

УДК (547.757.547.262.577.158.344: 577.31/611.81) – 092.9

ВЛИЯНИЕ ЭТАНОЛАМИНА И ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ НА НОЧНОЕ СОДЕРЖАНИЕ МЕТАБОЛИТОВ ГИДРОКСИЛАЗНОГО ПУТИ ОБМЕНА ТРИПТОФАНА В ПЛАЗМЕ КРОВИ, ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

М.М. Золотухин, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов, А.В. Наумов
ЦНИЛ, УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Исследовали эффекты этаноламина (EA, 100 мг/кг) и вальпроевой кислоты (VPA 400 мг/кг) на содержание триптофана (Trp) и его метаболитов в плазме крови, печени и головном мозге крыс на фоне хронической алкогольной интоксикации (ХАИ). Оба соединения вводились внутривентрикулярно в течение 7 дней в световую фазу; последнее введение EA за 12 ч и VPA – 3 ч до декапитации. ХАИ (14 недель) не изменяла уровней триптофана и его метаболитов в плазме, печени, в отделах головного мозга, кроме среднего мозга, где уровень мелатонина (Mel) был увеличен. EA и VPA понижали уровни Trp в плазме, EA – также в печени. После введения VPA повышались уровни Trp и 5-гидрокситриптофана (5-НТ) в лобной доле коры и мозжечке, Trp в среднем мозге. Содержание NAS повышалось в гипоталамусе, лобной доле коры, стриатуме. VPA увеличивала концентрацию серотонина (5-НТ) и снижала – 5-метоксииндолуксусной кислоты (5-МИАА), N-ацетилтриптофана (NAT) в эпифизе. Концентрация Mel была повышена в лобной доле коры больших полушарий и снижена в среднем мозге и эпифизе. После введения EA в эпифизе, стриатуме, среднем мозге, мозжечке, гипоталамусе содержание Trp снижалась, его гидроксилирование активировалось в лобной доле коры, мозжечке и угнеталось в гипоталамусе. В среднем мозге, лобной доле коры, гипоталамусе уровень 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-НИАА) был снижен, как и концентрация 5-НТ в мозжечке, гипоталамусе. Уровни NAT, NAS увеличивались в лобной доле коры, NAS – в гипоталамусе. Концентрация NAS была снижена в среднем мозге, NAT – в гипоталамусе. После введения EA уровень Mel в лобной доле коры снижался. Мы полагаем, что все эффекты VPA были реализованы через модификацию транспорта триптофана, а EA – через активацию катаболизма триптофана в периферических тканях.

Ключевые слова: метаболизм триптофана, этаноламин, вальпроевая кислота, алкоголь, циркадианный ритм, головной мозг.

We investigated the effects of ethanolamine (EA, 100 mg/kg) and valproic acid (VPA, 400 mg/kg) on the content of tryptophan (Trp) and its metabolites in blood plasma, liver, brain of rats undergoing chronic alcohol intoxication (CHAI). Both compounds were injected intragastrically for 7 days in light phase; the last administration of EA 12 h and VPA – 3 h before decapitation. The CHAI (14 weeks) didn't change the levels of Trp and its metabolites in plasma, liver and brain areas except for the midbrain where the Mel level was increased. EA and VPA decreased levels of Trp in plasma; EA – also in the liver. After administration of VPA the levels of Trp and 5-HTP in frontal cortex and cerebellum were increased. In the midbrain the content of Trp was increased; the levels of 5-HTP and NAS were decreased. The content of NAS was increased in hypothalamus, frontal cortex, striatum. VPA increased the concentration of 5-HT and decreased the concentration of 5-MIAA and NAT in the pineal gland. The concentration of Mel was increased in the frontal cortex and decreased in the midbrain and pineal gland. Valproate decreased the content of TRN in striatum. After administration of EA in the pineal gland, striatum, midbrain, cerebellum, hypothalamus the content of Trp was decreased. The synthesis of 5-HTP was increased in the frontal cortex, cerebellum and depressed in hypothalamus. In the midbrain, frontal cortex, hypothalamus the level of 5-HIAA was decreased as well as concentration of 5-HT in the cerebellum, hypothalamus. The levels of NAT, NAS were increased in the frontal cortex and the content of NAS in the hypothalamus. The concentration of NAS was decreased in the midbrain as well as the level of NAT in the hypothalamus. After administration of EA in the frontal cortex the level of Mel was decreased. We suppose all the effects of VPA to be realized through modification of Trp transport while those of EA – through activation of Trp catabolism in peripheral tissues.

Key words: tryptophan metabolism, ethanolamine, valproic acid, alcohol, circadian rhythm, brain.

Известно, что хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) сопровождается нарушениями в функционировании гидроксилазного пути обмена триптофана [4], который является источником синтеза серотонина – медиатора серотонинергической системы и предшественника в биосинтезе мелатонина. Среди ее эффектов на центральную серотонинергическую систему было описано угнетение синтеза и (или) катаболизма серотонина [4, 7]. Следовательно, для повышения функциональной активности этой системы можно применять соединения, обладающие прямым стимулирующим влиянием на серотониновую систему мозга либо опосредованное через повышение содержания этого

амин. Вальпроевая кислота (VPA), способная увеличивать оборот серотонина и снижать потребление раствора этанола крысами [5, 11]. Еще одним соединением, являющимся эндогенным нейромодулятором, антистрессором [3] является этаноламин (EA, ЭА) [3]. Он способен повышать содержание 5-НТ, таким образом реализуя частично свое антиоксидантное действие [1]. Для этого аминопирта была показана способность снижать острую токсичность алкоголя, влиять на метаболизм этанола и его нейротропную активность [3]. Таким образом, представляется целесообразным оценить метаболические эффекты EA и VPA на уровни триптофана и метаболитов гидроксилазного пути

его обмена в плазме крови, печени и некоторых отделах мозга в темновую фазу, поскольку синтез некоторых из этих метаболитов активен в ночное время.

Цель. Оценить влияние введения EA и VPA при хронической алкогольной интоксикации на уровни триптофана и его метаболитов в плазме крови, печени и головном мозге крыс в темновую фазу.

Материалы и методы

В работе использовались 32 белые беспородные крысы-самцы массой 180-250 г, которые содержались на стандартном рационе вивария, после фотоадаптации (2 нед). Во время всего эксперимента крысы содержались при нормальном световом цикле (12/12 ч, 9:00 – 21:00 ч). Хроническую алкогольную интоксикацию моделировали в течение 14 недель, используя 20% раствор этанола в качестве единственного источника питья [3]. Средняя доза этанола за весь период алкоголизации составила $8,3 \pm 0,3$ г/кг в сутки (по данным регистрации потребления). Опытным группам в течение 7 дней внутрижелудочно вводили 0,5% раствор ЭА (100 мг/кг) [3] в 11:00 ч, а группе, получавшей VPA (400 мг/кг) [9,11] ее вводили в 20:00 ч. Интактному контролю и контролю, получавшему этанол, вводили эквивалентные количества изотонического раствора хлорида натрия. Декапитацию проводили в 23:00 ч, спустя 3 ч после последнего введения VPA. Отделы головного мозга и печень быстро извлекали и помещали в жидкий азот. Гомогенизацию биологического материала (гипоталамус, стриатум, средний мозг, лобную долю коры, мозжечек, печень) производили тefлоновым пестиком в 10-кратном объеме (эпифизов – в фиксированном объеме 100 мкл) экстракционной среды, содержащей 0,2 М хлорную кислоту, 25 мг/л ЭДТА и 1 мкМ ванилиновую кислоту (VA) (внутренний стандарт). Центрифугировали 15 мин при 20000 g (4°C). Супернатанты замораживали и хранили при -80°C.

Кровь собирали в пластиковые пробирки, содержащих 10% раствор Na_2EDTA и центрифугировали 15 мин при 3000 g. К полученной плазме добавляли равные объемы среды для депротеинизации, содержащей 1 М хлорную кислоту, 25 мг/л ЭДТА и 5 мкМ VA. Центрифугировали 15 мин при 20000 g (+4°C). Супернатанты хранили при -80°C.

В работе использовали этаноламин гидрохлорид (Reanal, Венгрия), препарат «Орфирил», содержащий 60 мг/мл вальпроевой кислоты (Pharmacia). Для приготовления подвижных фаз использовали ацетонитрил, метанол (Merck, Германия), KH_2PO_4 , ЭДТА (Reanal, Венгрия), октилсульфонат натрия, гептилсульфонат натрия (Элсико, Россия), уксусную кислоту, хлорную кислоту хч (НеваРеактив, Россия) и этанол квалификации не ниже хч. В качестве стандартов применяли серотонин креатинин-сульфат (5-НТ), триптамин (TRN), N-ацетилтриптофан (NAT) (Reanal, Венгрия), L-триптофан (Trp), мелатонин (Mel), 5-гидроксииндолуксусную кислоту (5-НIAA), N-ацетилсеротонин (NAS), ванилиновую кислоту (VA), 5-метоксииндолуксус-

ную кислоту (5-МIAA), 5-гидрокситриптофан (5-НТР) (Sigma, США). Тридистиллированную воду для подвижных фаз пропускали через патрон «Norganic» (Millipore, США), подвижные фазы фильтровали через мембранный фильтр 0,22 мкм.

Определения проводили методом изократической обращенно-фазовой ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1100. Колонка 3 x 250 мм Separon SGX C_{18} , 8 мкм (Элсико, Россия) термостатировалась при 30°C, скорость потока 0,5 мл/мин. Введение образцов осуществлялось автосамплером, объем 20 мкл. Детектирование по природной флуоресценции 280/340 нм. Для определения Trp, 5-НТР, 5-НТ и 5-НIAA использовали подвижную фазу, содержащую 0,1 М KH_2PO_4 , 17 мМ уксусной кислоты, 25 мг/л ЭДТА, 1 мМ гептилсульфоната натрия, 0,8 мМ октилсульфоната натрия и 11 % метанола (об.). Определение NAS, NAT, TRN, 5-МIAA и Mel проводили по методу [2]. Интегрирование и расчет содержания триптофана и его метаболитов проводили с помощью программы ChemStation версии A.10.01.

Статистическая обработка данных (корреляционный анализ и t-критерий Стьюдента, U-тест Манна-Уитни для проверки достоверностей, когда различались значения дисперсий либо отмечалось отклонение от нормального распределения) проводилась с помощью пакета Statistica 7.0.

Результаты и обсуждение

ХАИ не изменяла содержание Trp в плазме и печени. Введение VPA снижало содержание Trp в плазме крови, в сравнении с контролем и ХАИ, при этом уровень его не изменялся в печени. Введение ЭА приводило к снижению содержания Trp в плазме крови и печени, в сравнении контролем и ХАИ (табл. 1). В темновую фазу после введения VPA снижение содержания Trp в плазме крови было связано с активным поступлением этой аминокислоты в мозг, а не с усилением ее катаболизма в печени, поскольку уровень Trp в печени не изменялся. В отличие от VPA, после введения EA снижение уровня Trp в плазме крови было связано с увеличением катаболизма этой аминокислоты в печени по диоксигеназному пути, так как содержание аминокислоты в печени было снижено и, как следствие, снижалась доступность Trp в ЦНС.

В эпифизе ХАИ не изменяла уровней всего спектра исследованных соединений. Введение VPA снижало содержание NAT, Mel в сравнении с контролем и ХАИ, в то время как уровень 5-МIAA был снижен относительно контроля. Уровень 5-НТ в железе был повышен относительно ХАИ. В темновую фазу EA в эпифизе снижал содержание Trp в сравнении с ХАИ (табл. 2). Хроническая алкогольная интоксикация сопровождалась появлением корреляционной связи 5-НТ–NAS ($r=0,92$) и ослаблением связи TRN–5-МIAA ($r=0,82$ против $r=0,90$, $p < 0,05$) в эпифизе. Сохранялась связь Trp–5-НIAA ($r=0,82$). Такие изменения свидетельствуют о перераспределении потока 5-НТ между окислительной и ацетилирующей ветвями.

В эпифизе после введения VPA отмечалась тен-

денция к снижению уровня TRN, которая сопровождалась появлением корреляционной связи Тгр–TRN ($r = -0,84$), что говорит об угнетении декарбоксилирования Тгр. В то же время, отмечаемая тенденция к увеличению содержания 5-НТР и достоверное увеличение уровня 5-НТ говорит о переключении метаболизма триптофана с минорных цепочек на гидроксиллазную ветвь. Снижение уровней NAT, Mel и отмечаемая тенденция к снижению содержания NAS явно свидетельствует об угнетении N-ацетилтрансферазы по механизму, схожему с описанным в [10]. В эпифизе после введения EA отмечалась тенденция к снижению уровней 5-НТ, NAS, Mel на фоне достоверного снижения уровня Тгр, а также появление связи 5-НТ–5-Н1АА ($r = 0,94$) при неизменном уровне 5-Н1АА, что говорит о переключении катаболизма 5-НТ на окислительное дезаминирование при снижении интенсивности N-ацетилирования. Эти изменения в метаболизме 5-НТ могут быть связаны со снижением доступности Тгр в эпифизе.

Интоксикация этанолом не изменяла содержания всех исследованных соединений в стриатуме. VPA в этом отделе мозга повышала уровень NAS и снижала – TRN, по отношению к контролю. ЭА в стриатуме снижал концентрацию Тгр в сравнении с контролем и ХАИ (табл. 3). В стриатуме ХАИ вызвала появление корреляционной связи Тгр–5-НТ ($r = 0,84$) и ослабление –5-НТ–5-Н1АА ($r = 0,78$ против $0,96$). Исчезали связи между концентрациями минорных метаболитов и интермедиатами гидроксиллазного пути обмена Тгр. Возможно, это связано с перераспределением потока Тгр в пользу гидроксиллирования. В стриатуме VPA увеличивал N-ацетилирование 5-НТ, что могло быть связано с увеличением потока субстрата по гидроксиллазному пути: об этом косвенно свидетельствует увеличение корреляции Тгр–5-Н1АА ($r = 0,85$ против $r = 0,71$). На этом фоне снижалось декарбоксилирование Тгр, поскольку снижалось содержание TRN. Возможно, в этот феномен вносил свой вклад Mel, так как отмечалась тенденция к его снижению и увеличению корреляции TRN–Mel ($r = 0,85$ против $r = 0,78$ в группе ХАИ). ЭА в стриатуме увеличивал скорость катаболизма Тгр несмотря на снижение его уровня, в пользу этого свидетельствуют неизменные уровни его метаболитов.

В лобной доле коры больших полушарий ХАИ не изменяла содержания Тгр и его метаболитов. Введение VPA увеличивало уровни Тгр, NAS, в сравнении с контролем и ХАИ, а уровни 5-НТР, Mel – только относительно контроля. В этом отделе мозга EA снижал содержание 5-Н1АА и повышал уровень NAS, в сравнении с контролем и ХАИ. Уровни NAT, 5-НТР были повышены при сравнении с контролем, концентрация Mel была снижена в лоб-

Таблица 1 – Содержание триптофана в плазме крови (мкмоль/л) и в печени (нмоль/г ткани) после введения EA (100 мг/кг) или VPA (400 мг/кг) на фоне ХАИ, среднее \pm средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ+VPA	ХАИ+EA
Тгр, плазма	35,1 \pm 1,55	32,2 \pm 1,26	22,1 \pm 2,22* †	13,4 \pm 1,56* †
Тгр, печень	14,0 \pm 1,0	14,5 \pm 1,3	16,3 \pm 1,8	9,7 \pm 1,1* †

Примечание к табл. 1-7: * – $p < 0,05$ по отношению к контролю, † – по отношению к ХАИ

Таблица 2 – Содержание триптофана и его метаболитов в эпифизе крыс после введения EA (100 мг/кг) или VPA (400 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/эпифиз), среднее \pm средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + VPA	ХАИ+EA
Тгр	0,0224 \pm 0,0026	0,0256 \pm 0,0047	0,0220 \pm 0,0025	0,017 \pm 0,0021†
5-НТР	0,0014 \pm 0,0004	0,0012 \pm 0,0003	0,0020 \pm 0,0006	0,00154 \pm 0,00023
5-НТ	0,0635 \pm 0,0215	0,061 \pm 0,019	0,116 \pm 0,0213 †	0,0177 \pm 0,0047
5-Н1АА	0,0036 \pm 0,001	0,0043 \pm 0,0013	0,0073 \pm 0,0021	0,0041 \pm 0,0009
NAS	0,00070 \pm 0,00018	0,0010 \pm 0,0005	0,00047 \pm 0,00019	0,00039 \pm 0,00022
NAT	0,00013 \pm 0,00002	0,00014 \pm 0,00005	0,00006 \pm 0,00001*†	0,00010 \pm 0,00003
TRN	0,00014 \pm 0,00003	0,00016 \pm 0,00007	0,000071 \pm 0,000013	0,00009 \pm 0,00002
5-Н1АА	0,0051 \pm 0,0011	0,0029 \pm 0,0004	0,0024 \pm 0,0004*	0,00358 \pm 0,00073
Mel	0,00031 \pm 0,00007	0,00033 \pm 0,00013	0,00012 \pm 0,00002*†	0,00015 \pm 0,00003

Таблица 3 – Содержание триптофана и его метаболитов в стриатуме крыс после введения EA (100 мг/кг) или VPA (400 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее \pm средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + VPA	ХАИ + EA
Тгр	14,3 \pm 1,1	14,84 \pm 1,25	19,4 \pm 2,3	10,3 \pm 1,9* †
5-НТР	0,144 \pm 0,017	0,123 \pm 0,023	0,100 \pm 0,013	0,146 \pm 0,034
5-НТ	0,419 \pm 0,098	0,542 \pm 0,206	0,565 \pm 0,090	0,492 \pm 0,078
5-Н1АА	0,632 \pm 0,099	0,516 \pm 0,070	0,779 \pm 0,130	0,965 \pm 0,569
NAS	0,0190 \pm 0,0027	0,0201 \pm 0,0027	0,0265 \pm 0,0027*	0,0219 \pm 0,0029
NAT	0,0192 \pm 0,0020	0,0158 \pm 0,0021	0,0156 \pm 0,0024	0,0193 \pm 0,0035
TRN	0,0220 \pm 0,0034	0,0180 \pm 0,0047	0,0134 \pm 0,0014*	0,0147 \pm 0,0016
Mel	0,0325 \pm 0,0165	0,0191 \pm 0,0032	0,0162 \pm 0,0017	0,0157 \pm 0,0012

ной доле коры в сравнении с ХАИ (табл. 4). Интоксикация этанолом сопровождалась исчезновением корреляционной связи Тгр–NAS и возникновением связей TRN–5-НТ ($r = 0,88$) и 5-НТ–Mel ($r = 0,79$). В перераспределении Тгр между декарбоксилазным и гидроксиллазным путями также возможна роль Mel. Введение VPA увеличивало синтез и катаболизм 5-НТ по N-ацетилирующей цепочке за счет увеличения доступности Тгр или повышения активности N-ацетилтрансферазы. Об увеличении катаболизма Тгр по гидроксиллазному пути за счет повышения его доступности говорит достоверное повышение уровней Тгр и 5-НТР. Возможно, увеличение содержания Тгр в нервной ткани связано с воздействием VPA на мембраны нейронов [8], в результате чего изменяется их проницаемость. Еще одним эффектом VPA было увеличение активности N-ацетилтрансферазы: об этом явно говорит достоверное повышение содержания NAS и отмечаемая тенденция к повышению уровня NAT, а также появление корреляционной связи NAT–NAS ($r = 0,81$). Стоит отметить, что в лобной доле коры VPA снижал катаболизм Mel, так как уровень этого индоламина был повышен, несмотря на угнетение его продукции в эпифизе. В лобной доле коры больших полушарий EA, как и VPA, увеличивал синтез 5-НТ и его катаболизм по N-ацетилирующей цепочке, угнетая окислительное дезаминирование. О стимуляции синтеза 5-НТ говорит увеличение уровня 5-НТР при неизменном содержании Тгр. В пользу усиления катаболизма 5-НТ по N-ацетилирующему пути за счет повышения активности N-ацетилтрансферазы и угнетения активности

МАО явно свидетельствует повышение уровней NAT, NAS и снижение – 5-Н1АА. Понижение уровня Mel в лобной доле коры, возможно, связано со снижением его доступности вследствие угнетения синтеза этого индоламина в эпифизе.

В гипоталамусе ХАИ не изменяла уровень всех исследованных соединений. В темновую фазу VPA повышала содержание NAS в сравнении с ХАИ. Экзогенный ЕА в гипоталамусе понижал содержание Trp, 5-НТ, 5-Н1АА, в сравнении с контролем и ХАИ, в то время как уровень 5-НТР был снижен относительно контроля. Концентрации NAS, TRN были повышены, содержание NAT было снижено, при сравнении с ХАИ (табл. 5). ХАИ сопровождалась исчезновением связей Trp–NAS и возникновением – 5-НТ–5-Н1АА ($r=0,82$) и 5-Н1АА–NAS ($r=0,86$). Это означает, что ХАИ вызывает перераспределение потока 5-НТ между катаболическими цепочками. В гипоталамусе после введения VPA активировалось N-ацетилирование 5-НТ и снижалось его окисление, на что косвенно указывает повышение уровня NAS и тенденция к снижению уровня 5-Н1АА. Возможно, в регуляцию этого процесса вносит вклад Mel, так как известно, что он способен регулировать активность N-ацетилтрансферазы [12] и оказывать стимулирующее влияние на метаболизм Trp в гипоталамусе [6]. Это косвенно подтверждается появлением корреляционной связи NAS–Mel ($r=0,72$) (уровень Mel в гипоталамусе не изменялся, несмотря на угнетение его синтеза в эпифизе), а также отмечаемая тенденция к снижению содержания 5-НТ, 5-Н1АА и ослаблением корреляционной связи 5-НТ–5-Н1АА ($r=0,71$ против $r=0,82$). ЭА в гипоталамусе снижал синтез и синаптический выброс 5-НТ. Такое угнетение серотонинергической системы (снижение уровней 5-НТР, 5-НТ, 5-Н1АА) было связано со снижением доступности предшественника (уровня Trp), это косвенно подтверждается появлением корреляционных связей Trp–5-НТР ($r=0,94$), 5-НТР–5-Н1АА ($r=0,92$), Trp–5-Н1АА ($r=0,98$). Снижение уровня NAT носило адаптивный характер в силу перераспределения потока на гидроксиллазный путь, о чем свидетельствует появление корреляционных пар NAT–Trp ($r=-0,92$), NAT–5-НТР ($r=-0,92$), NAT–5-Н1АА ($r=-0,95$), а не с угнетением активности N-ацетилтрансферазы (так как уровень NAS повышался). Повышение содержания NAS, возможно, было связано с увеличением потока 5-НТ через арилалкиламин-N-ацетилтрансферазу. Адаптивный механизм перераспределения Trp затрагивал метаболизм TRN, снижая его катаболизм.

Продолжительная интоксикация алкоголем повышала уровень Mel в среднем мозге. Вальпроат в среднем мозге увеличивал уровень Trp и снижал содержание Mel при сравнении с контролем и ХАИ. Снижались уровни 5-НТР и NAS в сравнении с контролем. Введение ЕА снижало содержания Trp от-

Таблица 4 – Содержание триптофана и его метаболитов в лобной доле коры больших полушарий крыс после введения ЕА (100 мг/кг) или VPA (400 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее \pm средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + VPA	ХАИ + ЕА
Trp	14,4 \pm 1,8	16,4 \pm 2,2	25,1 \pm 2,8* \dagger	18,0 \pm 4,9
5-НТР	0,197 \pm 0,0183	0,241 \pm 0,018	0,276 \pm 0,0335*	0,302 \pm 0,0265*
5-НТ	0,664 \pm 0,1004	0,802 \pm 0,081	0,598 \pm 0,1250	0,600 \pm 0,0780
5-Н1АА	0,995 \pm 0,0975	0,958 \pm 0,108	0,894 \pm 0,1842	0,638 \pm 0,0639* \dagger
NAS	0,0283 \pm 0,0050	0,0326 \pm 0,0058	0,0631 \pm 0,0103* \dagger	0,0490 \pm 0,0025* \dagger
NAT	0,0171 \pm 0,0036	0,0234 \pm 0,0024	0,0275 \pm 0,0054	0,0307 \pm 0,0048*
TRN	0,0182 \pm 0,0021	0,0192 \pm 0,0020	0,0147 \pm 0,0011	0,0266 \pm 0,0063
Mel	0,0769 \pm 0,0073	0,1123 \pm 0,0168	0,1069 \pm 0,0089*	0,0744 \pm 0,0066 \dagger

Таблица 5 – Содержание триптофана и его метаболитов в гипоталамусе крыс после введения ЕА (100 мг/кг) или VPA (400 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее \pm средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + VPA	ХАИ + ЕА
Trp	15,2 \pm 1,5	14,5 \pm 1,1	16,7 \pm 1,1	4,98 \pm 0,49* \dagger
5-НТР	0,151 \pm 0,0086	0,149 \pm 0,0104	0,137 \pm 0,0045	0,117 \pm 0,0123*
5-НТ	1,69 \pm 0,26	1,65 \pm 0,23	1,17 \pm 0,11	0,794 \pm 0,070* \dagger
5-Н1АА	1,13 \pm 0,17	1,09 \pm 0,19	0,962 \pm 0,0581	0,358 \pm 0,044* \dagger
NAS	0,118 \pm 0,056	0,0480 \pm 0,0047	0,0631 \pm 0,0047 \dagger	0,0786 \pm 0,0075 \dagger
NAT	0,0187 \pm 0,0021	0,0227 \pm 0,0036	0,0182 \pm 0,0037	0,0135 \pm 0,0014 \dagger
TRN	0,0227 \pm 0,0024	0,0207 \pm 0,0016	0,0177 \pm 0,0014	0,0271 \pm 0,0022 \dagger
Mel	0,0572 \pm 0,0054	0,0562 \pm 0,0046	0,0549 \pm 0,0057	0,0641 \pm 0,0072

носительно контроля и ХАИ, 5-Н1АА относительно ХАИ и NAS относительно контроля в этом отделе мозга (табл. 6). В среднем мозге ХАИ снижала катаболизм Mel и вызывала исчезновение корреляционных связей между уровнями 5-Н1АА и Trp, 5-НТ. Появление связей Trp–NAS ($r=0,94$), Trp–5-НТР ($r=0,90$), 5-НТР–NAS ($r=0,97$) говорит об адаптивном перераспределении потока субстрата между окислительной и N-ацетилирующей цепочками в пользу последней. В среднем мозге VPA увеличивал оборот 5-НТ за счет увеличения доступности Trp, о чем говорит повышение уровня Trp и снижение 5-НТР с отмечаемой тенденцией к увеличению концентраций 5-НТ и 5-Н1АА. Вальпроат снижал N-ацетилирование 5-НТ, о чем явно говорит низкий уровень NAS. Снижение содержания Mel, наиболее вероятно, было связано со снижением его доступности вследствие угнетения основной мелатонин- продуцирующей системы мозга. В этом отделе мозга ЕА снижал доступность Trp, в результате чего снижался катаболизм 5-НТ по окислительному и N-ацетилирующему путям. Об этом свидетельствует снижение содержания Trp, 5-Н1АА и NAS.

В мозжечке ХАИ не выявляла принципиальных различий в уровнях всех изученных соединений. Введение VPA повышало содержание Trp относительно контроля и ХАИ, и уровень 5-НТР при сравнении с контролем. В темновую фазу ЕА снижал содержание Trp и 5-НТ при сравнении с контролем и ХАИ и повышал уровень 5-НТР по отношению контролю (табл. 7). ХАИ в мозжечке не изменял потока субстратов всех изученных метаболитических цепочек Trp. В мозжечке вальпроат увеличивал гидроксילирование Trp за счет повышения его доступности, о чем свидетельствует увеличение концентраций Trp и 5-НТР. ЭА угнетал синтез 5-НТ за счет снижения доступности Trp и декарбоксилирования 5-НТР. Об этом говорит снижение уровней Trp, 5-НТ и повышение содержания 5-НТР.

Таблица 6 – Содержание триптофана и его метаболитов в среднем мозге крыс после введения EA (100 мг/кг) или VPA (400 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее \pm средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + VPA	ХАИ + EA
Трп	15,7 \pm 1,6	17,8 \pm 0,9	21,3 \pm 1,7* †	10,1 \pm 1,4* †
5-НТ	0,167 \pm 0,0126	0,150 \pm 0,0196	0,121 \pm 0,0165*	0,151 \pm 0,0117
5-НТ	1,55 \pm 0,30	1,69 \pm 0,14	1,91 \pm 0,32	1,47 \pm 0,22
5-Н1АА	1,45 \pm 0,25	1,73 \pm 0,15	2,22 \pm 0,41	1,15 \pm 0,13 †
NAS	0,0493 \pm 0,0054	0,0461 \pm 0,0079	0,0296 \pm 0,0034*	0,0331 \pm 0,0027*
NAT	0,0218 \pm 0,0038	0,0163 \pm 0,0016	0,0165 \pm 0,0022	0,0205 \pm 0,0026
TRN	0,0216 \pm 0,0032	0,0190 \pm 0,0018	0,0195 \pm 0,0042	0,0195 \pm 0,0027
Mel	0,0719 \pm 0,0048	0,0887 \pm 0,0034*	0,0574 \pm 0,0038* †	0,0749 \pm 0,0096

Таблица 7 – Содержание триптофана и его метаболитов в мозжечке крыс после введения EA (100 мг/кг) или VPA (400 мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г ткани), среднее \pm средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ + VPA	ХАИ + EA
Трп	16,2 \pm 0,9	15,4 \pm 1,0	21,1 \pm 1,8* †	8,58 \pm 1,3339* †
5-НТ	0,133 \pm 0,0099	0,187 \pm 0,0295	0,225 \pm 0,024*	0,236 \pm 0,028*
5-НТ	0,175 \pm 0,0352	0,123 \pm 0,0138	0,157 \pm 0,0421	0,0746 \pm 0,0094* †
5-Н1АА	0,321 \pm 0,0535	0,315 \pm 0,0525	0,448 \pm 0,0801	0,262 \pm 0,026

Заклучение

Хроническая алкогольная интоксикация не изменяет уровней Трп в плазме крови и печени и не оказывает выраженного влияния на метаболизм Трп в мозжечке. В эпифизе, гипоталамусе, стриатуме, лобной доле коры ХАИ в темновую фазу вызывает адаптивное перераспределение потока Трп между катаболическими цепочками. В среднем мозге в этот механизм вносит вклад мелатонин.

Введение вальпроевой кислоты (400 мг/кг) на фоне хронической алкогольной интоксикации в темновую фазу не изменяет уровня триптофана в печени и снижает его содержание в плазме крови, увеличивая тем самым доступность аминокислоты в мозге.

Вальпроат в структурах головного мозга вызывает переключение потоков метаболитов триптофана в пользу гидроксилирующего пути. Переключение потока триптофана с минорных цепочек на гидроксилазный путь отмечалось в эпифизе, в стриатуме, в то время как в мозжечке увеличивалась значимость гидроксилирования триптофана. В среднем мозге увеличивался оборот серотонина, в отличие от гипоталамуса, где снижалось его окисление. В лобной доле, стриатуме, гипоталамусе на фоне повышения синтеза серотонина увеличивается его N-ацетилирование, в отличие от эпифиза, среднего мозга, где этот процесс угнетается. В эпифизе вальпроевая кислота угнетает синтез мелатонина. В лобной доле коры снижался катаболизм мелатонина, в то время как в среднем мозге низкое его содержание было связано со снижением доступности этого индоламина. Вальпроевая кислота снижает декарбокислирование триптофана в эпифизе и в стриатуме. Большинство описанных эффектов реализуется через увеличение доступности триптофана в мозге вследствие изменения свойств мембран вальпроевой кислотой, либо опосредуется через изменение содержания мелатонина.

Этанолламин снижает содержание триптофана в плазме и печени за счет увеличения его катаболизма по диоксигеназному пути в печени. В головном

мозге ЭА оказывает разносторонние эффекты на метаболизм триптофана. В стриатуме ЭА адаптивно увеличивает скорость катаболизма триптофана по гидроксилирующему пути, в то время как в эпифизе вызывает перераспределение потока серотонина между его катаболическими цепочками. В лобной доле коры увеличивается N-ацетилирование серотонина и угнетается его окислительное дезаминирование. В гипоталамусе адаптивно распределяется поток триптофана между катаболическими ветвями, причем увеличивается функциональная активность гидроксилазного пути за счет снижения окисления серотонина и активации ацетилирования. В среднем мозге снижается катаболизм серотонина по окислительной и ацетилирующей ветвям. В мозжечке угнетается синтез серотонина. Этанолламин снижает содержание мелатонина в лобной доле коры и адаптивно угнетает катаболизм триптамина в гипоталамусе. Эффекты этаноламина на ЦНС реализуются, очевидно, через снижение доступности триптофана вследствие увеличения его катаболизма в периферических тканях. Кроме того, адаптивное перераспределение потока триптофана осуществляется через стимуляцию и (или) угнетение отдельных метаболических звеньев его катаболических путей.

Литература

1. Антиоксидантная активность и угнетение перекисного окисления липидов биомембран в механизме действия противоялкогольных соединений. Алкогольная интоксикация и зависимость. Механизмы развития, диагностика, лечение / Г.Н. Смелянская [и др.] // Мн.: Беларусь. – 1988. – С.58–69.
2. Золотухин, М.М. Метод определения метаболитов гидроксилазного пути обмена триптофана в эпифизе крысы с помощью ионной хроматографии с детектированием по флуоресценции / М.М. Золотухин, Е.М.Дорошенко // Журнал ГрГМУ. – 2007. – № 2. – С.25–28.
3. Островский, Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский. – Мн.: Наука і техника, 1995. – С. 62–63, 164–210.
4. Badawy, A.A.-B. Tryptophan metabolism in alcoholism / A.A.-B. Badawy // Adv. Exp. Med. Biol. – 1999. – Vol. 467. – P. 265–274.
5. Loscher, W. Valproate and its major metabolite E-2-en-valproate induce different effects on behaviour and brain monoamine metabolism in rats / W. Loscher, D. Honack // Eur. J. Pharmacol. – 1996. – Vol. 299, N. 1–3. – P. 61–67.
6. Miguez, J.M. Effects of single doses and daily melatonin treatments on serotonin metabolism in rat brain regions / J.M. Miguez, F.J.Martin, M. Aldegunde // J.Pineal Res. – 1994. – Vol. 17, N. 4. – P. 170–176.
7. Naimova, T.G. Change in the biogenic amine content in rats in acute and chronic alcohol poisoning / T.G. Naimova // Farmakol. Toksikol. – 1978. – Vol. 41, N. 1. – P. 49–52.
8. Perlman, B.J. Membrane-disordering potency and anticonvulsant action of valproic acid and other short-chain fatty acids / B.J. Perlman, D.B. Goldstein // Mol. Pharmacol. – 1984. – Vol. 26, N. 1. – P.83–89.
9. The modification of the ethanol withdrawal syndrome in rats by di-n-propylacetate / E.P. Noble [et al.] // Psychopharmacologia. – 1976. – Vol. 46, N. 2. – P. 127–131.
10. Tryptophan administration inhibits nocturnal N-acetyltransferase activity and melatonin content in the rat pineal gland. Evidence that serotonin modulates melatonin production via a receptor-mediated mechanism / R.J. Reiter [et al.] // Neuroendocrinology. – 1990. – Vol. 52, N. 3. – P. 291–296.
11. Valproate reduces intake of alcoholic beverage among rats / L.R. Gardell [et al.] // Behav. Pharmacol. – 1998. – Vol. 9, N. 8. – P. 683–689.
12. Voisin, P. Arylamine N-acetyltransferase and arylalkylamine N-acetyltransferase in the mammalian pineal gland / P.Voisin, M.A. Nambodiri, D. Klein // J. Biol. Chem. – 1984. – Vol. 259, N. 17. – P. 10913–10918.

Поступила 02.09.08