

УДК (547.757. 547.29.262:577.31./ 611.81.) – 092.9

ГИДРОКСИЛАЗНЫЙ ПУТЬ ОБМЕНА L-ТРИПТОФАНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС: ОСТРЫЕ ЭФФЕКТЫ L-ТРИПТОФАНА, ЭТАНОЛАМИНА, ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТЫ И ДВУХ АМИНОКИСЛОТНЫХ КОМПОЗИЦИЙ В ТЕМНОВУЮ ФАЗУ ОБРАЩЕННОГО СВЕТОВОГО ЦИКЛА

М.М. Золотухин, Е.М. Дорошенко, В.Ю. Смирнов

ЦНИЛ УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Смесь аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), таурина и триптофана (600 мг/кг) повышает оборот серотонина в гипоталамусе, стриатуме и больших полушариях мозга крыс в условиях обращенного светового цикла в равной степени, как и L-триптофан (100 мг/кг), но в меньшей мере повышает содержание триптофана и его минорных метаболитов. Вальпроевая кислота (400 мг/кг) и этаноламин (100 мг/кг) ингибируют N-ацетилтрансферазный путь в гипоталамусе, эпифизе и среднем мозге.

Ключевые слова: метаболизм триптофана, L-аминокислоты, этаноламин, вальпроевая кислота, циркадианный ритм, мозг.

The mixture of branched-chain amino acids (BCAA), taurine and tryptophan (600 mg/kg) enhanced turnover of serotonin in hypothalamus, striatum and brain hemispheres of rats under reversed photocycle in the same extent as L-tryptophan (100 mg/kg), with less pronounced increase of the levels of tryptophan and its minor metabolites. Valproic acid (400 mg/kg) and EA (100 mg/kg) inhibited N-acetyltransferase pathway in hypothalamus, pineal gland and midbrain.

Keywords: tryptophan metabolism, amino acids, ethanolamine, valproic acid, circadian rhythm, brain.

Гидроксилазный путь обмена L-триптофана представляет собой одну из магистральных каталитических ветвей, в которой образуются соединения с широким спектром биологического действия (серотонин, мелатонин), уровни которых в структурах головного мозга крысы подвержены суточным колебаниям [6]. Кроме магистральных путей, метаболизм триптофана представлен N-ацетилированием и декарбоксилированием, продуктами которых являются N-ацетилтриптофан и триптамин [8]. Любые изменения в фотоцикле сопровождаются развитием десинхронозов, при которых изменяются активности ферментов метаболизма триптофана, транспорт предшественников синтеза индоламинов. Следствием этого является снижение активности серотонинергической и мелатонин-продуцирующей систем головного мозга [5].

В качестве агентов, способных повышать функциональную активность этих систем, могут выступать L-триптофан, этаноламин (EA), вальпроевая кислота (VPA) и некоторые аминокислотные композиции. EA способен опосредованно повышать уровень серотонина, реализуя таким образом свое антиоксидантное действие [1]. Вальпроат способен изменять оборот 5-НТ, модифицировать мембраны, увеличивая доступность предшественника [12, 13]. Применение композиций на основе аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), таурина и триптофана, возможно, позволит влиять на транспорт ароматических аминокислот в ЦНС, вызывая тем самым целенаправленные сдвиги в системах моноаминов [4, 11]. Таким об-

разом, целесообразно оценить эффекты вышеуказанных препаратов при обращенном световом цикле на уровни интермедиатов гидроксилазного пути обмена триптофана в головном мозге, включая N-ацетилсеротонин и мелатонин. Поскольку синтез последних активен в ночное время, введение препаратов и оценку эффектов следует проводить в ночную фазу.

Цель работы: оценить острые эффекты введения L-триптофана, этаноламина, вальпроевой кислоты и композиций АРУЦ, L-триптофана и таурина на уровни метаболитов гидроксилазного пути обмена триптофана в головном мозге крыс в темновую фазу обращенного фотоцикла.

Материалы и методы

В работе использовалось 30 белых крыс-самцов гетерогенной популяции массой 170-230 г, которые содержались один месяц при обращенном световом цикле (12/12 ч) [5] на стандартном рационе вивария. Начало темновой фазы приходилось на 9:00 ч, окончание на 21:00 ч. Животным вводились Тгр, EA, VPA и две композиции аминокислот: композиция А (L-лейцин, L-изолейцин, L-валин и таурин в массовых соотношениях 1:0,25:0,25:0,5) и композиция В (L-лейцин, L-изолейцин, L-валин, L-триптофан и таурин в массовых соотношениях 1:0,25:0,25:0,4:0,5 [2]. Внутривенно вводили крысам 2,4 % раствор композиции А (500 мг/кг), 3 % раствор композиции В (600 мг/кг), 0,5 % растворы L-триптофана (100 мг/кг) [8] и этаноламина (100 мг/кг) [9], VPA (400 мг/кг) [14, 15, 17] в начале темновой фазы. Контрольная группа получала эк-

виобъемные количества воды. Декапитацию проводили спустя 1,5 ч после внутрижелудочного введения препаратов. Извлеченные отделы мозга помещали в жидкий азот. Гомогенизацию биологического материала (гипоталамус, стриатум, средний мозг, большие полушария головного мозга) производили тefлоновым пестиком в 10-кратном объеме экстракционной среды, содержащей 0,2 М хлорную кислоту, 25 мг/л ЭДТА, 25 мг/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ и 1 мкМ ванилиновой кислоты (VA) в качестве внутреннего стандарта, а эпифизов в 100 мкл такой среды. Центрифугировали 15 мин при 13000 g. Супернатанты замораживали и хранили при -80°C .

В работе использовался препарат «Орфирил», содержащий 60 мг/мл вальпроевой кислоты (Pharmacia, Польша), L-лейцин, L-изолейцин, L-валин, L-триптофан, этаноламин гидрохлорид (Reanal, Венгрия) и таурин (Sigma, США). Для приготовления подвижных фаз использовали химически чистый ацетонитрил, метанол (Merck, Германия), KH_2PO_4 , ЭДТА (Reanal, Венгрия), гептилсульфонат натрия, октилсульфонат натрия (Элсико, Россия), уксусную и хлорную кислоты (НеваРеактив, Россия). В качестве эталонных соединений применяли серотонин креатинин-сульфат (5-НТ), N-ацетил-L-триптофан (NAT) (Reanal, Венгрия), L-триптофан (Trp), триптамин гидрохлорид (Trn), 5-метоксииндолуксусную кислоту (5-МИАА), мелатонин (Mel), 5-оксииндолуксусную кислоту (5-НИАА), N-ацетилсеротонин (NAS), 5-окситриптофан (5-НТР), ванилиновую кислоту (VA) (Sigma, США).

Воду для подвижных фаз подвергали тройной дистилляции в стеклянном аппарате с последующим удалением следов органических соединений пропусканием через патрон «Norganic» (Millipore, США) и фильтровали через мембранный фильтр GV 0,22 мкм.

Эталонные растворы Trp, 5-НТР, 5-НИАА, 5-МИАА, Trn, NAT, 5-НТ, NAS и Mel – 10 мМ хранили при -80°C , последовательными разбавлениями которых готовили рабочие растворы (10 мкМ для Trp и 1 мкМ для 5-НТ, 5-НИАА, 5-МИАА, Trn, NAT, NAS, VA, Mel, 5-НТР), которые хранили при -20°C .

Определения проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции. Использовался жидкостный хроматограф Agilent 1100. Колонка диаметром 3 x 250 мм Sераgon SGX C_{18} , 8 мкм (Элсико, Россия) термостатировалась при 30°C . Скорость потока элюента 0,5 мл/мин. Объем проб 20 мкл. Детектирование при длине волны возбуждения 280 нм и испускания 340 нм. Для определения Trp, 5-НТР, 5-НТ, 5-НИАА использовали подвижную фазу, содержащую 0,1 М дигидрофосфата калия, 17 мМ уксусной кислоты, 25 мг/л ЭДТА, 1 мМ гептилсульфоната натрия, 0,8 мМ октилсульфоната натрия и 11 % метанола (об.). Для определения NAS, NAT, Trn, 5-МИАА и Mel использовали метод [3]. Интегрирование и расчет содержания триптофана и его

метаболитов проводили с помощью программы ChemStation версии A.10.01. Статистическая обработка данных (U-тест Манна-Уитни) реализована программой STATISTICA 7.0.

Результаты и обсуждение

Введение VPA в эпифизе через 1,5 ч снижало содержание NAS; EA не изменял уровней Trp и его метаболитов. Композиция A снижала также уровень NAS. Введение L-триптофана повышало содержание Trp, 5-НТ и снижало уровень NAS в эпифизе. Аминозоль B увеличивал только уровень Trp, достоверно также по сравнению с аминоксолом A (таблица 1).

В гипоталамусе VPA снижала содержание NAS, в отличие от EA, который не влиял на уровни всех исследованных соединений. В этом отделе мозга смесь A снижала уровень NAS. Экзогенный триптофан повышал содержание Trp, 5-НТР, 5-НИАА и NAT, в то время как аминоксоль B, наряду с повышением концентраций Trp, 5-НТР, 5-НИАА понижал содержание Mel. После введения аминоксоля B уровни Trp, 5-НТР, 5-НИАА и NAT были достоверно выше, по сравнению с аминоксолом A, но содержание Trp и NAT – ниже, чем после введения Trp (таблица 2).

VPA не изменяла уровней исследуемых соединений в среднем мозге. Введение EA снижало концентрацию NAS, композиция A понижала содержание NAT, а Trp и смесь B его увеличивали. Содержание Trp, 5-НТР, 5-НИАА, NAT и Mel после введения смеси B было выше, чем после введения смеси A, уровень Mel был выше, а NAT – ниже, чем после введения Trp (таблица 3).

В больших полушариях головного мозга после введения VPA и композиции A не наблюдалось значимых различий в содержании Trp и его метаболитов, тогда как EA снижал уровень Trn. Экзогенный триптофан увеличивал содержание Trp, 5-НТР, 5-НИАА и NAT, а аминоксоль B – только Trp и 5-НИАА. При сравнении групп, получавших аминоксоль B и A, были достоверно выше концентрации Trp и NAT в первой группе (таблица 4).

Введение VPA увеличивало содержание 5-НТР в стриатуме, где EA не изменял уровней исследованных соединений. Аминозоль A снижал уровни Trp, 5-НИАА и повышал уровень Trn. Введение триптофана увеличивало содержание Trp, 5-НТР, 5-НИАА, NAS, Trn, NAT и Mel. После введения аминоксоля B увеличивались уровни этих же соединений, кроме 5-НТР. После введения смеси B были более высокими концентрации Trp, 5-НТР, 5-НИАА, Mel, Trn и NAT, чем после введения смеси A, но более низкими – уровни Trp и NAT, чем после введения Trp (таблица 5).

В эпифизе после введения VPA, несмотря на снижение содержания NAS, уровень Mel оставался неизменным. Возможно, эффект VPA на продукцию NAS не был связан с угнетением 5-НТ активности N-ацетилтрансферазы, в пользу чего свидетельствует неизменный уровень 5-НТ. Кроме того,

снижение N-ацетилирования 5-HT отмечалось в гипоталамусе, возможно, по схожему механизму. Стриатум характеризовался повышением уровня 5-HTP, что было связано с увеличением гидроксилирования Trp либо торможением декарбоксилирования 5-HTP. Однако это не сопровождалось усилением синаптического выброса 5-HT, о чем свидетельствует неизменный уровень 5-HIAA.

Этаноламин не оказывал влияния на синтез мелатонина в шишковидной железе. В среднем мозге снижалось N-ацетилирование 5-HT, на что указывает снижение концентрации NAS. Вероятно, это было связано с угнетением N-ацетилтрансферазной реакции. В больших полушариях мозга снижалось декарбоксилирование Trp, о чем свидетельствует снижение уровня Trn.

Композиция на основе АРУЦ и таурина в стриатуме снижала синтез и синаптический выброс 5-HT за счет снижения доступности Trp, на это указывает снижение уровней 5-HIAA и Trp. Снижение доступности предшественника (Trp) в этом отделе мозга, наиболее вероятно, было связано с конкурентными отношениями между АРУЦ и Trp за транспортную систему [4, 11]. Поскольку присутствие таурина в композиции облегчает транспорт первых в мозг [7] и, как следствие, снижается уровень Trp [11]. Повышение содержания Trn носило адаптивный характер вследствие угнетения декарбоксилирования Trp и направления его потока с минорной цепочки на гидроксилазную ветвь. Этот

Таблица 1 – Содержание триптофана и его метаболитов в эпифизе крыс через 1,5 ч после введения VPA, EA, Trp, смесей А и В в темновую фазу (пмоль/эпифиз, среднее ± средняя ошибка среднего)

	Контроль	VPA 400 мг/кг	EA 100 мг/кг	Смесь А 500 мг/кг	Trp 100 мг/кг	Смесь В 600 мг/кг
NAS	16,0 ± 4,98	4,17 ± 0,65*	не опр.	5,59 ± 0,67*	4,65 ± 1,51*	7,56 ± 0,96
NAT	не опр.	2,20 ± 0,14	2,74 ± 0,88	3,38 ± 1,77	6,23 ± 3,32	6,02 ± 0,83
Trn	2,28 ± 0,48	1,80 ± 0,46	1,77 ± 0,36	1,72 ± 0,71	1,65 ± 0,23	1,83 ± 0,39
5- MIAA	124 ± 88	25,3 ± 5,7	51,5 ± 26,5	22,5 ± 7,8	41,3 ± 30,6	99,1 ± 42,5
Mel	6,87 ± 1,27	3,96 ± 1,31	6,58 ± 0,56	3,51 ± 2,93	4,6 ± 2,3	9,2 ± 2,7
5-HTP	2,8 ± 0,8	1,8 ± 0,3	5,5 ± 1,2	1,3 ± 0,4	5,2 ± 0,9	6,2 ± 2,0
5-HIAA	3,5 ± 1,3	3,7 ± 1,4	2,9 ± 0,4	2,5 ± 0,6	5,6 ± 1,5	5,6 ± 1,4
Trp	10,0 ± 2,4	11,3 ± 1,9	12,8 ± 1,0	8,2 ± 2,4	36,0 ± 5,0*	27,8 ± 3,0**
5-HT	77 ± 27	130 ± 39	95 ± 53,8	46,5 ± 8,9	839 ± 269*	616 ± 217

Примечание к табл. 1-5: * — P < 0,05 по отношению к контролю; + — P < 0,05 при сравнении смеси В со смесью А; † — P < 0,05 при сравнении смеси В с триптофаном; не опр. — не определялся

Таблица 2 – Содержание триптофана и его метаболитов в гипоталамусе крыс через 1,5 ч после введения VPA, EA, Trp, смесей А и В в темновую фазу (пмоль/г ткани, среднее ± средняя ошибка среднего)

	Контроль	VPA 400 мг/кг	EA 100 мг/кг	Смесь А 500 мг/кг	Trp 100 мг/кг	Смесь В 600 мг/кг
NAS	12,57 ± 4,02	6,50 ± 0,306*	11,43 ± 4,48	9,73 ± 0,867*	10,86 ± 4,98	8,16 ± 0,37
NAT	3,31 ± 1,071	2,18 ± 0,552	2,82 ± 0,826	1,65 ± 0,270	18,15 ± 2,84*	8,72 ± 2,52††
Trn	0,428 ± 0,074	0,462 ± 0,088	0,596 ± 0,092	0,662 ± 0,283	0,591 ± 0,099	1,210 ± 0,374
Mel	1,29 ± 0,250	1,45 ± 0,449	0,796 ± 0,136	0,911 ± 0,349	0,638 ± 0,104	0,606 ± 0,039*
5-HTP	80 ± 19,5	90 ± 13,2	120 ± 5	70 ± 9,8	190 ± 24,3*	160 ± 20,3**
5-HIAA	250 ± 56,2	250 ± 28,5	270 ± 16	120 ± 10,0	830 ± 95,7*	570 ± 95**
Trp	7730 ± 1735	7580 ± 750,2	7350 ± 485	3900 ± 444	34650 ± 2344*	24620 ± 2618**
5-HT	330 ± 66,0	320 ± 50,4	330 ± 52	230 ± 50,4	680 ± 370,8	340 ± 125,4

Таблица 3 – Содержание триптофана и его метаболитов в среднем мозге крыс через 1,5 ч после введения VPA, EA, Trp, смесей А и В в темновую фазу (пмоль/г ткани, среднее ± средняя ошибка среднего)

	Контроль	VPA 400 мг/кг	EA 100 мг/кг	Смесь А 500 мг/кг	Trp 100 мг/кг	Смесь В 600 мг/кг
NAS	11,38 ± 1,68	9,05 ± 3,78	4,36 ± 1,530*	11,36 ± 3,74	7,20 ± 2,93	6,65 ± 2,93
NAT	4,74 ± 0,20	4,13 ± 0,80	6,27 ± 2,89	2,44 ± 0,38*	23,40 ± 4,24*	8,62 ± 1,70††
Trn	2,34 ± 1,44	1,00 ± 0,37	3,73 ± 1,90	0,802 ± 0,301	0,769 ± 0,198	2,14 ± 0,749
Mel	4,91 ± 2,74	1,07 ± 0,22	4,16 ± 1,62	0,829 ± 0,105	0,611 ± 0,057	4,57 ± 2,21††
5-HTP	140 ± 54	110 ± 31	150 ± 26	70 ± 17,5	290 ± 102,1	210 ± 28†
5-HIAA	1070 ± 615	570 ± 191	980 ± 308	370 ± 105,5	1580 ± 570,4	1540 ± 332†
Trp	10710 ± 2687	7460 ± 555	13940 ± 3259	6050 ± 1784	30790 ± 3579	30250 ± 6217†
5-HT	640 ± 330	420 ± 154	860 ± 224	990 ± 438	610 ± 203,9	1790 ± 1136

Таблица 4 – Содержание триптофана и его метаболитов в больших полушариях мозга крыс через 1,5 ч после введения VPA, EA, Trp, смесей А и В в темновую фазу (пмоль/г ткани, среднее ± средняя ошибка среднего)

	Контроль	VPA 400 мг/кг	EA 100 мг/кг	Смесь А 500 мг/кг	Trp 100 мг/кг	Смесь В 600 мг/кг
NAS	4,01 ± 1,3	9,96 ± 4,9	15,9 ± 6,9	10,0 ± 3,6	12,6 ± 3,6	7,16 ± 3,0
NAT	2,99 ± 0,8	2,26 ± 0,6	2,84 ± 0,8	2,86 ± 1,1	12,5 ± 2,4*	6,52 ± 1,0†
Trn	1,34 ± 0,1	1,57 ± 0,6	0,718 ± 0,2*	0,997 ± 0,2	17,9 ± 16,9	0,764 ± 0,3
Mel	1,45 ± 0,6	2,32 ± 1,6	1,33 ± 0,7	13,4 ± 12,3	7,6 ± 6,8	1,67 ± 0,6
5-HTP	120 ± 11,5	123 ± 15	128 ± 17,8	102 ± 27	183 ± 16,5*	176 ± 41,3
5-HIAA	230 ± 39,8	261 ± 94,1	355 ± 154	323 ± 105	1070 ± 233*	1140 ± 639*
Trp	6220 ± 480	7080 ± 1490	13000 ± 6850	5710 ± 1460	41200 ± 8000*	39000 ± 19800**
5-HT	991 ± 520	206 ± 16	444 ± 211	923 ± 402	701 ± 166	264 ± 69,2

Таблица 5 – Содержание триптофана и его метаболитов в стриатуме крыс через 1,5 ч после введения VPA, EA, Trp, смесей А и В в темновую фазу (пмоль/г ткани, среднее ± средняя ошибка среднего)

	Контроль	VPA 400 мг/кг	EA 100 мг/кг	Смесь А 500 мг/кг	Trp 100 мг/кг	Смесь В 600 мг/кг
NAS	1,48 ± 0,23	2,48 ± 0,91	не опр.	не опр.	226,8 ± 104,2*	99,20 ± 9,41*
NAT	3,02 ± 0,47	3,16 ± 0,50	4,81 ± 0,79	1,98 ± 0,29	49,66 ± 15,76*	18,59 ± 3,62††
Trn	0,66 ± 0,06	1,68 ± 0,60	0,92 ± 0,18	2,67 ± 0,14*	34,54 ± 11,70*	16,33 ± 3,96**
Mel	0,805 ± 0,175	0,539 ± 0,167	0,83 ± 0,29	1,08 ± 0,29	22,94 ± 8,39*	9,01 ± 1,80††
5-HTP	120 ± 7,2	150 ± 6†	140 ± 10	90 ± 14	160 ± 16†	140 ± 13†
5-HIAA	270 ± 32,2	320 ± 55	350 ± 37	130 ± 34*	600 ± 57*	530 ± 102**
Trp	7600 ± 629	7380 ± 722	7210 ± 248	3560 ± 405*	35360 ± 3405*	21760 ± 2094††
5-HT	190 ± 46,2	160 ± 64	550 ± 273	150 ± 46	190 ± 55	250 ± 59

аминозоль угнетал N-ацетилирование 5-НТ в эпифизе, хотя содержание Mel не изменялось; такое же снижение N-ацетилирования 5-НТ наблюдалось в гипоталамусе, возможно, эти изменения носили адаптивный характер, переключая катаболизм 5-НТ на основной путь деградации (окислительное дезаминирование). В среднем мозге снижалось N-ацетилирование Trp, которое также носило адаптивный характер, таким образом, перераспределяя поток Trp на гидроксиллазную ветвь, на что указывают неизменные уровни ее метаболитов.

Введение Trp стимулировало синтез 5-НТ в эпифизе за счет повышения доступности Trp, о чем свидетельствует повышение уровней Trp и 5-НТ, это сопровождалось угнетением активности арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы по аутокринному механизму [16], на что указывает снижение уровня NAS, однако при этом содержание Mel не изменялось. В гипоталамусе отмечалось ускорение N-ацетилирования Trp и оборота 5-НТ за счет повышения доступности Trp, связанное с созданием его концентрационного градиента между кровью и нервной тканью. На это указывает повышение уровней NAT, Trp, 5-НТР и 5-НИАА. Введение Trp в среднем мозге характеризовалось повышением уровня его минорного метаболита (NAT) вследствие усиления N-ацетилирования. Содержание метаболитов гидроксиллазного пути оставалось неизменным. Это означает, что Trp в этой структуре мозга оказывает влияние только на метаболизм минорной ветви. В больших полушариях мозга повышалось гидроксирование Trp, связанное с насыщением субстратом триптофангидроксилазы, о чем свидетельствует увеличение уровней 5-НТР и Trp. Такая стимуляция серотонинергической системы сопровождалась усиленным выбросом медиатора, на что указывает повышение уровня 5-НИАА. Кроме того, повышение доступности Trp в больших полушариях головного мозга сопровождалось усилением его N-ацетилирования, о чем говорит повышенный уровень NAT. Повышение доступности Trp в стриатуме характеризовалось увеличением синтеза 5-НТ и его катаболизмом по N-ацетилирующему и окислительному путям. На увеличение синтеза и синаптического выброса 5-НТ указывают повышенные уровни 5-НТР и 5-НИАА. Кроме того, увеличивался поток серотонина по N-ацетилирующему пути, вследствие повышения активности N-ацетилтрансферазы, о чем свидетельствовало повышение содержания NAS. Повышение уровня Trp в стриатуме характеризовалось усилением его декарбоксилирования и N-ацетилирования, что видно по увеличению уровней Trp и NAT. В этой области мозга увеличение содержания Mel, наиболее вероятно, было связано со снижением его катаболизма, а не с увеличением доступности, поскольку усиления его синтеза в эпифизе не наблюдалось. Не исключается возможность повышения синтеза Mel в желудочно-кишечном тракте за счет повышения доступности Trp [10,

18], но тогда уровни этого индоламина должны были быть увеличены в большинстве отделах мозга, чего не отмечалось.

Аминозоль В в темновую фазу повышал доступность Trp в эпифизе, хотя при этом не отмечалось изменений в синтезе Mel и 5-НТ. Такое увеличение уровня предшественника в железе могло быть связано с активацией его транспорта, несмотря на повышенные уровни конкурентных аминокислот в крови, поступающих в составе этой композиции [4]. В гипоталамусе данная смесь увеличивала синтез и синаптический выброс 5-НТ. Причиной таких изменений было повышение доступности Trp в нервной ткани за счет триптофана, входящего в состав композиции. Свидетельствами активации гидроксиллазного пути Trp было увеличение уровней этой аминокислоты, 5-НТР и 5-НИАА. Снижение уровня Mel в гипоталамусе было связано с усилением его катаболизма, поскольку не изменялся синтез этого индоламина в эпифизе. Средний мозг характеризовался повышением N-ацетилирования Trp, что, возможно, отражало изменения в доступности Trp, не приводя при этом к количественным изменениям уровней метаболитов гидроксиллазного пути. В больших полушариях головного мозга отмечалось усиление синаптического выброса 5-НТ при неизменной скорости его синтеза, несмотря на повышенный уровень Trp, о чем свидетельствует увеличение уровня 5-НИАА и неизменный уровень 5-НТР. Наблюдалось увеличение оборота 5-НТ в стриатуме вследствие увеличения уровня предшественника; на это указывало увеличение концентрации Trp и 5-НИАА. Одновременно с этим усиливался катаболизм 5-НТ по N-ацетилирующему пути, поскольку повышалось содержание NAS. Это, возможно, было связано с увеличением активности N-ацетилтрансферазы, так как параллельно с этим усиливалось N-ацетилирование Trp, сопровождаемое увеличением уровня NAT. В стриатуме аминозоль В усиливал декарбоксилирование Trp, что было связано с увеличением уровня субстрата этой реакции [19]. Повышение содержания Mel было связано со снижением катаболизма этого индола в этом отделе мозга.

При сравнении эффектов смесей В и А видно, что в первом случае имеет место более высокое содержание: Trp в эпифизе; Trp, 5-НТР, 5-НИАА, NAT в гипоталамусе; Trp, 5-НТР, 5-НИАА, NAT, Mel в среднем мозге; Trp, NAT в больших полушариях головного мозга; Trp, 5-НТР, 5-НИАА, NAT, Trp, Mel в стриатуме. Все это указывает на то, что эффекты аминозоля В в отношении метаболизма триптофана во всех этих структурах мозга реализуются через доступность Trp в нервной ткани и приписываются только этой аминокислоте, входящей в состав композиции.

Если сравнивать влияние Trp и композиции В на уровни триптофана и его метаболитов в головном мозге, отчетливо видно, что содержание Trp, NAT в гипоталамусе; Trp, NAT в стриатуме; NAT в

среднем мозге было ниже, если Тгр вводился в составе композиции. В то же время, содержание Mel было в этом случае выше. Кроме того, не было выявлено достоверных различий в уровнях метаболитов гидроксилазного пути обмена триптофана. Все это указывает на то, что аминоксоль В, вызывая менее выраженное повышение уровня Тгр, чем L-триптофан, практически в той же степени стимулировал гидроксилазный путь его превращения, и даже более выраженно повышал содержание Mel. Эти различия между группами были обусловлены присутствием АРУЦ и таурина в составе композиции, которые выступали в качестве конкурентов при транспорте Тгр в головной мозг.

Все вышеуказанное позволяет заключить, что композиция, содержащая АРУЦ, таурин и Тгр, в равной степени, как и сам L-триптофан, оказывает стимулирующее влияние на серотонинергическую систему и в меньшей мере повышает содержание минорных метаболитов и самого Тгр.

Заключение

Внутрижелудочное введение вальпроевой кислоты в темновую фазу через 1,5 ч снижало N-ацетилирование серотонина в эпифизе, гипоталамусе и увеличивало гидроксילирование триптофана в стриатуме.

Этаноламин в данных экспериментальных условиях угнетал катаболизм 5-НТ по N-ацетилирующему пути в среднем мозге и декарбоксилацию триптофана в больших полушариях головного мозга. Эти эффекты вальпроата и этаноламина на гидроксилазный путь обмена триптофана реализуются через активацию или угнетение отдельных звеньев этой метаболической цепочки.

Аминоксоль на основе АРУЦ и таурина снижал синтез серотонина и его синаптический выброс в стриатуме, адаптивно перенаправлял поток серотонина в эпифизе, гипоталамусе и триптофана в среднем мозге по основным катаболическим путям. Эти эффекты реализовывались через снижение доступности триптофана в мозге вследствие конкурентных отношений с большими нейтральными аминокислотами.

L-триптофан стимулировал серотониновую систему и катаболизм триптофана по минорным цепочкам в стриатуме, гипоталамусе и больших полушариях головного мозга, тогда как в эпифизе усиление синтеза серотонина сопровождалось угнетением его N-ацетилирования. В среднем мозге триптофан усиливал свой катаболизм только по N-ацетилирующей цепочке.

Сочетанное введение L-триптофана с АРУЦ и таурином, подобно триптофану, стимулировало серотонинергическую систему в гипоталамусе, больших полушариях мозга, в то время как в стриатуме такая активация сопровождалась некоторым усилением катаболизма триптофана по минорным путям. В эпифизе этот аминоксоль повышал только уровень триптофана. В среднем мозге увеличива-

лась деградация триптофана по N-ацетилирующему пути, которое параллельно сопровождалось разнонаправленным влиянием на метаболизм мелатонина в гипоталамусе и стриатуме. Данная композиция в равной степени, как и L-триптофан, оказывала стимулирующее влияние на серотонинергическую систему головного мозга и в меньшей мере повышала содержание триптофана и его минорных метаболитов. Все эти эффекты были обусловлены присутствием триптофана в составе данной композиции.

Литература

1. Антиоксидантная активность и угнетение перекисного окисления липидов биомембран в механизме действия противополиальных соединений. Алкогольная интоксикация и зависимость. Механизмы развития, диагностика, лечение / Г.Н. Смелянская [и др.] // Мн.: Беларусь. – 1988. – С.58–69.
2. Влияние аминокислотных композиций на основе АРУЦ, таурина и триптофана на фонд свободных аминокислот в плазме крови и печени крыс при отмене этанола / В.Ю. Смирнов [и др.] // Альманах аминокислоты: аминокислоты: от эксперимента к клинике: сб. трудов Респ. конференции, Минск, 29 июня 2007г. / Бел МАПО.– Минск, 2007. – С. 45–49.
3. Золотухин, М.М. Метод определения метаболитов гидроксидного 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.
4. Золотухин, М.М. Эффекты введения смесей, содержащих аминокислоты с разветвленной углеводородной цепью, L – триптофан и таурин, при введении в темновую фазу, на уровни метаболитов гидроксидного пути обмена триптофана в плазме крови и головном мозге крыс / М.М. Золотухин, Е.М.Дорошенко, В.Ю. Смирнов // Журнал ГрГМУ (в печати).
5. Комаров,Ф.И. Хронобиология и хрономедицина / Ф.И. Комаров, С.И. Рапопорт.– М.: Триада – X. – 2000. – 488 с.
6. Науменко, Е.В. Серотонин и мелатонин в регуляции эндокринной системы / Е.В.Науменко, Н.К.Попова. – Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1975.– 218 с.
7. Нефедов, Л.И. Биологическая роль таурина / Л.И. Нефедов // Вестн АН Беларусі. – 1992. – № 3-4. – С. 99- 106.
8. Попова, Н.К. Серотонин и поведение / Н.К. Попова, Е.В.Науменко, В.Г. Колпаков. – Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1978. – 304 с.
9. Островский, Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский.– Мн.: Изд-во «Навука і тэхніка», 1995. – С.164-210.
10. Effect of tryptophan administration on circulating melatonin levels in chicks and rats: evidence for stimulation of melatonin synthesis and release in the gastrointestinal tract / G.Huether [et al.] // Life Sci. – 1992. – Vol 51, № 12. – P945– 953.
11. Fernstrom, J.D. Branched-Chain Amino Acids and Brain Function / J.D. Fernstrom // J. Nutr. – 2005.– Vol.135.– Suppl.6.– P.1539S – 1546S.
12. 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, N1-3.– P. 61–67.
13. 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, № 1. – P. 83–89.
14. The acute effect of valproate on cerebral energy metabolism in mice / C.U. Johannessen [et al.] // Epilepsy. Res. – 2001. – Vol. 47,N 3. – P. 247-256.
15. The modification of the ethanol withdrawal syndrome in rats by di-n-propylacetate / E.P. Noble [et al.] // Psychopharmacologia. – 1976.– Vol.46,N2. – P.127- 131.
16. 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, № 3.– P. 291– 296.
17. Whitton, P.S. The effect of valproic acid on 5-hydroxytryptamine and 5-hydroxyindoleacetic acid concentration in hippocampal dialysates in vivo / P.S. Whitton, L.J. Fowler // Eur. J. Pharmacol. – 1991.– Vol. 200, N. 1. – P. 167–169.
18. Yaga, K. Tryptophan loading increases daytime serum melatonin levels in intact and pinealectomized rats / K. Yaga, R.J. Reiter, B.A. Richardson // Life Sci. – 1993.– Vol.52, № 14. –P.1231 – 1238.
19. Young, S.N. Tryptophan availability and the control of 5-hydroxytryptamine and tryptamine synthesis in human CNS / S.N. Young, S. Gauthier // Adv. Exp. Med. Biol. – 1981.– Vol. 133.– P. 221– 230.

Поступила 07.10.08