ 12	184 $\pm$ 13,5*†‡
3-MHis	7,31 $\pm$ 0,511	12,2 $\pm$ 0,963*	9,25 $\pm$ 0,386†	8,96 $\pm$ 0,833†
Hse	0,866 $\pm$ 0,103	1,12 $\pm$ 0,111	0,973 $\pm$ 0,142	1,02 $\pm$ 0,295
1-MHis	2,04 $\pm$ 0,35	1,93 $\pm$ 0,155	3,49 $\pm$ 0,299*†	2,83 $\pm$ 0,276
Arg	362 $\pm$ 11,5	391 $\pm$ 17,3	342 $\pm$ 26,8	425 $\pm$ 19,4‡
Ala	1818 $\pm$ 78,4	2066 $\pm$ 124	1926 $\pm$ 90,5	2290 $\pm$ 122*
bABA	1,53 $\pm$ 0,165	2,28 $\pm$ 0,27*	1,59 $\pm$ 0,149	1,79 $\pm$ 0,159
Sar	6,99 $\pm$ 0,453	5,3 $\pm$ 0,606*	5,19 $\pm$ 0,269*	5,2 $\pm$ 0,275*
Met	65,2 $\pm$ 3,2	65,9 $\pm$ 1,69	63,2 $\pm$ 1,52	74,8 $\pm$ 2,56*‡
CSA	17 $\pm$ 1,54	9,72 $\pm$ 1,22*	6,88 $\pm$ 1,28*	4,82 $\pm$ 0,879*

Расположение отдельных реализаций и групп на плоскости двух корней дискриминатных функций (рисунок 1) подтверждает, что более выраженные различия в пуле исследованных соединений печени имеют место при НК смешанного типа (сужение просвета аорты до 1 мм). Основные различия группы ЛО и группы с наложением спирали 1 мм связаны с корнем 2, который описывал 32% кумулятивной дисперсии. Наиболее сильную связь с величиной корня 2 имели уровни общего глутатиона, аргинина и глутамата (более высокому значению корня соответствовали более высокие значения этих показателей). Эффекты сужения аорты до 0,7 мм относительно ЛО описываются корнем 1 (64,5% дисперсии), положительную связь с которым имели уровни цистеина и таурина. Следует отметить, что по величине корня 1 различия ЛО, с одной стороны, и обеих опытных групп, с другой, были практически одинаковыми, что позволяет считать, что изменения показателей, характеризующих пул серосодержащих соединений, являются наиболее выраженными по отношению к другим показателям пула свободных аминокислот в печени.

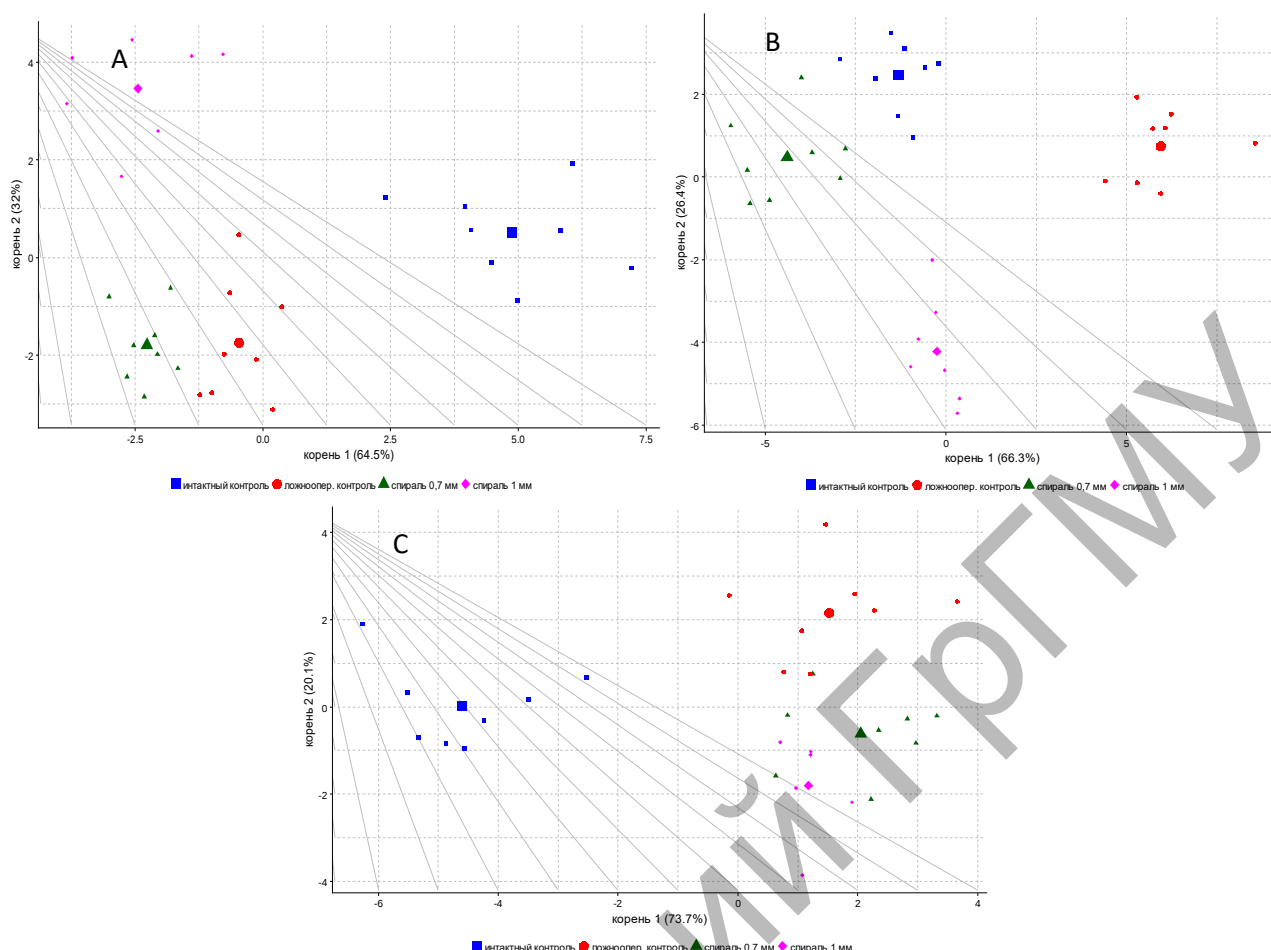


Рисунок 1 – Расположение реализаций и групп на плоскости корней дискриминантных функций при НК (корни 1 и 2): печень (А), мышцы (В), сердце (С)

При дискриминантном анализе пула исследуемых соединений в мышцах с f -критерием для включения $F=2,0$, для исключения $f=1,9$ видно, что, несмотря на минимальные изменения абсолютных значений показателей, группы и отдельные реализации отчетливо различаются (полностью корректная классификация реализаций). Наиболее информативными для дискриминации были уровни CSA, этаноламина и фосфоэтанолamina, альфа-аминомасляной кислоты (которую можно рассматривать в качестве продукта транссульфурирования), 3-метилгистидина, саркозина, тирозина и триптофана, а также глутамата, аспарагина и фосфосерина. Расположение отдельных реализаций и групп на плоскости двух корней дискриминантных функций (рис. 1) свидетельствует о том, что основные различия группы ЛО и группы с наложением спирали 0,7 мм были связаны с корнем 1, который описывал 66,3% кумулятивной дисперсии. В наибольшей степени с величиной корня 1 имели уровни CSA, 3-метилгистидина, альфа-аминомасляной кислоты, фосфоэтанолamina и тирозина (положительная связь, меньшие значения корня и перечисленных показателей характерны для НК), а также уровни глутамата и триптофана (отрицательная связь). Эффекты сужения аорты до 1 мм относительно ЛО описываются также корнем 1 (в меньшей степени, чем после сужения аорты до 0,7 мм, но отличия имеют ту же направленность), но в большей степени – корнем 2, положительную связь с которым имели уровни

глутамата, саркозина и фосфосерина, а отрицательную – уровни аспарагина, тирозина, этаноламина и фосфоэтанолламина. Опытная группа характеризовалась меньшими значениями корня 2, чем контрольные, т.е. большие значения последних показателей более свойственны НК.

При дискриминантном анализе пула исследуемых соединений в сердце с f -критерием для включения $F=3,0$, для исключения $f=2,9$ видно, что контрольные и опытные группы отчетливо различаются (полностью корректная классификация реализаций), но не опытные группы между собой. Наиболее информативными для дискриминации были уровни CSA, 1- и 3-метилгистидинов, орнитина, глутамина, глицина и гистидина.

Расположение отдельных реализаций и групп на плоскости двух корней дискриминантных функций (рис. 1) свидетельствует о том, что опытных группах и ЛО направленность сдвигов относительно интактного контроля совпадает. Эти сдвиги описываются корнем 1 (73,7% дисперсии). Различия ЛО и опытных групп между собой в основном описываются корнем 2 (20,1%). При этом группа с сужением просвета аорты до 1 мм отстоит от контроля дальше, чем при сужении просвета аорты до 0,7 мм. В наибольшей степени с величиной корня 1 имели уровни CSA, орнитина и глутамина (отрицательная связь), 1- и 3-метилгистидинов (положительная связь, большие значения корня и перечисленных показателей характерны для оперированных крыс, в том числе для НК). Эффекты сужения аорты относительно ЛО описываются корнем 2, положительную связь с которым имели уровни глицина и CSA, а отрицательную – уровни 1-метилгистидина, орнитина и глутамина. Опытные группы характеризовались меньшими значениями корня 2, чем ЛО, т.е. большие значения последних показателей были более свойственны НК.

Выводы. 1. Изменения в пуле свободных аминокислот печени при НК характеризуются более высокими уровнями гистидина, аргинина и также аланина, торможение синтеза таурина и гамма-глутамильного цикла. 2. Показатели аминокислотного пула мышц при НК изменяются менее выражено, однако, возможно торможение превращений цистина по цистеиноксидазному пути. 3. При НК в сердце снижается уровень 3-метилгистидина. Эффекты НК описываются более высокими уровнями глицина и CSA и низкими – 1-метилгистидина, орнитина и глутамина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аминокислоты и их производные в патогенезе и лечении поражений печени / Л. И. Нефедов, Н. Д. Маслакова, В. М. Цыркунов [и др.] // Новости гепатологии и медицины. – 1997. – № 1(2). – С. 2–10.
2. Дешко, М.С. Характеристика некоторых биогенных аминов при фибрилляции предсердий / М. С. Дешко, В. А. Снежицкий, Е. М. Дорошенко // Кардиология в Беларуси. – 2011. – № 2. – С. 57–68.
3. Дорошенко, Е. М. Лабораторно-диагностическая технология одновременного определения в пробе анализируемого материала (ткани, биологической жидкости) гомоцистеина и других физиологически активных аминокислот с использованием высокоэффективной жидкостной

хроматографии / Е. М. Дорошенко, Я. И. Новгородская // Лабораторная диагностика. Восточная Европа. – 2020. – Т. 9, № 1–2. – С. 135–143.

4. Дорошенко, Е. М. Пул свободных аминокислот и родственных соединений в плазме крови при экспериментальной недостаточности кровообращения / Е. М. Дорошенко // Материалы республиканской с международным участием научно-практической конференции, посвященной 60-летию Гродненского государственного медицинского университета, Гродно, 28 сент. 2018 г. : сб. ст. / Гродн. гос. мед. ун-т ; отв. ред. В. А. Снежицкий. – Гродно, 2018. – С. 282–286.

5. Дорошенко, Е. М. Состояние пула свободных аминокислот в плазме крови при экспериментальной ишемии миокарда / Е. М. Дорошенко // Актуальные проблемы биохимии : сб. материалов науч.-практ. конф., Гродно, 21 мая 2021 г. / Гродн. гос. мед. ун-т ; редкол.: В. В. Лелевич [и др.]. – Гродно, 2021. – С. 122–125.

6. Дорошенко, Е. М. Структура пула свободных аминокислот и их производных плазмы крови у пациентов с ишемической болезнью сердца и проявлениями хронической сердечной недостаточности / Е. М. Дорошенко, В. А. Снежицкий, В. В. Лелевич // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2017. – Т. 15, № 5. – С. 551–556.

7. Коган, А. Х. Новая простая методика сужения почечных и других артерий у мелких лабораторных животных в хроническом эксперименте / А. Х. Коган // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1961. – № 1. – С. 112–115.

8. Мамедов, М. Н. Глобальная динамика смертности от сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах мира / М. Н. Мамедов // Международный журнал сердца и сосудистых заболеваний. – 2025. – Т. 13, № 46. – С. 5–11.

9. Мрочек, А. Г. Экстремальная кардиология: профилактика внезапной смерти: руководство для врачей / А. Г. Мрочек, В. В. Горбачев. – М. : Медицинская книга, 2010. – 431 с.

10. Шейбак, В. М. Биологическая роль таурина в организме млекопитающих / В. М. Шейбак, Л. Н. Шейбак // Медицинские новости. – 2005. – № 10. – С. 15–18.

11. Amino acids as metabolic substrates during cardiac ischemia / K. J. Drake, V. Y. Sidorov, O. P. McGuinness [et al.] // Experimental Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 237, № 12. – P. 1369–1378.

12. Elevation of homocysteine and excitatory amino acid neurotransmitters in the CSF of children who receive methotrexate for the treatment of cancer / C. T. Quinn, J. C. Griener, T. Bottiglieri [et al.] // J. Clin. Oncol. – 1997. – Vol. 15, № 8. – P. 2800–2806.

13. Kynurenines and the respiratory parameters on rat heart mitochondria / H. Baran, K. Staniek, B. Kepplinger [et al.] // Life Sci. – 2003. – Vol. 72, № 10. – P. 1103–1115.

14. Metabolite profiling identifies pathways associated with metabolic risk in humans / S. Cheng, E. P. Rhee, M. G. Larson [et al.] // Circulation. – 2012. – Vol. 125, № 18. – P. 2222–2231.
15. Moderate hyperhomocysteinemia provokes dysfunction of cardiovascular autonomic system and liver oxidative stress in rats / R. H. Mendes, C. Mostarda, G. O. Candido [et al.] // Auton. Neurosci. – 2014. – Vol. 180. – P. 43–47.
16. Monoamine oxidases as sources of oxidants in the heart / N. Kaludercic, J. Mialet-Perez, N. Paolocci [et al.] // J. Mol. Cell. Cardiol. – 2014. – Vol. 73. – P. 34–42.
17. Role of serotonin 5-HT_{2A} receptors in the development of cardiac hypertrophy in response to aortic constriction in mice / O. Lairez, T. Cognet, S. Schaak [et al.] // J. Neural Transm. – 2013. – Vol. 120, № 6. – P. 927–935.
18. Shen, R. Relationship between amino acid metabolism and inflammation in coronary heart disease (review) / R. Shen, Y. Zhang // Int. J. Mol. Med. – 2025. – Vol. 56, № 2. – P. 120.

ПУЛ БОЛЬШИХ НЕЙТРАЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ В СЕРДЦЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

Баранова А. С., Дорошенко Е. М.

*Гродненский государственный медицинский университет,
Гродно, Беларусь*

Актуальность. Заболевания сердца сохраняют первое место в смертности взрослого населения в мире [1]. Нарушения обмена больших нейтральных аминокислот (БНА), к которым относятся ароматические аминокислоты (ААК) и аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), характерны для патологии мышечной и нервной тканей. При этом известны данные, свидетельствующие о том, что ишемия миокарда в эксперименте сопровождается повышением уровней ААК в плазме крови, поэтому актуально исследование пула свободных аминокислот также и в тканях сердца [2]. Стоит отметить, что ключевой метаболический путь, затрагивающий инфаркт миокарда (ИМ) – это катаболизм ААК, поскольку количество метаболитов фенилаланина (Фен), тирозина (Тир) и триптофана (Трп) весьма значительно изменяется при ишемии [3]. АРУЦ же (валин (Вал), лейцин (Лей) и изолейцин (Иле)) в нормальных условиях могут окисляться в миокарде и использоваться им в качестве дополнительного энергетического топлива, что определяет интерес к изучению изменения их уровней в тканях сердца [4]. Для оценки изменения пула БНА в ишемизированном миокарде используются классический и расширенный индексы Фишера (ИФ), являющиеся отражением баланса анаболических и катаболических процессов в тканях [5]. В последние годы показано, что изменения данного соотношения ассоциированы не только с печеночной патологией, но и с сердечно-сосудистыми заболеваниями, включая ишемическое повреждение миокарда [5]. Расширенный ИФ (с учетом