

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 577.112.3:547.831.9:577.175.823]:612.824.4]-092.9

БИОГЕННЫЕ МОНОАМИНЫ, ИХ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ И МЕТАБОЛИТЫ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ КРОВООБРАЩЕНИЯ

© 2020 г. Е. М. Дорошенко¹, *, В. В. Лелевич¹

¹Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Поступила в редакцию 01.11.2019 г.

После доработки 08.12.2019 г.

Принята к публикации 21.04.2020 г.

Цель работы – установить влияние экспериментальной хронической недостаточности кровообращения на уровни биогенных моноаминов, их предшественников и метаболитов в структурах головного мозга крыс. Через 13 нед. после экспериментального сужения брюшной аорты до 1 или 0.7 мм в структурах головного мозга крыс определяли уровни биогенных моноаминов, их предшественников, метаболитов, а также кинуренина и кинуреновой кислоты методом обращенно-фазной ВЭЖХ. Установлено, что недостаточность кровообращения сопровождается снижением синтеза медиатора в серотонинергической системе, а также ее функциональной активности, оцениваемой по уровню конечного метаболита – 5-оксииндолуксусной кислоты, причем в больших полушариях это может быть частично обусловлено дефицитом предшественника. Вероятна также активация синтеза кинуреновой кислоты в больших полушариях и стволе мозга крыс. Изменения показателей, характеризующих центральные катехоламинергические системы, менее выражено.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, мозг, триптофан, катехоламины, серотонин

DOI: 10.31857/S1027813320030036

ВВЕДЕНИЕ

Среди биохимических сдвигов, выявляемых 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 (гормонов, медиаторов), участвующих в регуляции ритма и проводимости, сократительной функции [1, 2]. Среди них важная роль принадлежит ароматическим аминокислотам, в основном триптофану и продуктам его превращений по обоим основным метаболическим путям – гидроксипиразолу, ведущему к образованию серотонина и мелатонина, и 2,3-диоксипиразолу, продуктом которого являются кинуренин и антраниловая кислота и их производные [3]. Показано влияние этих производных на реакции энергопродукции [4]. Серотонинергические механизмы регуляции функции сердца, опосредованные через 5-HT₂-рецепторы, включают экспрессию последних [5]. Показан вклад деградации биогенных аминов в продукцию прооксидантов в сердце [6]. С другой стороны, высокая распространенность депрессивных расстройств при ИБС ухуд-

шает прогноз и требует специальных подходов к терапии [7]. Имеются разработки, касающиеся метаболической коррекции ишемических поражений при ИБС и хронической сердечной недостаточности (ХСН), включающих воздействия на серотонинергические механизмы регуляции [8], а также метаболизм кинуренинов [9], в том числе при сопутствующих депрессивных расстройствах.

Известно, что недостаточность триптофана снижает вариабельность сердечного ритма [10], влияет на течение депрессивных состояний. Последние повышают риск внезапной сердечной смерти или прогрессирования сердечной недостаточности [11], включая депрессии, связанные с нарушениями метаболизма триптофана по пирролазному (кинурениновому) пути [12].

Целью настоящего исследования было установить влияние хронической недостаточности кровообращения в эксперименте на показатели, характеризующие основные моноаминергические системы головного мозга крыс, включая уровни аминокислот-предшественников и метаболитов, а также основные показатели пирролазного пути расщепления триптофана – уровни кинуренина и кинуреновой кислоты.

* Адресат для корреспонденции: 230009 Беларусь, Гродно, ул. Горького, 80, e-mail: dgi03@mail.ru.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Хроническую недостаточность кровообращения у крыс воспроизводили путем искусственного сужения просвета брюшной аорты выше места отхождения почечных артерий путем наложения ограничивающей просвет аорты металлической спирали [13, 14]. В эксперименте использовано 40 белых крыс-самцов гетерогенной популяции, массой тела в начале эксперимента 140–200 г, находившихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде, которые адаптировались до операции в течение не менее 14 суток. Перед началом эксперимента крыс рандомизировали по массе тела. Операции выполняли под кетаминовой анестезией (100 мг/кг, внутримышечно). Выделяли участок брюшного отдела аорты выше отхождения почечных артерий. Далее рассекали париетальную брюшину, мобилизовали участок брюшной аорты длиной 5 мм, на который накладывали спираль из нихромовой проволоки толщиной 0.27 мм длиной 2.5–3 витка, ограничивающую просвет брюшной аорты до 1 или 0.7 мм.

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 переводились на обычное содержание и энтеральное питание.

Животным одной из групп выполняли все этапы операции, кроме наложения спирали (ложнооперированный контроль).

После выполнения операции животных содержали на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде в течение 13 нед.

Данная модель воспроизводит изометрическую гиперфункцию сердца, вызывающую выраженную гипертрофию сердечной мышцы. По гемодинамическим показателям [13, 14] недостаточность кровообращения соответствуют наблюдающейся при артериальной гипертензии, аортальном стенозе. Так как развитие компенсаторной гиперфункции сердца и гипертрофии, а также клинических признаков недостаточности претерпевает фазный характер, нами была выбрана наиболее стабильная фаза длительной компенсации, которая наблюдается у животных после 1–2 мес. За это время в результате роста крыс степень сужения просвета брюшной аорты прогрессирует, достигая 2.5–3-кратного, впоследствии оставаясь относительно стабильной [13].

Забой животных проводили путем декапитации. За 12 ч до этого животные были лишены пищи с сохранением свободного доступа к воде. Проведение эксперимента соответствовало правилам и нормам биоэтического обращения с подопытными животными и одобрено комитетом по биомедицинской этике учреждения образования “Гродненский государственный медицинский университет”.

После декапитации быстро на холоде извлекали головной мозг и выделяли отделы (большие полушария, стриатум, средний мозг, гипоталамус) [15], которые замораживали в жидком азоте.

Образцы ткани (навеску 20–80 мг) взвешивали, не допуская размораживания, заливали 10-кратным объемом 0.2 М раствора хлорной кислоты, содержащего 40 мг/л ЭДТА, 40 мг/л $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$, а также 1 мкМ ванилиновой кислоты (внутренний стандарт), и немедленно гомогенизировали при 400–600 об./мин в микропробирках Эппендорфа объемом 1.6 мл специально пригнанным тефлоновым пестиком. Далее образцы (хлорнокислые экстракты) центрифугировали 15 мин при 4°C и 16000 g. Супернатанты немедленно удаляли аспирацией и хранили до исследования при –18°C. Растворы стандартов, использованные для калибровки хроматографической системы, обрабатывали аналогичным способом.

Метод определения тирозина, триптофана, биогенных аминов, их предшественников и метаболитов основан на ион-парной ВЭЖХ хлорнокислых экстрактов ткани с детектированием по природной флуоресценции и представляет собой модификацию [16]. Условия разделения: колонку Zorbax Plus C18 (Agilent Technologies) 2.1 × 150 мм термостатировали при 27°C. Подвижная фаза: 0.1 М NaH_2PO_4 , 0.033 М CH_3COOH , pH 3.45; 110 мг/л октансульфоната натрия, 50 мг/л ЭДТА, 5.1% (об.) ацетонитрила. Скорость потока 0.2 мл/мин. Детектирование по флуоресценции при длинах волн: возбуждения 280 нм, излучения – 340 нм. Объем ввода проб (хлорнокислых экстрактов) 5–10 мкл. Идентификацию определяемых соединений и количественную обработку хроматограмм проводили по методу внутреннего стандарта. Смесь стандартов включала: 3,4-диоксифенилаланин (DOPA), тирозин (Tyr), норадrenalин (NE), 3-метокси-4-оксифенилэтиленгликоль (MHPG), адреналин (E), 5-окситриптофан (5-HTP), норметанефрин (NM), 3,4-диоксифенилуксусную кислоту (DOPAC), дофамин (DA), 5-оксииндолуксусную кислоту (5-HIAA), триптофан (Trp), гомованилиновую кислоту (HVA), 3-метокситирамин (3-MT) и серотонин (5-HT) в концентрациях 1 мкмоль/л.

Для определения ключевых метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана использовали обращенно-фазную ВЭЖХ с изократическим элюированием и комбинированным детектированием по поглощению и флуоресценции, используя собственную модификацию метода [17]. Кинуренин (KYN) детектировали по поглощению при 362 нм, кинуреновую кислоту (KYNA) – по флуоресценции при длинах волн 244/386 нм. Триптофан, пик которого был видимым на хроматограммах, использовали как внутренний стандарт, референтный уровень для которого брался из хроматограммы биогенных моноаминов (см. выше).

Использовали колонку Zorbax SB C₁₈, 3.5 мкм, 2.1 × 150 мм, которую термостатировали при 40°C. Подвижная фаза: 2.6 г ацетата натрия, 60 мкл CH₃COOH, 2.2 г безводного ацетата цинка на 1 л H₂O, 4% ацетонитрила (об.). Непосредственно перед вводом проб (8 мкл) хлорную кислоту, содержащуюся в пробах, нейтрализовали добавлением равного объема 1 М раствора ацетата натрия.

При хроматографических определениях использовался прибор ВЭЖХ Agilent 1200 в конфигурации с 4-канальной системой подачи растворителя G1311A с вакуумным дегазатором, термостатируемым автосамплером (ALS) G1329A, термостатом колонок G1316A, детектором флуоресценции G1321C и диодно-матричным детектором G1315D. В опытах использовались реактивы для приготовления подвижных фаз квалификации не ниже х. ч., стандарты определяемых соединений Aldrich, трижды дистиллированная вода. При пробоподготовке использовалась центрифуга Biofuge Primo R+ с охлаждаемым ротором.

Прием данных и обработка хроматограмм проводились с помощью программы Agilent ChemStation C.01.05 с ручной коррекцией базовой линии, в режиме расчета по внутреннему стандарту с использованием одноуровневой калибровки.

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. Сравнение значений в группах оценивали с помощью *t*-критерия Стьюдента для независимых выборок с учетом сравнения дисперсий. При распределении, существенно отличающемся от нормального или значимых различиях дисперсий значений в группах, для проверки достоверности парных сравнений использовали медианный тест Манна–Уитни. Группы животных с наложением спирали диаметром 1 мм и 0.7 мм считали независимыми, при сравнении опытных групп с интактным и ложнооперированным контролем использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) и критерий Тьюки для поправки на множественные сравнения.

Корреляционные связи между определенными переменными в пределах групп определяли путем построения корреляционных матриц Пирсона.

Для выявления значимости вклада отдельных показателей в комплексную характеристику пула свободных аминокислот и родственных соединений в группах, а также выявления наиболее информативных (меняющихся при экспериментальных воздействиях) показателей использовали дискриминантный анализ. При этом применя-

лась пошаговая процедура, *F*-критерий для включения переменных был 1.0, для исключения – 0.0, если не указаны другие значения. Для оценки достоверности различия пулов во всех сравниваемых группах (дискриминации групп) использовали величину лямбда Уилкса.

Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости *p* принимали равным 0.05. Использованные методы анализа данных реализованы с помощью пакета программ Statistica 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 13 нед. после операции ложнооперированные животные (ЛО контроль) не показали существенного роста массы сердца, как в абсолютных цифрах, так и по отношению к массе тела (табл. 1). У животных, которым сужали просвет брюшной аорты до величины 1 мм, относительная масса сердца (Мс/мт) не претерпевала существенных изменений. В этой группе у 3 животных имело место развитие аневризм брюшной аорты, что позволяет говорить о смешанном механизме развития сердечной недостаточности (изометрическая + изотоническая гиперфункция), для которой менее характерно развитие выраженной гипертрофии миокарда. Независимо от наличия аневризм, просвет аорты выше и ниже сужения отчетливо различался. Если накладываемая спираль имела диаметр 0.7 мм, то по истечении 13 недель после операции развивалась выраженная гипертрофия сердца (табл. 1, *p* < 0.0001), абсолютная и относительная массы сердца имели нормальное распределение. Ни у одного животного не развились аневризмы аорты, что говорит о более “чистом” воспроизведении изометрической перегрузки сердца, о чем также свидетельствует больший просвет аорты выше наложенной спирали. Таким образом, наложение на брюшную аорту выше места отхождения почечных артерий спирали, ограничивающей просвет аорты до 0.7 мм, позволяет получить выраженную гипертрофию миокарда.

В больших полушариях мозга крыс произошло снижение уровней тирозина и триптофана, а также 5-окситриптофана (табл. 1). Это сопровождалось снижением уровня серотонина, а в группе с наложением спирали 1 мм – также 5-оксииндолуксусной кислоты. Это может означать депрессию серотониновой системы, опосредованную доступностью предшественника, и, возможно, также снижением скорости гидроксирования триптофана, так как уровень 5-окситриптофана в обеих опытных группах снижался сильнее, чем триптофана (практически вдвое).

По данным дискриминантного анализа пула исследованных показателей, классификация реализаций была полностью корректной между

Таблица 1. Содержание биогенных моноаминов, их предшественников и метаболитов и метаболитов триптофана в больших полушариях головного мозга крыс через 13 нед. после искусственного сужения просвета брюшной аорты, нмоль/г ткани. Мс/мт — отношение массы сердца к массе тела (%)

Показатель	Интактный контроль, <i>n</i> = 8	ЛО контроль, <i>n</i> = 8	Сужение аорты до 1 мм, <i>n</i> = 7	Сужение аорты до 0.7 мм, <i>n</i> = 8
Мс/мт	3.26 ± 0.14	3.45 ± 0.089	3.52 ± 0.15	4.65 ± 0.16 ^{1, 2}
Тур	82.28 ± 4.43	64.58 ± 4.57	67.88 ± 3.64 ¹	64.06 ± 4.40 ¹
ДОРА	0.167 ± 0.058	0.192 ± 0.063	0.092 ± 0.021	0.107 ± 0.024
ДА	0.346 ± 0.080	0.273 ± 0.038	0.321 ± 0.044	0.404 ± 0.074
ДОРАС	1.44 ± 0.13	0.92 ± 0.14	1.06 ± 0.10 ¹	1.12 ± 0.12
НВА	1.28 ± 0.16	1.18 ± 0.06	0.72 ± 0.06 ^{1, 2}	0.97 ± 0.11
НЕ	6.92 ± 0.43	6.80 ± 0.43	9.87 ± 1.90	9.49 ± 2.80
NM	0.180 ± 0.069	0.088 ± 0.012	0.061 ± 0.005 ²	0.069 ± 0.008
МНРГ	9.561 ± 1.953	7.929 ± 1.288	0.83 ± 0.16 ^{1, 2}	1.58 ± 0.27 ^{1, 2}
5-НТР	0.289 ± 0.016	0.299 ± 0.037	0.095 ± 0.013 ^{1, 2}	0.155 ± 0.012 ^{1, 2}
Трр	48.48 ± 1.30	46.96 ± 3.01	36.37 ± 1.74 ^{1, 2}	43.77 ± 1.53 ¹
5-НТ	6.645 ± 0.3943	5.916 ± 0.523	3.749 ± 0.498 ^{1, 2}	5.149 ± 0.482 ¹
5-НИАА	3.421 ± 0.266	3.772 ± 0.264	2.021 ± 0.191 ^{1, 2}	3.053 ± 0.283
КУН	1.860 ± 0.353	1.782 ± 0.380	1.564 ± 0.263	2.398 ± 0.491
КУНА	0.045 ± 0.0044	0.075 ± 0.033	0.064 ± 0.0139	0.105 ± 0.0314

Примечание — здесь и в табл. 2–4:

Результаты представлены как среднее ± средняя ошибка среднего;

¹ статистически значимые отличия (*p* < 0.05) по отношению к интактному контролю;

² *p* < 0.05 по отношению к ложнооперированному контролю.

контрольными и опытными группами, хотя не была полностью корректной между интактным и ложнооперированным контролем, а также между двумя опытными группами, что указывает на наличие качественно иного состояния аминергических систем при наличии НК, но не факта оперативного вмешательства и анестезии. Величина лямбда Уилкса 0.02214 (*p* < 0.0001) свидетельствует о выраженных различиях в соотношениях компонентов пула исследованных соединений в группах.

Величина корня 1 (рис. 1а) характеризует различия опыта и контроля, т.е. эффекты НК. Показателями, в наибольшей степени коррелирующими с величиной корня 1, являются уровни кинуреновой кислоты и тирозина (отрицательная связь с величиной корня) и уровни триптофана, 5-окситриптофана и кинуренина (положительная связь). Так как опытные группы имели более низкие значения корня 1, это может свидетельствовать о наличии снижения синтеза медиатора в серотониновой системе при НК, а также об активном превращении кинуренина в кинуреновую кислоту непосредственно в этом отделе мозга, так как для последней гематонцефалический барьер непроницаем. Что касается корня 2, его величина была более низкой у ложнооперированного контроля по отношению к интактному, а у группы животных с более значительным сужением просвета

аорты — по отношению к группе с сужением до 1 мм. На величину этого корня наибольшее влияние оказывали также уровень кинуреновой кислоты (в сторону снижения) и кинуренина (в сторону увеличения), но вклад этого корня в разграничение групп был значительно меньшим. Корень 1 описывает 83.3%, корни 1 и 2 — 97.1% дисперсии выборки. Отдельными показателями, наиболее “информативными” при оценке межгрупповых различий, являлись уровни 5-окситриптофана, кинуреновой кислоты, кинуренина и тирозина.

Известно, что центральный синтез кинуреновой кислоты может лежать в основе когнитивных расстройств при шизофрении [18]. Так как кинуреновая кислота — единственный известный к настоящему времени эндогенный антагонист NMDA-рецепторов, она также может опосредовать глутаматергическую гипофункцию. Глутаматергическая нейротрансмиссия оказывает модулирующие влияния на дофаминергическую систему, с нарушениями функций которой связана шизофрения. Это, а также *n*-холиноблокирующая активность кинуреновой кислоты в малых дозах может объяснять психотические и когнитивные расстройства при повышении ее уровня в ЦНС [19].

В стволе мозга крыс характер и направленность изменений был сходным с таковым для больших по-

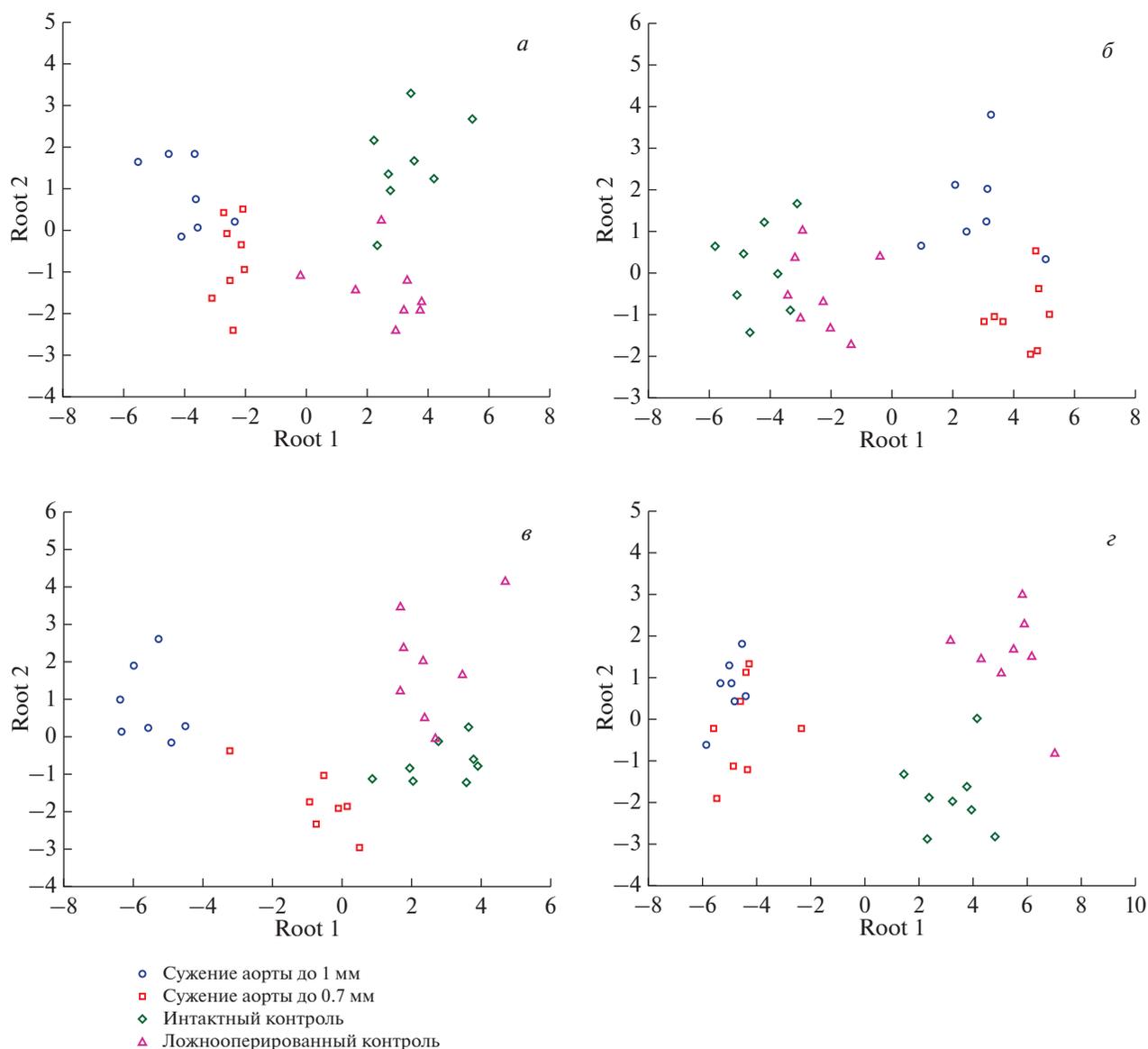


Рис. 1. Расположение отдельных реализаций экспериментальных групп на плоскости корней дискриминантных функций (Root 1 и Root 2). *a* – Большие полушария, *б* – ствол, *в* – гипоталамус, *г* – стриатум.

лушарий, однако значимое снижение уровня тирозина зарегистрировано только для группы животных, которым была наложена спираль с просветом 0.7 мм, а триптофана – 1 мм (табл. 2). Уровень 5-НТР снижался, однако, только в группе с сужением аорты до 0.7 мм. Хотя уровень серотонина не изменился, содержание 5-Н1АА снижалось в обеих опытных группах, что позволяет предположить снижение серотонинергических функций в стволе мозга, но доступность предшественника и скорость синтеза медиатора по уровню 5-НТР изменялись менее выражено.

Несмотря на отсутствие значимых изменений уровней катехоламинов, в данном отделе головного мозга снижались уровни их метаболитов –

НВА и МНPG. Для последнего соединения корректная интерпретация затруднена, так как оно подвергается активному сульфатированию, а примененная нами процедура пробоподготовки позволяет определять свободную фракцию МНPG, что оставляет открытым вопрос о скорости деградации NE. Нам не удалось зарегистрировать изменений уровня норметанефрина, поэтому мы не можем утверждать, что снижение уровня метаболита норадреналина связано со снижением активности соответствующей медиаторной системы. Однако, можно предполагать, что снижение активности дофаминовой трансмиссии имеет место, учитывая снижение уровня гомованилиновой кислоты.

Таблица 2. Содержание биогенных моноаминов, их предшественников и метаболитов и метаболитов триптофана в стволе мозга крыс через 13 нед. после искусственного сужения просвета брюшной аорты, нмоль/г ткани

Показатель	Интактный контроль, <i>n</i> = 8	ЛО контроль, <i>n</i> = 8	Сужение аорты до 1 мм, <i>n</i> = 7	Сужение аорты до 0.7 мм, <i>n</i> = 8
Тур	68.20 ± 3.89	61.78 ± 4.14	61.97 ± 2.21	51.65 ± 4.24 ¹
DOPA	0.051 ± 0.006	0.059 ± 0.009	0.082 ± 0.018	0.136 ± 0.017 ^{1, 2}
DA	0.513 ± 0.058	0.507 ± 0.053	0.448 ± 0.039	0.559 ± 0.115
DOPAC	1.027 ± 0.176	1.020 ± 0.127	0.834 ± 0.113	0.901 ± 0.080
HVA	1.165 ± 0.103	1.241 ± 0.132	0.83 ± 0.056 ^{1, 2}	0.846 ± 0.098 ^{1, 2}
NE	7.419 ± 0.923	7.382 ± 0.519	7.751 ± 0.977	6.289 ± 0.945
NM	0.063 ± 0.010	0.109 ± 0.021	0.072 ± 0.016	0.074 ± 0.006
MHPG	17.375 ± 1.520	9.132 ± 2.292 ¹	1.07 ± 0.157 ^{1, 2}	0.975 ± 0.150 ^{1, 2}
Трп	43.07 ± 1.40	45.32 ± 1.87	34.76 ± 1.38 ^{1, 2}	37.62 ± 3.18
5-НТР	0.484 ± 0.083	0.464 ± 0.078	0.275 ± 0.073	0.232 ± 0.057 ^{1, 2}
5-НТ	8.649 ± 0.486	8.846 ± 0.394	22.402 ± 10.785	7.957 ± 0.983
5-Н1АА	8.964 ± 0.394	8.865 ± 0.472	6.41 ± 0.477 ^{1, 2}	5.916 ± 0.794 ^{1, 2}
KYN	1.390 ± 0.158	1.856 ± 0.215	1.312 ± 0.129	1.284 ± 0.220
KYNA	0.030 ± 0.003	0.098 ± 0.036	0.040 ± 0.003	0.044 ± 0.008

Дискриминантный анализ пула исследованных соединений показал, что имеются выраженные различия в соотношениях внутри пула исследованных соединений в группах (величина лямбда Уилкса 0.02112, *p* < 0.0001). Величина корня 1 (рис. 1б) характеризует различия опыта и контроля, т.е. эффекты НК. Показателями, в наибольшей степени коррелирующими с величиной корня 1, являются уровни триптофана и MPEP (отрицательная связь) и DOPA (положительная связь). Так как опытные группы имели более низкие значения корня 1, это может свидетельствовать о наличии дефицита триптофана при НК. Величина корня 2, не различалась у контрольных групп, но у группы животных с сужением просвета аорты до 0.7 мм она была ниже, чем в группе с сужением до 1 мм. На величину этого корня наибольшее влияние оказывали уровень триптофана (в сторону снижения) и серотонина (в сторону увеличения). Следует также отметить наличие корреляции уровней двух последних соединений в опытных группах (*r* = 0.83 и 0.84; *p* < 0.05 при сужении аорты до 1 и 0.7 мм соответственно), но не у ложнооперированного контроля. Корень 1 описывает 90.7%, корни 1 и 2 – 97.2% дисперсии выборки. Отдельными показателями, наиболее “информативными” при оценке межгрупповых различий, являлись уровни MHPG, триптофана и DOPA.

В гипоталамусе крыс после сужения просвета аорты снижался уровень тирозина (в обеих опытных группах) и триптофана (только после сужения до 1 мм). В обеих опытных группах снижался уровень 5-НТР, только при сужении до просвета

аорты до 0.7 мм – уровень 5-Н1АА (табл. 3). При этом уровень серотонина в последней группе не отличался от контрольного. Как и в стволе мозга, при НК существенно снижался уровень MPEP, но при этом уровень норадреналина также был ниже контрольных значений, менее выражено снижался уровень дофамина и его метаболитов. Следовательно, в этой структуре мозга при недостаточности кровообращения имеется депрессия моноаминергических систем, опосредованная доступностью предшественников. Заметно, что более выраженные сдвиги наблюдались в группе животных с сужением просвета аорты до 1 мм, у которых чаще наблюдалось развитие аневризм аорты и, следовательно, механизм гиперфункции сердечной мышцы был более сложным.

Последнее наблюдение иллюстрирует расположение групп на плоскости двух корней дискриминантных функций (рис. 1в). Группа животных с сужением просвета аорты до 1 мм более существенно отличается от контроля по корню 1, причем с его величиной связаны концентрации MPEP и 5-НТР (положительная связь) и 5-Н1АА (отрицательная связь). Последнее может говорить о наличии более выраженной депрессии серотонинергических функций у группы с сужением просвета аорты до 0.7 мм, а торможении синтеза медиатора – у группы с сужением просвета аорты до 1 мм. Оба корня описывают 89% дисперсии выборки.

Кроме указанных соединений, вклад в дискриминацию групп в этой структуре мозга оказывали уровни NE, тирозина и HVA.

В стриатуме крыс более выраженные сдвиги при НК наблюдались у показателей, имеющих от-

Таблица 3. Содержание биогенных моноаминов, их предшественников и метаболитов и метаболитов триптофана в гипоталамусе крыс через 12 нед. после искусственного сужения просвета брюшной аорты, нмоль/г ткани

Показатель	Интактный контроль, $n = 8$	ЛО контроль, $n = 8$	Сужение аорты до 1 мм, $n = 7$	Сужение аорты до 0.7 мм, $n = 8$
Тур	85.76 ± 3.87	75.81 ± 3.58	56.38 ± 3.51 ^{1,2}	69.55 ± 2.81 ¹
DOPA	0.093 ± 0.013	0.081 ± 0.014	0.086 ± 0.011	0.110 ± 0.006
DA	1.944 ± 0.124	1.741 ± 0.190	0.923 ± 0.343 ¹	2.311 ± 0.304
DOPAC	0.933 ± 0.185	1.221 ± 0.167	0.782 ± 0.089 ²	0.917 ± 0.117
HVA	0.953 ± 0.129	1.388 ± 0.132 ¹	0.746 ± 0.040 ²	0.916 ± 0.063 ²
NE	45.36 ± 1.83	41.61 ± 1.75	11.37 ± 0.60 ^{1,2}	38.83 ± 4.54 ²
NM	0.227 ± 0.111	0.071 ± 0.011	0.097 ± 0.023	0.092 ± 0.014
E	0.494 ± 0.051	0.482 ± 0.084	0.161 ± 0.055 ^{1,2}	0.518 ± 0.070
MHPG	25.48 ± 2.28	22.13 ± 3.401	2.48 ± 0.55 ^{1,2}	3.84 ± 1.20 ¹
Трп	48.50 ± 1.34	50.93 ± 2.70	32.17 ± 2.66 ^{1,2}	46.43 ± 1.52
5-НТР	1.175 ± 0.064	1.209 ± 0.147	0.406 ± 0.099 ^{1,2}	0.355 ± 0.053 ^{1,2}
5-НТ	11.76 ± 0.38	10.24 ± 0.68	8.76 ± 0.71 ¹	10.01 ± 0.91
5-Н1АА	7.519 ± 0.240	6.817 ± 0.380	9.205 ± 1.336	5.140 ± 0.407 ^{1,2}
KYN	1.267 ± 0.152	1.601 ± 0.158	1.996 ± 0.360	1.968 ± 0.334
KYNA	0.036 ± 0.002	0.047 ± 0.005	0.049 ± 0.006	0.044 ± 0.004

Таблица 4. Содержание биогенных моноаминов, их предшественников и метаболитов и метаболитов триптофана в стриатуме крыс через 12 нед. после искусственного сужения просвета брюшной аорты, нмоль/г ткани

Показатель	Интактный контроль, $n = 8$	ЛО контроль, $n = 8$	Сужение аорты до 1 мм, $n = 7$	Сужение аорты до 0.7 мм, $n = 8$
Тур	84.21 ± 5.58	75.54 ± 4.20	75.69 ± 2.54	61.40 ± 3.03 ^{1,2}
DOPA	0.121 ± 0.033	0.080 ± 0.014	0.112 ± 0.025	0.167 ± 0.027 ²
DA	73.89 ± 4.65	66.38 ± 2.50	66.96 ± 3.72	61.99 ± 8.78
DOPAC	5.647 ± 0.546	4.737 ± 0.187	3.616 ± 0.165 ^{1,2}	4.018 ± 0.620
3-МТ	1.817 ± 0.194	1.731 ± 0.099	2.036 ± 0.156	1.887 ± 0.222
HVA	2.551 ± 0.225	2.781 ± 0.246	2.746 ± 0.320	2.287 ± 0.257
NE	2.512 ± 0.588	2.066 ± 0.209	2.313 ± 0.297	1.725 ± 0.391
MHPG	12.70 ± 1.21	7.74 ± 1.43 ¹	2.742 ± 0.876 ^{1,2}	3.570 ± 0.657 ^{1,2}
5-НТР	0.299 ± 0.015	0.358 ± 0.012 ¹	0.109 ± 0.014 ^{1,2}	0.132 ± 0.011 ^{1,2}
Трп	51.02 ± 1.54	52.41 ± 2.78	41.02 ± 2.21 ^{1,2}	43.01 ± 2.36 ^{1,2}
5-НТ	6.191 ± 0.312	6.297 ± 0.221	6.087 ± 0.582	5.058 ± 0.371 ^{1,2}
5-Н1АА	7.045 ± 0.291	7.409 ± 0.330	5.651 ± 0.371 ^{1,2}	5.082 ± 0.295 ^{1,2}
KYN	2.419 ± 0.209	2.006 ± 0.240	1.964 ± 0.192	2.139 ± 0.183
KYNA	0.046 ± 0.006	0.040 ± 0.004	0.032 ± 0.001	0.046 ± 0.005

ношение к серотониновой системе. Так, в обеих опытных группах снижался уровень триптофана, 5-НТР (почти в 3 раза), 5-Н1АА, только после сужения просвета аорты до 0.7 мм – 5-НТ (табл. 4). В последней группе снижался также уровень тирозина, однако урони катехоламинов и их метаболитов изменялись незначительно, кроме МHPG. Таким образом, в стриатуме имело место торможение синтеза и деградации медиатора в серото-

ниновой системе, связанное со снижением доступности предшественника.

В этом отделе мозга пул исследованных показателей в обеих опытных группах претерпевал наиболее сходные по характеру изменения (рис. 1з) по отношению к контрольным. Корень 1 дискриминантной функции, по которому различались опыт и контроль, в наибольшей степени был связан с уровнями 5-НТР и 5-Н1АА (положительная

связь) и NM (отрицательная связь). Корень 2 описывает только различия между интактным и ложнооперированным контролем. В целом, в стриатуме имела место наиболее высокая дискриминация групп (лямбда Уилкса 0.00792, $p < 0.0001$).

Таким образом, во всех исследованных отделах головного мозга эффекты НК в отношении пула биогенных моноаминов, их предшественников и метаболитов были однонаправленными. Торможение синтеза медиаторов может быть связано со снижением доступности медиаторов (влияние на их транспорт или периферические механизмы формирования пула свободных аминокислот). Хотя абсолютные значения концентраций кинуренина и кинуреновой кислоты не претерпевали значимых изменений, на основании данных дискриминантного анализа можно предположить, что образование KYNA в мозге при НК может возрастать, по крайней мере, в больших полушариях и стволе. В последнем между уровнями KYN и KYNA имеется положительная корреляция в опытной группе ($r = 0.84$, $p < 0.05$ после сужения просвета аорты до 0.7 мм), но не в контроле. Хотя в больших полушариях у ложнооперированных животных уровни KYN и KYNA коррелировали ($r = 0.84$), при НК коэффициент корреляции возрос ($r = 0.96$ после сужения просвета аорты до 1 мм). Это, наряду с данными дискриминантного анализа, говорит в пользу активации образования кинуреновой кислоты в мозге при НК.

ВЫВОДЫ

1. Недостаточность кровообращения (НК), вызываемая сужением просвета брюшной аорты, сопровождается однонаправленными сдвигами показателей моноаминергических систем в исследованных структурах головного мозга крыс.

2. Наиболее постоянным проявлением НК у крыс является снижение синтеза медиатора в серотонинергической системе, а также ее функциональной активности, оцениваемой по уровню конечного метаболита — 5-оксииндолуксусной кислоты. В стриатуме и больших полушариях это может быть частично обусловлено дефицитом триптофана.

3. Экспериментальная НК не сопровождается выраженными изменениями показателей, характеризующих центральные катехоламинергические системы, кроме торможения деградации норадреналина и, в меньшей степени, дофамина.

4. Результаты дискриминантного анализа пула исследованных показателей позволяют предположить активацию переаминирования кинуренина в больших полушариях и стволе мозга крыс на фоне НК.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена в рамках темы НИР “Оценка тканевых особенностей и диагностической информативности фонда свободных аминокислот и их производных при экспериментальной сердечно-сосудистой патологии различного генеза и обоснование подходов к метаболической коррекции” Государственной программы научных исследований Республики Беларусь “Фундаментальные и прикладные науки — медицине” (2016–2020 гг.)

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Этическое одобрение. Проведение эксперимента соответствовало правилам и нормам биоэтического обращения с подопытными животными (приказ Минздрава Республики Беларусь № 274 от 17.04.2006 г.) и одобрено комитетом по биомедицинской этике учреждения образования “Гродненский государственный медицинский университет”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cheng S. // Circulation. 2012. V. 125. № 18. P. 2222–2231.
2. Hoshi M. // J. Immunol. 2012. V. 188. № 8. P. 3980–3987.
3. Ristagno G. // J. Am. Heart Assoc. 2014. V. 3. № 4. P. e001094.
4. Baran H. // Life Sci. 2003. V. 72. № 10. P. 1103–1115.
5. Lairez O. // J. Neural Transm. 2013. V. 120. № 6. P. 927–935.
6. Kaludercic N. // J. Mol. Cell. Cardiol. 2014. V. 73. P. 34–42.
7. Harris, J., Heil J.S. // Am. J. Health Syst. Pharm. 2013. V. 70. № 10. P. 867–873.
8. Henze M. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 2013. V. 304. № 3. P. H444–454.
9. Zhang L. // Eur. Heart J. 2012. V. 33. № 16. P. 2025–2034.
10. Booij L. // Biol. Psychiatry. 2006. V. 60. № 5. P. 507–514.
11. Konishi M. // Circ. J. 2016. V. 81. № 1. P. 52–61.
12. Mangge H. // Curr. Med. Chem. 2014. V. 21. № 17. P. 1931–1937.
13. Непомнящих Л.М. // Морфометрия и стереология гипертрофии сердца. Новосибирск: Наука, 1986. 303 с.
14. Коган А.Х. // Бюлл. экспериментальной биологии и медицины. 1961. № 1. С. 112–115.
15. Glowinsky J., Iversen L.L. // J. Neurochem. 1966. V. 13. № 8. P. 655–669.
16. Дорошенко Е.М., Снежицкий В.А., Лелевич В.В. // Журн. Гродненского государственного медицинского университета. 2017. Т. 15. № 5. С. 552.
17. Hervé C. // J. Chromatogr. B Biomed. Appl. 1996. V. 675. № 1. P. 157–161.

18. *Muller N., Schwarz M.* // *Neurotox. Res.* 2006. V. 10. № 2. P. 131–148. 19. *Keplinger B.* // *Neurosignals.* 2005. V. 14. № 3. P. 126–135.

Biogenic Monoamines, Their Precursors, and Metabolites in the Brain of Rats under Experimental Circulatory Failure

E. M. Doroshenko^a and V. V. Lelevich^a

^aGrodno State Medical University, Grodno, Belarus

The aim of the study was to establish the effect of experimental chronic circulatory failure on the levels of biogenic monoamines, their precursors, and metabolites in rat brain structures. Thirteen weeks after experimental narrowing of the abdominal aorta to 1 or 0.7 mm, the levels of biogenic monoamines, their precursors, metabolites, as well as kynurenine and kynurenic acid were measured by reverse phase HPLC in rat brain structures. It was found that circulatory failure is accompanied by a decrease in the synthesis of a mediator in the serotonergic system and its functional activity, which was evaluated using the level of the final metabolite 5-hydroxyindoleacetic acid; in the cerebral hemispheres, this may be partially related to deficiency of the precursor. The activation of kynurenic acid synthesis in the cerebral hemispheres and the brain stem is also likely. Changes in the indices that characterize central catecholaminergic systems were less pronounced.

Keywords: heart failure, brain, tryptophan, catecholamines, serotonin