

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РАБОТЫ

УДК 577.112.3:612.82:577.27]-092.9

# ТРАНСФОРМАЦИЯ АМИНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА В СТВОЛЕ И ГИПОТАЛАМУСЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИММУНОДЕФИЦИТА

© 2022 г. Н. И. Филина<sup>1</sup>, \*, М. Н. Курбат<sup>1</sup>

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Поступила в редакцию 15.10.2021 г.

После доработки 19.11.2021 г.

Принята к публикации 30.11.2021 г.

Являясь одной из ведущих интегрирующих общерегуляторных систем организменного уровня, иммунная система находится в тесной взаимосвязи с нервной и эндокринной системами. Целью исследования явилось изучение состояния аминокислотного фонда в отделах головного мозга крыс при введении иммунодепрессанта микофенолата мофетил (ММФ). Исследуемые структуры (ствол и гипоталамус головного мозга крыс) характеризуются трансформацией пула аминокислот (АК) при иммунодефицитном состоянии, обусловленным введением ММФ. Выявлены особенности изменения отношений между определенными классификационными группами аминокислот: возбуждающие/тормозные; аминокислоты с разветвленной углеродной цепью/ароматические аминокислоты; заменимые/незаменимые; гликогенные/кетогенные в условиях данного эксперимента. Введение препарата ММФ вызывает значительный дисбаланс в концентрациях изученных аминокислот в отделах головного мозга крыс, выраженность которого варьирует в зависимости от длительности иммунодефицитного состояния: при 14-ти суточном введении влияние наименьшее, что может носить адаптационный характер. Наиболее значимые сдвиги в содержании аминокислот возникают у животных, подвергнутых более краткосрочному влиянию: на протяжении 7 сут и при последующей недельной отмене препарата.

*Ключевые слова:* аминокислоты, микофенолата мофетил, иммунодефицит, головной мозг

**DOI:** 10.31857/S1027813322020054

### ВВЕДЕНИЕ

Иммунная система представляет собой морфологически сложное многокомпонентное образование. Клетки и органы иммунной системы постоянно пребывают под влиянием различных эндогенных влияний, которые изменяют интенсивность иммунного ответа, активность и степень вовлечения клеток лимфоидного ряда. Это и предопределяет ее высокую чувствительность к воздействию различных стрессовых факторов [1].

Иммунодефициты – это стойкие структурные изменения в иммунной системе, выявленные с помощью лабораторных исследований, являющиеся морфологической базой иммунной недостаточности и иммунопатологии. Наиболее типичной приобретенной формой вторичного иммунодефицита является СПИД, развивающийся в результате поражения лимфоидной ткани вирусом иммунодефицита человека [2].

Являясь одной из ведущих интегрирующих общерегуляторных систем организменного уровня, иммунная система находится в тесной взаимосвязи с нервной и эндокринной системами [2].

Мозг – субстрат интеллекта, эмоций, сознания и памяти. Кроме этого установлена еще одна его важнейшая функция – участие в сложнейших процессах иммунитета. В ЦНС иммунные функции осуществляются с помощью трех морфологически и функционально отличающихся подсистем: первая подсистема представлена лимфоидными клетками спинно-мозговой жидкости (Т-, В-клетки и их субпопуляции), естественные киллерные клетки, моноциты и макрофаги; вторая – нелимфоидными клетками нервной ткани: клетки микроглии, астроциты, олигодендроциты и клетки эндотелия мозговых сосудов; к третьей подсистеме относятся гуморальные факторы, биологически активные вещества – медиаторы, пептиды, цитокины и другие [3].

Несмотря на многочисленные доказательства тесной взаимосвязи нервной и иммунной систем, пути и механизмы передачи информации от акти-

\* Адресат для корреспонденции: 230009, Республика Беларусь, Гродно, ул. Горького, д. 80; тел: +375(152)44-68-33; e-mail: nina-filina-2017@mail.ru.

вированной иммунной системы в мозг остаются наименее изученным аспектом их взаимодействия. В связи с этим представляется актуальным изучение состояния аминокислотного фонда головного мозга в условиях иммунодепрессии.

Цель исследования – изучение состояния аминокислотного фонда в отделах головного мозга крыс при введении иммунодепрессанта микофенолата мофетил (ММФ).

ММФ – иммуносупрессивный препарат, основным иммунологическим эффектом которого является способность ингибировать пролиферацию В- и Т-лимфоцитов, соответственно, продукцию антител и генерацию цитотоксических Т-клеток, оказывая тем самым влияние на клеточный и гуморальный иммунитет.

ММФ метаболизируется в его активную форму – микофенольную кислоту (МФК), которая через ряд последовательных стадий превращается в глюкуронид фенилмикофенольной кислоты и ацилглюкуронид микофенольной кислоты. МФК и ее ацилглюкуронид ингибируют инозин-5'-монофосфат-дегидрогеназу (ИМФДГ) – ключевой фермент в биосинтезе пуриновых нуклеотидов *de novo*, необходимых для синтеза лимфоцитарной ДНК [4, 5].

МФК оказывает более выраженное цитостатическое действие на лимфоциты, чем на другие клетки, поскольку пролиферация Т- и В-лимфоцитов очень сильно зависит от синтеза пуринов *de novo*, в то время как клетки других типов могут переходить на обходные пути метаболизма [6].

Согласно накопленным литературным данным, назначение ММФ в дозе 40 мг/кг индуцирует желудочно-кишечные расстройства, которые главным образом относятся к местным воспалительным реакциям, вследствие снижения иммунитета [7] в той же дозе препарат угнетает лейкоцитарную инфильтрацию трансплантата после пересадки сердца в модели крыс [8]. Установлено, что внутрижелудочное введение иммуносупрессанта ММФ на протяжении 7 и 14 суток может применяться для экспериментального моделирования иммунодефицитных состояний, не сопровождающихся развитием морфологических признаков лекарственного поражения печени, имеющего место при использовании других иммунодепрессантных препаратов [9].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на 32 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г гетерогенной популяции, находящихся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. В эксперименте подбирали однородных по возрасту и массе животных. Иммунодефицитное состояние моделировалось путем внутрижелудочного

введения препарата “Микофенолата мофетил” (“Тева”, Венгрия) в дозе 40 мг/кг массы тела один раз в сутки животным трех экспериментальных групп (по 8 особей в каждой): 1-я группа “ММФ-7” 7 сут получала препарат; 2-я группа “ММФ 7 + 7” – 7 сут препарат + 7 сут эквивалентное количество воды с наблюдением после отмены; 3-я группа “ММФ-14” – 14 сут. Животные контрольной группы внутрижелудочно получали эквивалентное количество 0.9% хлорида натрия. За 12 ч до забоя животных лишали пищи с сохранением воды в качестве источника питья. Забой животных второй группы проводили на 8-е сут, третьей и четвертой – на 15-е сут. После декапитации животных, извлекали головной мозг, промывали охлажденным 0.9% раствором натрия хлорида и выделяли исследуемые отделы (ствол, гипоталамус) в соответствии с анатомическими границами, которые замораживали в жидком азоте. Все опыты проведены с учетом “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных” [10]. На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (заседание комитета по биомедицинской этике от 30.01.2018 г. протокол № 1).

Содержание свободных аминокислот в пробах определяли после осаждения белков. Для этого образец гомогенизировали в 10 объемах 0.2 М раствора хлорной кислоты, содержащем 0.2 ммоль/л норвалина (nVal), 1 мкмоль/л ванилиновой кислоты, а также 50 мг/л ЭДТА, 50 мг/л метабисульфита натрия ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ). После тщательного перемешивания пробы центрифугировали при 4°C 15 мин при 15000 g, супернатанты отделяли и хранили при –18°C.

Определение серотонина, предшественников и метаболитов биогенных аминов осуществляли с использованием модифицированного метода, основанного на ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции. Подвижная фаза: 0.1 М  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , 0.035 М  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , pH 3.55; 100 мг/л октансульфоната натрия, 50 мг/л ЭДТА, 5% (об.) ацетонитрила, температура колонки 27°C, скорость потока 0.2 мл/мин, детектирование по флуоресценции (280/340 нм).

Определение свободных аминокислот и их производных проводили в тех же хлорнокислых экстрактах с помощью обращеннофазной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой и детектированием по флуоресценции [11]. Метод был доработан для улучшения разрешения предшественников таурина. Предколоночную дериватизацию проводили непосредственно перед вводом проб в хроматограф путем смешивания пробы (0.2 мкл) с 5-кратным объемом 0.4% о-фталевого альдегида и 0.3% 3-меркаптопропионовой кислоты в 0.4 М

Na-боратном буфере, pH 9.4, затем пробы нейтрализовали 0.2 М раствором  $\text{HClO}_4$  до слабкокислой среды и немедленно вводили в колонку. Подвижная фаза: 0.1 М Na-ацетатный буфер, pH 6.15, содержащий 20 мг/л ЭДТА (А); ацетонитрил/вода 7/3 (об./об.) (В), метанол/вода 7/3 (об./об.) (С), 0.1 М Na-ацетатный буфер, pH 5.55, содержащий 20 мг/л ЭДТА (D). Градиентное элюирование от 2 до 100% В с изменением соотношения В/С и А/D в ходе анализа, за 69 мин; скорость потока 0.2 мл/мин, температура колонки 35°C. Детектирование по флуоресценции (231/445 нм) [11].

Хроматограммы обрабатывали с помощью программы Agilent ChemStation B.04.02 по методу внутреннего стандарта. Для калибровки системы использовали смесь аминокислот Aldrich (США), содержащую по 500 нмоль/мл каждого соединения.

Статистическую обработку данных проводили с помощью непараметрических методов. При этом использовали пакет статистических программ STATISTICA 10.0 (SN AXAR207F394425FA-Q). Для всех исследованных показателей определяли базовые параметры описательной статистики. Нормальность выборок проверяли критериями Колмогорова–Смирнова с поправкой Лиллифорса и Шапиро–Уилка. Вследствие отклонения распределения показателей от нормального для сравнения количественного признака в трех и более независимых группах пользовались методом Крускала–Уоллиса. В случае выявления различий проводили попарное сравнение групп с помощью теста Манна–Уитни, применяя поправку Бонферрони [12]. Количественные данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (между 25 и 75 процентилями). Для характеристики фонда АК рассчитывали следующие показатели: содержание АРУЦ (сумма АК с разветвленной углеводородной цепью), ААК (ароматические аминокислоты), нейротрансмиттерных АК (группы возбуждающих и тормозных АК), гликогенных и кетогенных АК.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследуемые структуры головного мозга характеризуются трансформацией пула АК во вторичном иммунодефицитном состоянии, вызванном воздействием препарата. При данных экспериментальных условиях регистрируются колебания содержания свободных АК в зависимости от длительности воздействия.

Введение ММФ приводит к нарушению метаболизма изучаемых показателей в стволе головного мозга крыс (табл. 1).

Следует обратить внимание на достоверно значимое увеличение содержания метионина в опытных группах “ММФ-7”, “ММФ-14” и

“ММФ-7 + 7” на 25%, 13% и 31% соответственно в сравнении с контролем.

Возрастание уровня метионина при введении Микофенолата мофетил в некоторой степени отражает нарушение процессов метилирования, вследствие нарушения превращения метионина в его активную форму S-аденозилметионин [13]. Метионаденосилтрансфераза II (МАТ II) является ключевым ферментом клеточного метаболизма и катализирует образование S-аденозилметионина из метионина и АТФ. Нормальные походящиеся Т-лимфоциты имеют минимальную активность МАТ II, тогда как активированные пролифелирующие лимфоциты и трансформированные Т-клетки демонстрируют повышенную активность МАТ II. Этот механизм включает модификацию прокаспазы-8 и, как следствие, повышение активности каспазы-8. Fas-индуцированный путь через торможение МАТ II влияет на метаболизм в митохондриях, что неизбежно ведет к активации каспазы-3 и фрагментации ДНК в клетке. Показано, что бластные клетки утилизируют значительно более высокие уровни S-аденозилметионина, чем нормальные лимфоциты [14].

Уровни основных регуляторов белкового синтеза, каковыми являются АРУЦ – лейцин, изолейцин, валин – статистически значимо ниже в опытной группе “ММФ-7 + 7” в сравнении с контролем и опытными группами “ММФ-7” и “ММФ-14”.

Как известно, головной мозг является одним из мест катаболизма АРУЦ с образованием соответствующих  $\alpha$ -кетокислот и образующегося при их катаболизме ацил-КоА [15]. Повышение уровней АРУЦ может быть следствием патологии первого этапа – трансаминирования с  $\alpha$ -кетоглутаратом под действием аминотрансферазы, что может явиться причиной нарушения функции мозга при иммунодефицитном состоянии, либо изменениями систем транспорта АК в мозг.

Отмечено повышение уровня аспарагина, являющегося метаболитом возбуждающего медиатора аспартата. Содержание последнего в опытных группах “ММФ-7” и “ММФ-7 + 7” статистически значимо выше на 10% и 26% соответственно в сравнении с контролем ( $p < 0.05$ ).

Наблюдается тенденция роста содержания глутаминовой кислоты в опытных группах в сравнении с контролем. Концентрация ГАМК при этом изменяется незначительно, за исключением группы “ММФ-7 + 7”, в которой при достоверно значимом увеличении содержания глутамата и аспартата наблюдается статистически значимое снижение ГАМК. При этом соотношение ГАМК/Глу снижается с 0.24 (контроль) до 0.18 для второй опытной группы и ГАМК/Асп – с 1.29 (контроль) до 0.89 для той же группы. В данной группе увеличивается содержание возбуждающих АК (ВАК)

**Таблица 1.** Содержание свободных аминокислот в стволе головного мозга крыс (нмоль/г) в условиях экспериментального иммунодефицита

Аминокислота	Контроль (n = 8)	Группы животных, получавших ММФ		
		1-я группа 7 суток (n = 8)	3-я группа 14 суток (n = 8)	2-я группа 7 суток + 7 суток отмены (n = 8)
Триптофан	15.180 (14.408; 18.520)	16.614 (15.307; 18.007)	15.815 (12.625; 17.074)	17.569 (17.419; 18.919) <sup>■</sup>
Аспарагиновая кислота	736.968 (692.249; 786.093)	807.867 (763.714; 851.528)	734.360 (692.845; 821.263)	927.672 (880.593; 970.831)* <sup>◆■</sup>
Глутаминовая кислота	3921.275 (3729.809; 4140.006)	4100.398 (3903.965; 4282.322)	4196.481 (4104.415; 4230.131)*	4497.471 (4405.942; 4629.469)* <sup>◆■</sup>
Аспарагин	29.927 (28.459; 30.406)	31.480 (30.877; 34.892)*	31.953 (30.086; 33.377)	32.469 (31.559; 35.350)*
Гистидин	34.829 (32.547; 39.367)	40.343 (37.874; 43.171)	43.963 (40.953; 46.733)*	35.712 (34.121; 38.401) <sup>■</sup>
ГАМК	951.611 (890.356; 1018.758)	992.559 (929.660; 1056.650)	965.267 (902.353; 1004.904)	829.193 (813.123; 908.660)*
Валин	28.661 (26.954; 31.014)	27.895 (27.272; 31.592)	26.877 (25.526; 27.973)	26.250 (25.276; 27.012)* <sup>◆</sup>
Метионин	16.728 (15.973; 17.367)	19.207 (18.096; 21.238)*	18.769 (17.334; 19.628)*	20.264 (18.440; 21.080)*
Фенилаланин	27.682 (26.761; 28.894)	29.435 (27.820; 31.679)	29.197 (27.192; 29.740)	30.280 (29.529; 30.501)*
Изолейцин	15.007 (14.548; 16.026)	13.949 (13.111; 15.391)	13.726 (13.399; 14.541)*	13.122 (12.898; 13.480)* <sup>◆■</sup>
Лейцин	34.622 (33.727; 36.703)	33.311 (31.783; 34.884)	34.184 (33.215; 36.356)	27.784 (14.290; 29.401)* <sup>◆■</sup>

Примечание: здесь и в табл. 2: \* статистически значимые различия с контролем; <sup>◆</sup> с 1-й группой; <sup>■</sup> с 3-й группой; p < 0.05.

на 18% с одновременным снижением содержания тормозных АК (ТАК) на 14% в сравнении с контролем.

Аспартат и глутамат являются важными субстратами для клеток иммунной системы. Как предшественник в синтезе пуринов и пиримидинов, аспартат особенно важен для пролиферации лимфоцитов. Более того, он необходим для рециклинга, продуцируемого iNOS, цитрулина в аргинин в активированных макрофагах [16].

Глутамат регулирует экспрессию iNOS в некоторых тканях (например, мозге), таким образом, опосредованно модулируя состояние иммунопетентности животных. Одновременно кислота является субстратом для синтеза ГАМК, которая присутствует в лимфоцитах и макрофагах. Показана экспрессия ГАМК-рецепторов на Т-клетках, которые опосредуют ингибиторный эффект ГАМК на процессы пролиферации. Как промежуточный

субстрат в синтезе глутатиона, глутамат играет важную роль в антиоксидантной защите и регуляции иммунного ответа [17].

Отметим повышение уровня триптофана и фенилаланина (ААК) в опытных группах в сравнении с контролем. Наряду с этим содержание ААК в группе “ММФ-7 + 7” на 21% достоверно выше в сравнении с контролем (p < 0.05). Как известно, данные АК в головном мозге являются предшественниками медиаторов (фенилаланин – катехоламинов, триптофан – серотонина и мелатонина).

Стоит отметить изменения показателей функционирования серотонинергической нейромедиаторной системы в опытной группе животных, получавших препарат в течение 7-ми сут. Так наблюдалась тенденция к ускорению оборота серотонина, что подтверждается повышенной концентрацией триптофана (на 11%), самого нейромедиатора – серотонина (на 26%), 5-оксииндолуксусной кислоты

(на 50%,  $p < 0.05$ ) по сравнению с контролем. Концентрация предшественника серотонина – 5-окситриптофана – снизилась на 32% ( $p < 0.05$ ).

Причиной имеющегося дефицита АРУЦ при избытке ААК может быть конкуренция последних за транспортные системы ГЭБ.

Отмечена тенденция к увеличению содержания гетероциклической аминокислоты гистидина ( $p < 0.05$ ) – субстрата для образования гистамина, одного из важных нейромедиаторов в реакциях декарбоксилирования.

В группе “ММФ-7 + 7” отмечалось повышение по отношению к контролю соотношения заменимых и незаменимых АК (с 14.5 в контроле до 16.7) за счет статистически значимого повышения содержания первых. Также выросло отношение суммы концентраций гликогенных АК к кетогенным с 31.1 в контроле до 36.9 в данной опытной группе ( $p < 0.05$ ) вследствие повышения содержания гликогенных.

Следует отметить, что в группе “ММФ-14” аминокислотный дисбаланс качественно (АК, содержание которых изменялось) проявлялся аналогично группе “ММФ-7 + 7”, но количественные показатели изменялись не так существенно, а для некоторых АК нивелировались, достигая контрольных значений (триптофан, аспарат, глутамат, ГАМК, лейцин).

Главным вегетативным центром, регулирующим иммунную систему, является гипоталамическая область головного мозга [18, 19]. Возможно, это обусловлено тем, что в гипоталамусе может иметь место прямое воздействие тимических пептидов, так как срединное возвышение гипоталамуса не защищено ГЭБ. Кроме того, следует заметить, что гормональные системы гипоталамуса и гипофиза вовлечены в механизмы положительной или отрицательной обратной связи, регулирующие синтез и секрецию тимических пептидов. Установлено, что гормоны тимуса способны оказывать определенное влияние на аминокислотный фонд (ГАМК, глутаминовая и аспарагиновая кислоты) в различных структурах головного мозга крыс [20].

В гипоталамусе наблюдается явный дисбаланс ГАМК (табл. 2) при иммунодефицитном состоянии: ее концентрация снижается достоверно в сравнении с контролем в группе “ММФ-7” (на 22%) и в группе “ММФ-7 + 7” (на 23%). При этом содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот остается практически неизменным, а соотношение ГАМК/Глу (0.64 для контроля) и ГАМК/Асп (2.2 для контроля) снижается до 0.49 и 1.7 соответственно в первой опытной группе; 0.44 и 1.8 соответственно во второй опытной группе.

В литературе имеются сведения как об угнетающем, так и активирующем влиянии ГАМК на иммунную систему [21]. Большинство авторов отме-

чает иммунокорректирующие свойства ГАМК-ергических средств [22]. В головном мозге синтез ГАМК осуществляется путем декарбоксилирования глутаминовой кислоты, катализируемого глутаматдекарбоксилазой (ГДК) – пиридоксаль-5-фосфатзависимым ферментом. Превращение ГАМК в субстраты цикла Кребса и некоторые АК позволяет рассматривать возможность ее функционирования в качестве нейротрофического агента. В пользу последнего предположения свидетельствует процесс синтеза ГАМК как в нейронах, так и глиальных клетках, а также неоднородное распределение ферментов метаболизма ГАМК в отделах мозга [23]. К настоящему времени доказано, что концентрация ГАМК в мозге, определяемая балансом между ее синтезом и деградацией, является показателем функционального состояния ЦНС при нормальных физиологических и патологических состояниях. [24].

Обращает на себя внимание тот факт, что наиболее существенные изменения содержания свободных АК характерны для опытной группы “ММФ-7 + 7” в сравнении с контрольной группой и группами “ММФ-7” и “ММФ-14”. При этом наблюдается тенденция к уменьшению содержания ряда АК: глутамина, ГАМК, валина, лейцина, лизина. При моделировании ИД состояния в группе “ММФ-7 + 7” наблюдается уменьшение содержания АРУЦ на 11% в сравнении с контролем ( $p < 0.05$ ). Важно отметить, что АРУЦ являются также донорами аминокислотной группы и углеродной основой для образования других АК, в первую очередь, таких как глутамин, важных для функционирования иммунной системы. Известно существование в головном мозге лейцин-глутаматного цикла, который служит дополнением глутамат-глутаминового цикла [25].

Кроме того лимфоциты экспрессируют АРУЦ-трансаминазу и дегидрогеназу для деградации разветвленных кетокислот [26]. Отметим возрастание содержания триптофана, аргинина, гистидина.

Введение препарата ММФ на протяжении 7-ми сут сопровождалось снижением уровня серотонина (2.90 (2.318; 3.370)) по сравнению с контролем (3.43 (2.929; 4.328)) в исследуемой структуре головного мозга крыс ( $p < 0.05$ ). Дефицит нейромедиатора в данном отделе мозга может быть причиной определенной дисфункции серотонинергической системы при действии иммунодепрессанта. При увеличении срока воздействия до двух недель (ММФ-14) исследованный показатель увеличился (4.27 (2.008; 4.795)) в сравнении с контрольным. При введении ММФ в течение 7-ми сут с последующей 7-суточной отменой наблюдался рост содержания триптофана и снижения концентрации серотонина (2.93 (2.814; 3.255)) по сравнению с контролем ( $p < 0.05$ ). Уровень содержания основ-

**Таблица 2.** Содержание свободных аминокислот в гипоталамусе головного мозга крыс (нмоль/г) в условиях экспериментального иммунодефицита

Аминокислоты	Контроль (n = 8)	Группы животных, получавших ММФ:		
		1-я группа 7 суток (n = 8)	3-я группа 14 суток (n = 8)	2-я группа 7 суток + 7 суток отмены (n = 8)
Триптофан	12.089 (11.467; 15.604)	12.183 (11.445; 13.201)	12.937 (11.723; 13.124)	14.955 (13.374; 15.989) <sup>♦■</sup>
Глутамин	1989.563 (1753.81; 2132.738)	1835.73 (1507.51; 1902.811)	1926.382 (1850.032; 2079.105)	1650.168 (1404.508; 1795.083) <sup>*</sup>
Гистидин	28.997 (27.857; 34.512)	30.517 (26.884; 33.607)	36.275 (33.871; 41.133) <sup>*♦</sup>	31.646 (26.615; 36.406)
Аргинин	212.916 (208.244; 217.857)	220.014 (216.203; 231.47)	223.063 (219.643; 231.696) <sup>*</sup>	228.425 (222.969; 233.901) <sup>*</sup>
ГАМК	2101.672 (1844.209; 2377.852)	1657.442 (1228.117; 1858.052) <sup>*</sup>	2172.656 (1819.607; 2389.533) <sup>♦</sup>	1640.112 (1439.904; 1904.622) <sup>■*</sup>
Валин	35.76 (33.774; 37.03)	35.861 (33.092; 38.403)	33.035 (30.929; 34.625)	32.238 (29.243; 34.078) <sup>*♦</sup>
Лейцин	38.043 (35.926; 40.595)	37.867 (34.39; 38.545)	37.495 (33.882; 40.112)	31.789 (30.644; 35.084) <sup>♦■</sup>
Лизин	144.01 (122.083; 187.859)	134.219 (102.179; 158.611)	156.137 (137.274; 169.982)	94.76 (78.385; 131.501) <sup>*■</sup>
Аспарагиновая кислота	954.89 (884.835; 996.587)	951.27 (857.611; 1058.684)	984.03 (822.799; 997.160)	884.69 (838.432; 940.646)
Глутаминовая кислота	3263.95 (2924.067; 3788.136)	3365.26 (2909.256; 3548.883)	3028.91 (2979.682; 3563.568)	3743.57 (3272.574; 3867.768)

ного метаболита серотонина – 5-оксииндолилуксусной кислоты – остается практически неизменным во всех опытных группах в сравнении с контролем.

Глутамин – наиболее распространенная АК в плазме крови, скелетных мышцах, печени, клетках иммунной системы. Исследования *in vitro* показывают, что глутамин влияет на различные компоненты иммунного ответа. Так, эта АК необходима для пролиферации лимфоцитов в ответ на стимуляцию Т-клеток митогенами и активацию протеинкиназы С. Добавление 2 мМ глутамин к культуре клеток предупреждает апоптоз, стимулирует клеточный рост и способствует продукции антител в лимфоцитах [27].

Таким образом, выявленные изменения уровней свободных АК в изученных отделах головного мозга крыс доказывают формирование метаболического дисбаланса, вызванного введением препарата-иммунодепрессанта ММФ.

## ВЫВОДЫ

1. Введение ММФ вызывает аминокислотный дисбаланс в концентрациях изученных АК в стволе и гипоталамусе головного мозга крыс, выраженность которого варьирует в зависимости от длительности иммунодефицитного состояния. Наиболее значимые сдвиги возникают у животных, подвергнутых более краткосрочному влиянию в режиме

“ММФ-7” и “ММФ-7 + 7”; введение иммунодепрессанта в режиме “ММФ-14” оказывает наименьшее влияние на уровни изученных показателей.

2. Среди исследованных структур мозга наиболее значительные изменения регистрируются в стволе. В первую очередь это отражается в нарушении метаболизма метионина, ГАМК, глутаминовой и аспарагиновой кислот, гистидина, фенилаланина, что, вероятно, отражает максимальную вовлеченность серотонинергической, дофаминергической, ГАМК-ергической нейромодуляторных систем, системы возбуждающих АК и системы гистамина этого региона в реализацию эффектов иммунодефицитного состояния.

3. В наибольшей степени трансформации подверглись показатели групп АРУЦ и нейротрансмиттерных АК (в особенности группа ВАК), что подтверждает их ключевую роль в функционировании ЦНС в норме и в условиях экспериментального иммунодефицита. Уровни ароматических аминокислот и их метаболитов при этом значительно не изменились.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке гранта № 20162733 по заданию “Поиск и обоснование методов коррекции гепатотоксических эффектов ингибиторов обратной транскриптазы” ГПНИ “Фундаментальные и прикладные науки – медицине”, подпрограмма “Диагностика и терапия заболеваний”.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Этическое одобрение.* На данное исследование получено разрешение комитета по биомедицинской этике Гродненского государственного медицинского университета (заседание комитета по биомедицинской этике от 30.01.2018 г. протокол № 1). Все опыты проведены с учетом “Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных”.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Лебедев К.А., Помякина И.Д.* // Иммунология об-разразознающих рецепторов. Интегральная иммунология. М.: Либроком, 2009. 256 с.
2. *Хаитов Р.М., Пинегин Б.В., Ярилин А.А.* // Руководство по клинической иммунологии. Диагностика заболеваний иммунной системы. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 345 с.
3. *Сепиашвили Р.И., Малашиха Ю.А.* // Аллергология и иммунология. 2015. Т. 16. № 1. С. 8–13.
4. *Zhang W.X., Chen Y.J., Chen H.* // Eur. J. Clin. Pharmacol. 2010. V. 66. P. 671–679.
5. *Kim K., Garden J.M., Schwartz M.* // Korean J. Pathol. 2010. V. 44. P. 333–337.
6. *Zandman-Goddart G.* // Lupus. 2005. V. 14. Suppl. 1. P. 12–16.
7. *Malekinejad H., Cheraghi H., Alizadeh A.* // Transplant. Proc. 2011. V. 43. P. 2741–2746.
8. *Richter M.H., Zahn St., Kraus M., Mohr F.W., Georg H.O.* // J. Heart Lung Transplant. 2003. V. 22. № 10. P. 1107–1116.
9. *Курбат М.Н., Кравчук Р.И., Островская О.Б.* // Журн. Гродненского государственного медицинского университета. 2017. № 15(5). С. 510–515.
10. Надлежащая лабораторная практика: ТКП 125-2008(02040): введ. 28.03.08 / Министерство здравоохранения Республики Беларусь. Минск, 2008. С. 35.
11. *Дорошенко Е.М.* // Сборник тезисов Республиканской научной конференции по аналитической химии с международным участием “Аналитика РБ-2010”, Минск, 14–15 мая 2010 г. Минск: БГУ, 2010. С. 126.
12. *Боровиков В.П.* // Statistica. Санкт-Петербург: Питер, 2003. 688 с.
13. *Mischoulon D.* // Am. J. Clin. Nutr. 2002. V. 76. № 5. P. 1158–1161.
14. *Grimble R.F.* // J. Nutr. 2006. V. 136. 6 Suppl. P. 1660–1665.
15. *Fernstrom J.D.* // The J. Nutrition. 2005. P. 1539–1546.
16. *Pacheco R., Gallart T., Lluís C., Franco R.* // J. Neuroimmunol. 2007. V. 185. № 1–2. P. 9–19.
17. *Garg S.K., Banerjee R., Kipnis J.* // J. Immunol. 2008. V. 180. № 4. P. 3866–3873.
18. *Акмаев И.Г.* // Успехи физиологических наук. 2003. Т. 34. № 4. С. 4–15.
19. *Ермилова И.Ю.* Функциональное значение гипоталамуса и тимуса в раннем онтогенезе иммунной системы. Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2004. С. 22.
20. *Алиева Н.Н.* // Успехи современной науки. 2017. Т. 1. № 6. С. 55–58.
21. *Торенков И.Н., Самотруева М.А., Серезникова Т.К.* // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2011. Т. 74. № 11. С. 36–42.
22. *Vjurstom H., Wang J., Ericsson I.* // J. Neuroimmunol. 2008. V. 205. № 1. P. 44–50.
23. *Курбат М.Н., Лелевич В.В.* // Нейрохимия. 2009. Т. 26. № 1. С. 29–34.
24. *Розанов В.А., Ценколенко В.А., Левицкий М.В.* // Физиол. журн. 1991. Т. 37. № 5. С. 3–11.
25. *Daikhin Y., Yudkoff M.* // J. Nutr. 2000. V. 130. P. 1026–1031.
26. *Fernstrom J.D.* // The J. Nutrition. 2005 (Suppl.). P. 1539–1546.
27. *Evans M.E., Jones D.P., Ziegler T.R.* // J. Nutr. 2003. V. 133. P. 3065–3071.

## **Transformation of Amino Acid Pool in Rat Brain under Condition of Experimental Immunodeficiency**

**N. I. Filina<sup>a</sup> and M. N. Kurbat<sup>a</sup>**

*<sup>a</sup> Grodno State Medical University, Grodno, Belarus*

The immune system as an integrating general regulatory systems of the organism is in close relationship with the nervous and endocrine systems. The purpose of the research was to study the state of the amino acids fund in the brain regions of rats in the conditions of experimental immunodeficiency. The studied structures (rat midbrain and hypothalamus) are characterized by the transformation of amino acid (AA) pool at immunodeficiency due to administration of mycophenolate mofetil drug. The peculiarities of changes in relations between certain classification groups of amino acids were revealed: excitatory/inhibitory, branched-chain amino acids/aromatic amino acids and essential/nonessential AA under the conditions of this experiment. The administration of MMF causes a significant imbalance in the concentrations of the studied amino acids in the regions of the rat brain, the severity of which varies depending on the duration of the immunodeficiency state: after 14 days of administration, the effect is the least, which may be of an adaptive nature. The most significant shifts in the amino acid content occur in animals exposed to a shorter-term effect: within 7 days and with the subsequent weekly discontinuation of the drug administration.

*Keywords: amino acids, mycophenolate mofetil, immunodeficiency, brain*