УДК: 547.466:612.82:[616.831 – 099 – 092.9:547.262]

ХАРАКТЕРИСТИКА ПУЛА СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В НЕКОТОРЫХ ОТДЕЛАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

А.А. Иоскевич; В.В. Лелевич, д.м.н., профессор
Кафедра биологической химии
УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Изучены особенности нарушения пула свободных аминокислот в головном мозге крыс в динамике хронической алкогольной интоксикации. Установлено, что наиболее значительные изменения пула свободных аминокислот при хронической алкогольной интоксикации наблюдаются в таламической области головного мозга крыс.

Ключевые слова*: алкогольная интоксикация, аминокислоты, головной мозг.*

The features of the disturbance of free amino acids pool in the rats brain in the dynamics at chronic alcohol intoxication have been studied. It is established that the most considerable changes in free amino acids pool at chronic alcohol intoxication are observed in the thalamic area of rats brain.

Key words*: alcohol intoxication, amino acids, brain.*

Введение

Алкоголизм и последствия злоупотребления алкоголем находятся в сфере внимания исследователей уже многие годы. Злоупотребление алкоголем приводит к различным нарушениям: расстройству памяти, заболеваниям печени, мышечной слабости, заболеваниям сердца, анемии, снижению иммунитета, нервно-психическим расстройствам [7]. Алкогольная интоксикация ведёт к нарушению метаболизма белка, замедлению использования глюкозы в энергетических целях, усилению синтеза и торможению окисления жирных кислот, нарушению обмена ряда витаминов [2].

Свободные аминокислоты играют важную роль в синтезе большого числа биологически важных соединений: белков, пептидов, некоторых липидов, ряда гормонов, витаминов, биогенных аминов и др. Обмен аминокислот контролируется с помощью биохимических и физиологических механизмов, гарантирующих относительно стабильный их уровень (фонд) в крови и тканях [3]. Стабильность фонда аминокислот имеет еще и регуляторное значение в связи с тем, что отдельные аминокислоты выступают как аллостерические регуляторы, нейротрансмиттеры или предшественники последних [7]. Ткани головного мозга концентрируют аминокислоты в наибольшей степени, хотя обмен их между головным мозгом и кровью происходит достаточно быстро. До 75% аминокислот головного мозга представлены Асп, Глу* и их производными, а также ГАМК [6,7]. Пути метаболизма аминокислот в мозге такие же, как и в периферических тканях [5]. Алкоголизм сопровождается различными расстройствами функций центральной нервной системы (ЦНС) – (нарушение памяти, сна, снижение аналитических возможностей мозга, полинейропатии и др.) [4].

Целью работы являлось изучение пула свободных аминокислот в некоторых отделах головного мозга крыс в условиях хронической алкогольной интоксикации.

Материалы и методы

В эксперименте по моделированию хронической алкогольной интоксикации (ХАИ) было использовано 36 белых беспородных крыс-самцов, массой 180-220 граммов. Экспериментальным животным внутрижелудочно вводили 25% раствор этанола в дозе 3,5 г/кг в течение 7 (2-я группа), 14 (3-я группа), 21 (4-я группа) и 28 (5-я группа) суток два раза в сутки с интервалом в 12 часов. Контрольная (1-я группа) получала внутрижелудочно 0,9% раствор NaCl. Декапитацию производили на 8, 15, 22 и 29 сутки через 1 час после последнего введения этанола.

Определение свободных аминокислот производилось на ВЭЖХ «Agilent 1200» с четырехканальным градиентным насосом высокого давления, термостатом колонок детектором флуоресценции [1].

Статистическую обработку данных выполняли с применением методов непараметрической статистики. Для сравнения значений независимых выборок использовался U-критерий Манна-Уитни. При этом использовался пакет статистических программ STATISTICA 7.0.

Результаты и обсуждение

В таламической области головного мозга при ХАИ наблюдаются изменения в структуре пула свободных аминокислот. Более всего они выражены при алкогольной интоксикации в течение 7 суток (2-я группа, табл.1) У особей этой группы снижается концентрация большинства аминокислот практически в два раза: Асп, Глу, Асн, Глн, Гис, Глу, Тре, Арг, Ала, Тау, ГАМК, Вал, Фен, Лей, Лиз. При этом значительно, на 50%, снижается суммарное содержание нейротрансмиттерных аминокислот. Соотношения АРУЦ/ААК, гликогенные/кетогенные, заменимые/незаменимые аминокислоты в данном отделе мозга после недлительной алкоголизации остаются в пределах нормы. При алкогольной интоксикации в течение 14 суток в таламической области мозга изменения менее выражены. Наблюдается уменьшение содержания Асп, Глу, Глн, Арг, Тау, Вал, повышение уровня Гис, Мет и Орн в сравнении с особями контрольной группы. В то же время отмечается стабильность соотношений АРУЦ/ААК, гликогенные/кетогенные, заменимые/незаменимые и возбуждающие/тормозные аминокислоты. Необходимо отметить, что в 3-й группе возрастает содержание большинства аминокислот (кроме Глу и Орн) по сравнению со 2-й группой. При ХАИ в течение 21 суток можно отметить следующие изменения в структуре фонда свободных аминокислот таламуса: снижается концентрация Асп, Глу, Ала, Тау, Вал и Орн, повышается содержание Глу, Арг, ГАМК, Фен, Иле в сравнении с контролем. У особей 4-й группы значительно возрастает суммарное количество нейротрансмиттерных аминокислот. В данном отделе головного мозга при алкогольной интоксикации в течение 28 суток снижается содержание Ала, Тау, Вал и Орн, повышается уровень Глу, Гис, Гли, Арг, ГАМК,

* – в работе использованы общепринятые сокращения аминокислот

Таблица 1 – Содержание свободных аминокислот и их производных (нмоль/г) в таламической области головного мозга крыс в динамике хронической алкогольной интоксикации

	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Асп	2363,4 ± 232,3	1147,9 ± 44,9*	2028,6 ± 168,9* °	2117,8 ± 247,4*	2223,3 ± 1223,5
Глу	8818,8 ± 350,6	4089,7 ± 617,6*	1017,5 ± 1017,5 °	7924,2 ± 695,9*	10077,2 ± 593,5*
Асн	61,8 ± 5,9	32,6 ± 2,9*	56,1 ± 7,4 °	55,2 ± 6,4	58,5 ± 5,2
Глн	5092,6 ± 416,9	2576,6 ± 257,9*	4430,2 ± 699,4* °	4981,6 ± 461,9	5067,2 ± 800,2
Гис	29,7 ± 2,8	19,0 ± 4,9*	42,0 ± 6,1* °	31,0 ± 7,1 □	64,7 ± 6,0* 0
Гли	752,8 ± 60,7	576,2 ± 111,2*	686,9 ±135,0	1051,0 ± 106,9*□	994,0 ± 49,3*
Тре	386,4 ± 96,5	192,9 ± 43,9*	306,8 ± 72.8 °	422,9 ± 71,5 □	380,4 ± 62,2
Арг	111,9 ± 9,9	38,3 ± 5,2*	67,8 ± 10,1*°	142,9 ± 33,6* □	152,5 ± 2,7*
Ала	1272,9 ± 203,4	129,8 ± 16,9*	1214,1 ± 152,9 °	412,0 ± 50,2* □	338,4 ± 43,6* 0
Тау	2706,8 ± 575,8	1145,8 ± 241,7*	1670,1 ± 206,3*°	1578,4 ± 303,6*	2155,0 ± 539,3 0
ГАМК	2479,5 ± 365,7	1338,2 ± 166,7*	2348,1 ± 328,8 °	3347,5 ± 274,7* □	3940,2 ± 222,2* 0
Вал	91,6 ± 6,3	45,2 ± 3,2*	79,7 ± 8,3*°	75,0 ± 9,9*	70,7 ± 7,7*
Мет	15,4 ± 2,8	13,1 ± 1,4	20,4 ± 3,9* °	13,4 ± 1,6 □	13,9 ± 3,3
Фен	76,9 ± 12,0	39,8 ± 2,3*	75,1 ± 9,0 °	93,3 ± 6,1* □	69,1 ± 6,8 0
Иле	29,1 ± 8,7	22,0 ± 5,2	31,9 ± 6,3 °	39,0 ± 5,1* □	46,5 ± 9,3*
Лей	70,1 ± 9,0	42,8 ± 3,6*	69,2 ± 10,0 °	67,7 ± 5,4	70,8 ± 8,1
Орн	43,8 ± 4,4	161,2 ± 16,2*	56,8 ± 7,0* °	31,8 ± 1,2* □	36,8 ± 3,5 0
Лиз	167,6 ± 34,1	77,4 ± 11,9*	185,0 ± 21,1°	156,7 ± 38,3	141,7 ± 17,6

Примечание: здесь и в таблицах 2-3: * - сравнение с контролем (p<0,05); ° - сравнение со II группой (p<0,05); □ - сравнение с III группой (p<0,05); 0 - сравнение с IV группой (p<0,05).

Таблица 2 – Содержание свободных аминокислот и их производных (нмоль/г) в стриатуме головного мозга крыс в динамике хронической алкогольной интоксикации

	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Асп	1886, ± 141,3	1844,3 ± 292,6	2228,6 ± 520,3	1772,5 ± 177,6	2270,0 ± 327,0*0
Глу	10339,4 ± 840,9	9124,6 ± 406,3*	11803,0 ± 1498,3*°	11842,5 ± 1646,2*	11044,1 ± 726,3
Асн	56,1 ± 9,4	51,2 ± 8,3	40,0 ± 8,2*°	56,1 ± 13,5 □	46,0 ± 5,9*
Глн	5075,8 ± 500	6880,0 ± 580,3*	7103,1 ± 506,4*	7328,7 ± 494,0*	7109,0 ± 422,4*
Гис	143,6 ± 20,2	149,0 ± 15,9	155,0 ± 21,7	158,1 ± 22,7	158,0 ± 11,3
Гли	551,0 ± 61,8	468,7 ± 103,9	530,8 ± 46,5	494,2 ± 90,5	498,0 ± 46,5
Тре	571,8 ± 74,6	367,4 ± 37,0*	398,4 ± 68,5*	453,0 ± 56,9*	451,4 ± 30,1*
Арг	102,2 ± 15,1	112,6 ± 23,7	105,1 ± 17,0	182,7 ± 25,8*□	172,9 ± 9,5*
Ала	492,1 ± 89,9	256,6 ± 77,2*	626,8 ± 13,9*°	594,0 ± 74,4*	479,3 ± 53,5 0
Тау	6070 ± 750	5442,3 ± 564,0	5063,8 ± 428,3*	6469,5 ± 805,8 □	5830,0 ± 216,6
ГАМК	1522,2 ± 331,2	1504,3 ± 200,1	1444,0 ± 120,2	1713,6 ± 169,5 □	1343,8 ± 49,0 0
Вал	98,3 ± 7,3	91,7 ± 7,4	100,2 ± 8,8	102,0 ± 15,5	102,5 ± 7,3
Мет	31,5 ± 4,4	37,4 ± 4,7*	33,6 ± 2,7	45,0 ± 10,2*□	30,7 ± 5,9 0
Фен	60,6 ± 6,3	64,6 ± 6,5	59,5 ± 5,7	54,8 ± 6,9	61,6 ± 13,7
Иле	44,4 ± 5,3	64,6 ± 6,6*	52,1 ± 4,1*°	41,9 ± 11,0 □	75,6 ± 13,5* 0
Лей	71,4 ± 3,6	59,3 ± 6,2*	68,6 ± 8,9	60,2 ± 9,3*	77,3 ± 4,7* 0
Орн	11,5 ± 1,5	13,9 ± 2,7	12,0 ± 1,2	38,4 ± 9,4* □	14,5 ± 1,3*0
Лиз	147 ± 29,3	151,6 ± 27,3	108,1 ± 12,2°	124,3 ± 25,5	105,1 ± 9,3*

Иле, а также суммарная концентрация нейротрансмиттерных аминокислот. При этом незначительно возрастают соотношения АРУЦ/ААК до 2,72 (контроль 2,48), гликогенные/кетогенные до 69,16 (контроль 60,46) и заменимые/незаменимые аминокислоты до 23,92 (контроль 22,10).

Проведенным экспериментом установлено, что ХАИ приводит к изменениям в фонде свободных аминокислот в стриатуме головного мозга. При алкогольной интоксикации в течение 7 суток снижается концентрация Глу, Тре, Ала, Лей, повышается содержание Глн, Мет, Иле, а также возрастает соотношение заменимые/незаменимые аминокислоты. Коэффициенты АРУЦ/ААК, гликогенные/кетогенные, возбуждающие/тормозные аминокислоты остаются в пределах нормы в сравнении с контрольной группой.

В данном отделе мозга при алкогольной интоксикации в течение 14 суток пул аминокислот меняется следующим образом: значительно возрастает соотношение заменимые/незаменимые аминокислоты на 50% и гликогенные/кетогенные аминокислоты на 20% по сравнению с контрольной группой. В то же время незначительно повышается сумма нейротрансмиттерных аминокислот. В стриатуме при ХАИ в течение 21 суток незначительно снижается содержание Тре и Лей, возрастает концентрация Глу, Глн, Арг, Ала, Мет и Орн, также повышается соотношение заменимые/незаменимые, гликогенные/кетогенные аминокислоты на 40% в сравнении с контрольной группой животных. У особей 5-й группы в стриатуме наблюдаются более выраженные нарушения структуры пула свободных аминокислот: возрастают соотношения заменимые/незаменимые на 32%, гликогенные/кетогенные на 34%, возбуждающие/тормозные аминокислоты на 20% и АРУЦ/ААК на 17% в сравнении с контрольной группой, снижается концентрация Асн, Тре, Лиз.

Таблица 3 – Содержание свободных аминокислот и их производных (нмоль/г) в мозжечке головного мозга крыс в динамике хронической алкогольной интоксикации

	1-я группа	2-я группа	3-я группа	4-я группа	5-я группа
Асп	2041,5 ± 149,3	1976,1 ± 105,1	2122,2 ± 253,3	2091,8 ± 170,3	2123,1 ± 69,8
Глу	11973,5 ± 1180,0	12132,5 ± 416,8	13579,3 ± 1334,0* °	13726,8 ± 969,5*	13550,0 ± 161,6*
Асн	43,0 ± 4,5	41,0 ± 3,7	37,7 ± 4,6*	43,1 ± 5,1 □	40,5 ± 4,2
Глн	6550,8 ± 585,0	6966,5 ± 373,6	7416,9 ± 417,2*	6930,8 ± 696.5	7183,8 ±630,0
Гис	41,9 ± 4,7	100,3 ± 14,6*	78,9 ± 7,8* °	59,4 ± 8,8* □	68,2 ± 7,9*
Гли	312,8 ± 46,3	288,7 ± 19,6	308,3 ± 38,4	295,2 ± 44,8	351,3 ± 73,9
Тре	659,1 ± 56,6	328,4 ± 57,7*	386,6 ± 47,3*	372,9 ± 77,9*	445,8 ± 42,8* 0
Арг	152,2 ± 14,8	121,1 ± 15,2*	156,0 ± 21,6 °	200,1 ± 35,4* □	175,3 ± 21,1 *
Ала	346,9 ± 76,8	436,3 70,0	311,8 ± 59,7 °	288,8 ± 46,8	234,8 ± 33,6* 0
Тау	4980,1 ± 533,2	4365,5 ± 357,8*	4118,9 ± 593,2*	4137,4 ± 314.4*	4287,5 ± 191,7*
ГАМК	1285,7 ± 120,0	1165,5 ± 88,3*	1221,7 ± 116,9	1248,1 ± 272	1041,2 ± 46,3*
Вал	101,2 ± 12,9	103,7 ± 17,7	85,1 ± 5,1* °	70,0 ± 4,6* □	81,4 ± 11,4* 0
Мет	25,4 ± 4,8	21,8 ± 2,3	34,3 ± 5,2* °	31,6 ± 6,8	30,0 ± 4,3
Фен	63,1 ± 7,5	66,9 ± 6,2	58,4 ± 5,1 °	63,6 ± 4,1	62,3 ± 3,1
Иле	49,6 ± 5,7	58,1 ± 6,8*	48,8 ± 5,7 °	58,8 ± 7,0* □	59,2 ± 4,5*
Лей	68,9 ± 6,8	74,7 ± 2,1*	62,5 ± 4,9* °	61,9 ± 6,2*	52,3 ± 7,2* 0
Орн	33,8 ± 9,4	44,7 ± 3,9*	31,3 ± 7,2 °	45,8 ± 7,1* □	56,6 ± 7,0* 0
Лиз	300,4 ± 50,3	235,2 ± 45,2*	242,1 ± 23,7*	245,4 ± 45,5	129,7 ± 20,4* 0

В мозжечке на фоне ХАИ также наблюдаются изменения в структуре пула свободных аминокислот. При алкоголизации в течение 7 суток наблюдается снижение концентрации Тре, Арг, Тау, ГАМК, Лиз, повышение содержания Гис, Лей, Иле, Орн (табл.3). Коэффициенты АРУЦ/ААК, возбуждающие/тормозные аминокислоты при этом находятся в пределах нормы по сравнению с контрольной группой.

В данном отделе мозга при алкоголизации в течение 14 и 21 суток исследуемые показатели находятся примерно на одном уровне. Отмечается низкое содержание Тре, Тау, Вал, Лей, Лиз, повышена концентрация Глу, Глн, Гис, Орн в сравнении с контрольными особями. При этом незначительно возрастают соотношения возбуждающие/тормозные, гликогенные/кетогенные аминокислоты при сравнении с контролем. Необходимо отметить, что при сравнении 3-й группы с 1-й в ней наблюдается статистически значимое повышение концентрации Глу, Арг, Мет и снижение содержания Гис, Ала, Вал, Фен, Иле, Лей и Орн. При ХАИ в течение 28 суток (5-я группа) наблюдаются выраженные изменения фонда свободных аминокислот в мозжечке: снижается концентрация Тре, Ала Тау, ГАМК, Вал, Лей. Лиз, повышается содержание Глу, Глн, Гис, Арг, Иле, Орн.

В данных условиях значительно возрастают соотношения возбуждающие/тормозные аминокислоты – на 70%, гликогенные/кетогенные аминокислоты – на 95%. При разных сроках алкоголизации в мозжечке отмечается значительное повышение соотношения заменимые/незаменимые аминокислоты (на 48-60%) по сравнению с контрольной группой.

Заключение

Таким образом, трансформация пула свободных аминокислот в таламической области, стриатуме и мозжечке головного мозга на фоне хронической алкогольной интоксикации имеет свою регионарную специфику. Наиболее выраженные изменения при этом отмечаются в таламической области, что проявляется значительным снижением концентрации большинства исследуемых аминокислот при алкоголизации в течение 7 суток. При увеличении сроков алкоголизации до 14-28 суток эти показатели незначительно возрастают, но не восстанавливаются до нормы. В стриатуме и мозжечке хроническая алкогольная интоксикация приводит к меньшим изменениям пула свободных аминокислот. Соотношение АРУЦ/ААК при всех сроках алкогольной интоксикации здесь не изменяется, а коэффициент возбуждающие/тормозные аминокислоты возрастает к концу алкоголизации (28 суток).

Литература

1. Дорошенко, Е.М. Методологические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях / Е.М. Дорошенко // Сборник тезисов Республиканская науч. конф. по аналит. химии с междунар. участием «Аналитика РБ-2010», Минск, 14-15 мая 2010 г.. Минск, 2010. / – С. 126.
2. Clinical aspects of acute intoxication with ethanol / Z. Chodorovwski [et al.] // Przegl Lek. - 2004. – Vol. 61,№ 4. – P. 314-320.
3. De Witte P. The role of neurotransmitters in alcohol dependence: animal research. / P. De Witte // Alcohol Alcohol Suppl. – 1996. – Mar,1. – P. 13-19.
4. Littleton ,J. Neurochemical mechanisms underlying alcohol withdrawal / J. Littleton // Alcohol Health Res World. – 1998. – Vol. 22, № 1. – P. 13-24.
5. Neuropharmacology of alcohol addiction / V. Vengeliene [et al.] // Br. J. Pharmacol. – 2008. – Vol. 154, № 2. – P. 299-315.
6. Relation between plasma brain-derived neurotrophic factor and nerve growth factor in the male patients with alcohol dependence / L.Ch. Boung [et al]// Alcohol. – 2009. – Vol. 43, № 4. – P. 265-269.
7. Ward, R.J., Lallemand, F., de Witte, P. Biochemical and neurotransmitter changes implicated in alcohol-induced brain damage in chronic or “binge drinking” alcohol abuse. / R.J. Ward, F. Lallemand, P. de Witte // Alcohol. – 2008. – Vol. 44, №2. – P. 128-135.

Поступила 17.03.2011