

stimulates synthesis and degradation of 5-HT in several brain areas of rats and has no effect on the secretion of melatonin.

ЛИТЕРАТУРА

1. Castro, L.M. Novel targets for valproic acid: up-regulation of melatonin receptors and neurotrophic factors in C6 glioma cells / L.M. Castro, L.P. Gallant, M. Niles // *J. Neurochem.*—2005. — Vol. 95, N5. — P. 1227-1236.
2. Chapman, A.G. Sodium valproate – current status of pharmacological research / A.G. Chapman // *Schweiz. Rundsch. Med. Prax.* — 1994. — Vol. 83, N 40. — P. 1106-1110.
3. 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.
4. 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.
5. Loscher, W. Transport of GABA at the blood–CSF interface / W. Loscher, H.H. Frey // *J. Neurochem.* — 1982. — Vol. 38. — N 4. — P. 1072–1079.
6. Abed, W.T. Anticonvulsant activity of di-n-propylacetate and brain monoamine metabolism in the rat / W.T. Abed // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* — 1990. — Vol.17, N1. — P. 11-16.
7. Hallam, K.T. Effect of sodium valproate on nocturnal melatonin sensitivity to light in healthy volunteers / K.T. Hallam, J.S. Olver, T.R. Norman // *Neuropsychopharmacology.*—2005. — Vol. 30, N 7. — P.1400–1404.
8. MacMillan, V. The effects of the anticonvulsant valproic acid on cerebral indole amine metabolism / V. MacMillan // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* — 1979. — Vol. 57, N 8. — P.843–847.
9. Effect of valproic acid on brain serotonin metabolism in isolated and grouped rats / E. Kempf [et al.] // *Pharmacol. Biochem. Behav.*— 1982. — Vol. 17, N 1. — P. 49-52.
10. 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.
11. Shukla, G.S. Combined lithium and valproate treatment and subsequent withdrawal: serotonergic mechanism of their interaction in discrete brain regions / G.S. Shukla // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* — 1985. — Vol. 9, N. 2. — P. 153–156.
12. Sodium valproate induced alterations in monoamine levels in different regions of the rat brain / M.H. Baf [et al.] // *Neurochem. Int.* — 1994. — Vol. 24, N. 1. — P. 67-72.
13. 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.
14. The acute effect of valproate on cerebral energy metabolism in mice / C.U. Johannesen [et al.] // *Epilepsy. Res.* — 2001. — Vol. 47, N 3. — P. 247-256.
15. Золотухин, М.М. Метод определения метаболитов гидроксизазного пути обмена триптофана в эпифизе крысы с помощью ион-парной хроматографии с детектированием по флуоресценции / М.М. Золотухин, Е.М. Дорошенко // *Журнал ГрГМУ.* — 2007. — № 2. — С.25-28.
16. Voisin, P. Arylamine N-acetyltransferase and arylalkylamine N-acetyltransferase in the mammalian pineal gland / P. Voisin, M.A.A. Namboodiri, D.J. Klein // *J. Biol. Chem.* — 1984. — Vol. 259, N17. — P. 10913 - 10918.

Поступила 14.05.2008 г.

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

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ L-ТРИПТОФАНА И ЕГО КОМБИНИ- РОВАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ С ВАЛЬПРОЕВОЙ КИСЛОТОЙ НА УРОВНИ ТРИПТОФАНА И ЕГО МЕТАБОЛИТОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ, ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Гродненский государственный
медицинский университет

Исследовали эффекты триптофана (Trp, 100 мг/кг) и его комбинации с вальпроевой кислотой (VPA, 400 мг/кг) на уровни триптофана и его метаболитов в плазме крови, печени, головном мозге крыс на фоне хронической алкогольной интоксикации (ХАИ). Оба соединения вводились внутривенно (7 дней) в световую фазу; последнее введение Trp за 12 ч и VPA за 3 ч до декапитации. ХАИ (14 недель) не изменяла содержание Trp и его метаболитов в плазме крови, печени и головном мозге. Trp и его комбинация (Trp+VPA) увеличивали содержание Trp в плазме крови, но не в печени. После введения Trp в стриатуме и лобной доле повышались уровни серотонина (5-НТ), 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-НИАА), N-ацетилсеротонина (NAS) и триптамина (TRN), а содержание Trp было увеличено во всех исследованных отделах мозга. Синтез 5-гидроксириптофана (5-НТР) был усилен в стриатуме, среднем мозге и угнетался в гипоталамусе. Уровни NAS, мелатонина (Mel), N-ацетилтриптофана (NAT) были повышены в среднем мозге. После введения Trp+VPA в стриатуме, гипоталамусе, среднем мозге, мозжечке были повышены уровни Trp и 5-НИАА. Концентрация триптофана была повышена в эпифизе, лобной доле, как и NAS – в гипоталамусе, лобной доле, среднем мозге. Уровни 5-НТР в среднем мозге и 5-НТ в мозжечке были увеличены. Концентрации TRN были снижены в эпифизе, среднем мозге, уровни Mel, 5-метоксииндолуксусной кислоты (5-МИАА) – в эпифизе. Предполагается, что эффекты реализовывались путем модификации транспорта Trp, который усиливался VPA.

ВВЕДЕНИЕ

L-Триптофан (Trp) – предшественник в биосинтезе серотонина, из которого, в свою очередь, синтезируется еще один активный метаболит - мелатонин [1]. Trp в экспериментальных условиях оказывает снотворное, антиалкогольное и антинаркотическое действие, эффективен при де-

прессивном синдроме, снижает острую токсичность этанола [2, 3], способен стимулировать серотонинергическую и мелатонинергическую системы головного мозга.

Перспективным направлением является комбинированное использование аминокислот с препаратами, способными изменять функциональное состояние серотонинергической системы. Так, применение вальпроевой кислоты (VPA) – соединения, способного увеличивать оборот серотонина в некоторых отделах головного мозга [4], с аминокислотами оказывает стимулирующий эффект на серотониновую систему при маниах, стрессе, аффективных расстройствах, алкогольной интоксикации и синдроме отмены этанола [5]. Таким образом, может считаться целесообразным сочетанное использование L-триптофана и VPA, поскольку хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) сопровождается угнетением функционирования серотонинергической [6, 7] и мелатонин-продуцирующей [8] систем головного мозга. Применение первого агента на фоне ХАИ обосновано, так как он выступает в качестве предшественника в синтезе серотонина, а второй агент – в качестве стимулятора оборота медиатора в серотонинергической системе. Для оценки эффектов комбинированного введения необходимо учитывать синхронизацию биоритмов с внешним освещением, поскольку синтез N-ацетилсеротонина и мелатонина активен в ночное время.

Цель данной работы - оценить влияние комбинированного введения Trp и VPA при хронической алкогольной интоксикации на уровни триптофана и его метаболитов в плазме крови, печени и в головном мозге в темновую фазу.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовалось 32 белых беспородных крыс-самцов массой 150-200 г, которые содержались на стандартном рационе вивария, после фотоадаптации (2 нед). Во время всего эксперимента крыс содержали при нормальном световом цикле (12 ч / 12 ч, 9:00 – 21:00 ч). Хрониче-

скую алкогольную интоксикацию моделировали в течение 14 недель, используя 20% раствор этанола в качестве единственного источника питья [9]. Средняя доза этанола за весь период алкоголизации составила $8,3 \pm 0,3$ г/кг (по данным регистрации потребления). Опытным группам в течение 7 дней внутрижелудочно вводили 0,5% раствор L-триптофана (100 мг/кг) [1] в 11:00 ч, а группе, получавшей дополнительно вальпроевую кислоту (400 мг/кг) [10, 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 (гипоталамуса, стриатума, среднего мозга, лобной доли коры, мозжечка, печени) производили тefлоновым пестиком в 10-кратном объеме (эпифизов – в фиксированном объеме 100 мкл) экстракционной среды, содержащей 0,2 М хлорной кислоты, 25 мг/л ЭДТА и 1 мкМ ванилиновой кислоты (VA) (внутренний стандарт). Центрифугировали 15 мин при 20000 g (+ 4°C). Супернатанты замораживали и хранили при -78°C.

Кровь собирали в пластиковые пробирки, содержащие 10% раствор Na₂EDTA, и центрифугировали 15 мин при 3000 g. К полученной плазме добавляли равные объемы среды для депротеинизации, содержащей 1 М хлорной кислоты, 25 мг/л ЭДТА и 5 мкМ VA. Центрифугировали 15 мин при 20000 g (+4°C). Супернатанты хранили при -78°C.

В работе использовали L- триптофан (Sigma, США), препарат «Орфирил», содержащий 60 мг/мл вальпроевой кислоты (Pharmacia). Для приготовления подвижных фаз использовали ацетонитрил, метанол (Merck, Германия), KН₂РO₄, 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 креати-

нин-сульфат (5-НТ), триптами (TRN), N-ацетилтриптофан (NAT) (Reanal, Венгрия), L-триптофан (Trp), мелатонин (Mel), 5-гидроксииндолуксусную кислоту (5-Н1АА), N-ацетилсеротонин (NAS), ванилиновую кислоту (VA), 5-метоксииндолуксусную кислоту (5-М1АА), 5-гидрокситриптофан (5-НТP) (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 обращено-фазовой ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1100. Колонка 3 x 250 мм Serapon SGX C₁₈, 8 мкм (Элсико, Россия) термостатировалась при 30°C, скорость потока - 0,5 мл/мин. Введение образцов осуществлялось автосамплером (ALS G1313A), объем 20 мкл. Детектирование по природной флуоресценции 280/340 нм. Для определения Trp, 5-НТP, 5-НТ и 5-Н1АА использовали подвижную фазу, содержащую 0,1 М KН₂РO₄, 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-М1АА и Mel проводили по [12]. 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) проводилась с помощью пакета Statistica 7.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хроническая алкогольная интоксикация не изменяла содержание Trp в плазме крови. В то время как введение самого L-Trp так и его комбинации с VPA повышало содержание этой аминокислоты в плазме крови при сравнении с контролем и ХАИ (таблица 1).

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

	Контроль	ХАИ	ХАИ+Trp+VPA	ХАИ+Trp
Trp, плазма	35,1 \pm 1,55	32,2 \pm 1,26	43,0 \pm 3,44*†	49,7 \pm 1,74*†
Trp, печень	14,0 \pm 1,0	14,5 \pm 1,3	13,8 \pm 0,8	15,4 \pm 0,6

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

В печени ни ХАИ, ни введение препаратов не изменяло уровня Trp. В группах, получавших препараты, повышение концентрации Trp связано с созданием градиента концентрации Trp между энтероцитами и кровью, при этом скорость катаболизма этой аминокислоты в печени не изменялась. В эпифизе ХАИ и введение

Trp не изменяли содержание всех изученных соединений. Комбинированное введение препаратов увеличивало содержание Trp и снижало уровни TRN, Mel в эпифизе по отношению к контролю и ХАИ. Отмечалось снижение 5-МІАА в сравнении с контролем (таблица 2).

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

	Контроль	ХАИ	ХАИ+Trp+VPA	ХАИ+Trp
Trp	8,94 \pm 1,03	10,23 \pm 1,87	11,6 \pm 0,7*†	9,55 \pm 1,19
5-НТР	0,572 \pm 0,1494	0,481 \pm 0,099	0,472 \pm 0,0566	0,435 \pm 0,0788
5-НТ	25,4 \pm 8,6	24,4 \pm 7,5	42,0 \pm 9,3	35,3 \pm 7,3
5-НІАА	1,45 \pm 0,40	1,71 \pm 0,50	2,27 \pm 0,40	2,00 \pm 0,41
NAS	0,278 \pm 0,071	0,404 \pm 0,188	0,172 \pm 0,045	0,237 \pm 0,101
NAT	0,0526 \pm 0,0099	0,0554 \pm 0,0188	0,0308 \pm 0,0047	0,0392 \pm 0,0107
TRN	0,0538 \pm 0,0123	0,0650 \pm 0,0294	0,0209 \pm 0,0035 *†	0,0388 \pm 0,0083
5-МІАА	2,04 \pm 0,44	1,17 \pm 0,17	0,759 \pm 0,073*	1,67 \pm 0,49
Mel	0,125 \pm 0,029	0,130 \pm 0,053	0,0467 \pm 0,0102*†	0,0880 \pm 0,0204

Хроническая алкогольная интоксикация сопровождалась появлением корреляционной связи 5-НТ–NAS ($r=0,92$) и ослаблением связи TRN–5-МІАА ($r=0,82$) против $r=0,90$, $p < 0,05$ в эпифизе. Сохранялась связь Trp–5-НІАА ($r=0,82$). Такие изменения свидетельствуют о перераспределении потока 5-НТ между окислительной и ацетилирующей ветвями. Введение триптофана на фоне ХАИ повышало значение коэффициента корреляции 5-НТ–NAS ($r=0,97$ против 0,92). Ослабевали корреляционные связи NAT–TRN ($r=0,86$), Mel–TRN ($r=0,90$), Mel–NAT ($r=0,90$), против 0,99, 0,91, 0,94, соответственно. Появлялась связь Trp–5-МІАА ($r=0,83$).

Анализ корреляционных связей позволяет предположить перераспределение потока Trp между гидроксилазной и митохондриальными цепочками его катаболизма. Со-

четанное введение препаратов увеличивало окисление TRN в эпифизе. Повышение содержания Trp и снижение уровня Mel с параллельно отмечаемой тенденцией увеличения 5-НТ говорит об угнетении синтеза Mel. Возможно, этот эффект опосредуется выбросом 5-НТ из пинеалочитов, который в последующем вовлекается в аутокринный механизм регуляции синтеза мелатонина [13].

В стриатуме ХАИ не изменяло уровней Trp и его метаболитов. Экзогенный Trp достоверно повышал уровни Trp, 5-НТР, 5-НІАА и NAS в сравнении с контролем и группой ХАИ. Содержание 5-НТ и TRN повышалось только в сравнении с ХАИ. Комбинация Trp и VPA увеличивала в стриатуме уровни Trp и 5-НІАА при сравнении с контролем и ХАИ (табл. 3).

Таблица 3 - Содержание триптофана и его метаболитов в стриатуме крыс после введения Trp (100 мг/кг) и Trp (100мг/кг) с VPA (400мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г), среднее ± средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ+Trp+VPA	ХАИ+Trp
Trp	14,3 ± 1,1	14,84±1,25	23,4 ± 1,6*†	20,0 ± 2,0*†
5-НТP	0,144±0,017	0,123±0,023	0,162 ±0,031	0,247±0,021*†
5-НТ	0,419 ± 0,098	0,542 ± 0,206	0,50 ± 0,06	0,612 ± 0,080†
5-НИАА	0,632 ± 0,099	0,516 ± 0,070	1,07 ± 0,15*†	1,13 ± 0,18*†
NAS	0,0190 ±0,0027	0,0201 ±0,0027	0,0214 ± 0,0045	0,0508 ± 0,0193*†
NAT	0,0192 ±0,0020	0,0158 ±0,0021	0,0207 ± 0,0033	0,0243 ± 0,0061
TRN	0,0220 ±0,0034	0,0180 ±0,0047	0,0181 ± 0,0021	0,0293 ± 0,0046†
Mel	0,0325 ±0,0165	0,0191 ±0,0032	0,0175 ± 0,0011	0,0259 ± 0,0042

В стриатуме ХАИ вызывала появление корреляционной связи Trp–5-НТ ($r=0,84$) и ослабление – 5-НТ–5-НИАА ($r=0,78$ против $0,96$). Исчезали связи между концентрациями минорных метаболитов и интермедиатов гидроксилазного пути обмена Trp. Возможно, это связано с перераспределением потока Trp в пользу гидроксилирующей цепочки. L- триптофан увеличивал синтез и распад 5-НТ в стриатуме за счет увеличения доступности Trp. В пользу этого свидетельствует увеличение уровней Trp, 5-НТP, 5-НТ, 5-НИАА и усиление корреляционной связи Trp–5-НИАА ($r=0,80$ против $0,71$). Возрастало содержание TRN, что также свидетельствует в пользу увеличения доступности Trp, по-

скольку содержание первого особенно возрастает при нагрузке последним [14]. Ацетилирование 5-НТ усиливалось, поскольку возрастал уровень NAS. Комбинация Trp и VPA увеличивала оборот 5-НТ в этом отделе мозга. Алкогольная интоксикация не вызывала достоверных изменений в содержании всех исследованных соединений в лобной доле больших полушарий. Экзогенный Trp увеличивал уровни Trp, 5-НИАА при сравнении с контролем и ХАИ. Достоверно повышались также уровни 5-НТ, NAS и TRN при сравнении с контролем. Введение Trp с VPA на фоне ХАИ увеличивало содержание Trp и NAS в сравнении с контролем и ХАИ (табл. 4).

Таблица 4 - Содержание триптофана и его метаболитов в лобной доле коры больших полушарий крыс после введения Trp (100 мг/кг) и Trp (100мг/кг) с VPA (400мг/кг) на фоне ХАИ (нмоль/г), среднее ± средняя ошибка среднего

	Контроль	ХАИ	ХАИ+Trp+VPA	ХАИ+Trp
Trp	14,4 ± 1,8	16,4 ± 2,2	36,5 ± 5,5*†	29,5 ± 2,3*†
5-НТP	0,197 ±0,0183	0,241 ± 0,018	0,246 ± 0,020	0,253 ± 0,0143
5-НТ	0,664 ±0,1004	0,802 ± 0,081	1,03 ± 0,1578	1,06 ± 0,13*
5-НИАА	0,995 ±0,0975	0,958 ± 0,108	1,43 ± 0,2697	1,444 ±0,0981*†
NAS	0,0283±0,0050	0,0326 ± 0,0058	0,0517±0,0061*†	0,0557 ±0,0105*
NAT	0,0171±0,0036	0,0234 ± 0,0024	0,0196 ± 0,0025	0,0354 ± 0,0093
TRN	0,0182±0,0021	0,0192 ± 0,0020	0,0190 ± 0,0034	0,0242 ±0,0012*
Mel	0,0769±0,0073	0,1123 ± 0,0168	0,0773 ± 0,0090	0,0904 ± 0,0070

Интоксикация этанолом сопровождалась исчезновением корреляционной связи Trp–NAS и возникновением новых TRN–5-НТ ($r=0,88$), 5-НТ–Mel ($r=0,79$). В перераспределении Trp между декарбок-силазным и гидроксилазным путями возможна роль Mel. Введение Trp стимулиро-

вало синтез и деградацию 5-НТ по окислительной и N-ацетилирующей ветвям. В пользу стимуляции серотонинергической системы за счет увеличения доступности предшественника свидетельствуют изменения уровней Trp, 5-НТ, 5-НИАА и появление корреляционных связей Trp–5-НТP

($r=0,79$), 5-НТР–5-НТ ($r=0,90$). Повышение содержания TRN было связано также с увеличением уровня Trp в лобной доле коры больших полушарий. Сочетанное введение Trp и VPA в лобной доле коры также оказывало стимулирующее влияние на синтез и деградацию 5-НТ. Об этом свидетельствует повышение уровня Trp с параллельно отмечаемой тенденцией к увеличению содержания 5-НТ и 5-НИАА. Еще одним косвенным свидетельством этого является появление связи 5-НТ–5-НИАА ($r=0,78$). Появление корреляции между уровнями TRN и NAT ($r=0,89$) и повышение уровня NAS говорит о перераспреде-

лении потока Trp между минорными и гидроксизлазной цепочками обмена в пользу последней. Все эти эффекты опосредуются через повышение уровня Trp в нервной ткани. В гипоталамусе ХАИ не изменяла уровней всех исследованных соединений. В этом отделе мозга введение Trp понижало содержание 5-НТР в сравнении с контролем и ХАИ и повышало уровень Trp по отношению к ХАИ, в то время как введение Trp+VPA повышало уровень 5-НИАА и снижало содержание NAS относительно ХАИ. Кроме того, повышался уровень Trp в сравнении с контролем и ХАИ (табл. 5).

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

	Контроль	ХАИ	ХАИ+Trp+VPA	ХАИ+Trp
Trp	15,2 \pm 1,5	14,5 \pm 1,1	20,9 \pm 1,4*†	18,6 \pm 1,3†
5-НТР	0,151 \pm 0,0086	0,149 \pm 0,0104	0,131 \pm 0,0102	0,0768 \pm 0,0056*†
5-НТ	1,69 \pm 0,26	1,65 \pm 0,23	2,15 \pm 0,32	1,81 \pm 0,29
5-НИАА	1,13 \pm 0,17	1,09 \pm 0,19	1,75 \pm 0,25†	1,50 \pm 0,16
NAS	0,118 \pm 0,056	0,0480 \pm 0,0047	0,0673 \pm 0,0069†	0,0498 \pm 0,0122
NAT	0,0187 \pm 0,0021	0,0227 \pm 0,0036	0,0182 \pm 0,0027	0,0175 \pm 0,0026
TRN	0,0227 \pm 0,0024	0,0207 \pm 0,0016	0,0221 \pm 0,0021	0,0198 \pm 0,0015
Mel	0,0572 \pm 0,0054	0,0562 \pm 0,0046	0,0632 \pm 0,0084	0,0628 \pm 0,0063

ХАИ сопровождалась исчезновением связей Trp–NAS и возникновением 5-НТ–5-НИАА ($r=0,82$) и 5-НИАА–NAS ($r=0,86$). Это означает, что ХАИ вызывает перераспределение потока 5-НТ между катаблическими цепочками. Введение Trp снижало скорость его гидроксирования при неизменной скорости декарбоксилирования 5-НТ. Это отражалось повышением уровня Trp и снижением – 5-НТР при неизменном содержании 5-НТ. Совместное введение Trp и VPA в гипоталамусе приводило к увеличению скорости оборота 5-НТ за счет повышения доступности Trp. Об этом свидетельствует повышение содержания 5-НИАА с появлением корреляционных связей 5-НИАА–Trp ($r=0,80$), 5-НТ–5-НИАА ($r=0,91$) на фоне повышения уровня Trp. Снижение концентрации NAS и повышение 5-НИАА явно свидетельствуют об угнетении N-ацетилирования и переключении метаболизма 5-НТ на окислительное дезаминирование.

В среднем мозге ХАИ не вызывала достоверных изменений в уровнях Trp и его метаболитов. Введение Trp повышало содержание Trp и NAS в сравнении с контролем и ХАИ. Кроме того, отмечалось повышение уровней NAT, 5-НТР по отношению к ХАИ и Mel в сравнении с контролем. Комбинированное введение обоих препаратов повышало содержание Trp, 5-НТР, 5-НИАА, NAS в сравнении с контролем и ХАИ. Отмечалось понижение уровня TRN при сравнении с контролем (табл. 6).

В среднем мозге ХАИ вызывала исчезновение корреляционных связей между уровнями 5-НИАА 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. Экзогенный Trp увеличивал синтез 5-НТ в среднем мозге (повышение уровней Trp и 5-НТР). Возможно, стиму-

лирующее влияние на синтез 5-НТ оказывал Mel, поскольку уровень его повышался, и появлялись корреляционные пары Trp–Mel ($r=0,90$), 5-НТР–Mel ($r=0,79$). Повышение содержания NAS, сопровождаемое появлением пары 5-НТР–5-НИАА ($r=0,74$), и ослабление корреляционной связи 5-НТ–5-НИАА ($r=0,88$ против $0,94$) означают усиление N-ацетилирования 5-НТ по отношению к окислительной ветви. Повышение содержания NAT было связа-

но с увеличением N-ацетилирования Trp за счет увеличения доступности предшественника. Комбинация препаратов увеличивала синтез 5-НТ и его катаболизм по окислительной и N-ацетилирующей цепочкам, о чем говорит повышение уровней Trp, 5-НТР, 5-НИАА и NAS. Снижение уровня TRN при увеличении уровня Trp было связано с угнетением его декарбоксилирования.

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

	Контроль	ХАИ	ХАИ+Trp+VPA	ХАИ+Trp
Trp	15,7 \pm 1,6	17,8 \pm 0,9	26,6 \pm 1,3*†	40,3 \pm 19,2*†
5-НТР	0,167 \pm 0,0126	0,150 \pm 0,0196	0,222 \pm 0,0047*†	0,216 \pm 0,0222†
5-НТ	1,55 \pm 0,30	1,69 \pm 0,14	1,91 \pm 0,11	2,05 \pm 0,27
5-НИАА	1,45 \pm 0,25	1,73 \pm 0,15	2,44 \pm 0,19*†	2,11 \pm 0,25
NAS	0,0493 \pm 0,0054	0,0461 \pm 0,0079	0,126 \pm 0,027*†	0,0861 \pm 0,0031*†
NAT	0,0218 \pm 0,0038	0,0163 \pm 0,0016	0,0215 \pm 0,0029	0,0275 \pm 0,0042†
TRN	0,0216 \pm 0,0032	0,0190 \pm 0,0018	0,0150 \pm 0,0009*	0,0213 \pm 0,0029
Mel	0,0719 \pm 0,0048	0,0887 \pm 0,003*	0,0823 \pm 0,0094	0,0903 \pm 0,0064*

В мозжечке ХАИ не изменяла уровней исследованных соединений. Внутрижелудочное введение Trp на фоне ХАИ повышало уровень этой аминокислоты в сравнении с контролем и ХАИ. Сочетан-

ное введение Trp и VPA повышало содержание Trp и 5-НИАА при сравнении с контролем и ХАИ. Уровень 5-НТ увеличивался по отношению к ХАИ (табл. 7).

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

	Контроль	ХАИ	ХАИ+Trp+VPA	ХАИ+Trp
Trp	16,2 \pm 0,9	15,4 \pm 1,0	27,7 \pm 2,5*†	22,7 \pm 2,0*†
5-НТР	0,133 \pm 0,0099	0,187 \pm 0,0295	0,152 \pm 0,0173	0,409 \pm 0,2592
5-НТ	0,175 \pm 0,0352	0,123 \pm 0,0138	0,209 \pm 0,0357†	0,122 \pm 0,0240
5-НИАА	0,321 \pm 0,0535	0,315 \pm 0,0525	0,599 \pm 0,0715*†	0,317 \pm 0,0511

ХАИ в мозжечке не оказывала ни качественных, ни количественных изменений в обмене Trp. Экзогенный Trp повышал содержание Trp в мозжечке, а комбинированное введение с VPA увеличивало синтез и синаптический выброс 5-НТ, о чем свидетельствует повышение уровней Trp, 5-НТ, 5-НИАА и появление корреляционной связи 5-НТ–5-НИАА ($r= 0,96$). Такое стимулирующее влияние могло быть связано с сочетанием двух факторов: увеличения содержания Trp в плазме крови и

создание концентрационного градиента между кровью и нервной тканью, а также изменения VPA свойств мембран нейроцитов [15], в результате чего может изменяться функционирование переносчиков и мембранных рецепторов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Хроническая алкогольная интоксикация не изменяла уровней Trp в плазме крови и печени. В гипоталамусе, эпифизе,

стриатуме, среднем мозге, в лобной доле коры хроническая алкогольная интоксикация вызывала адаптивное перераспределение потока Трп между своими катаболическими цепочками в темновую фазу. Введение L-триптофана (100 мг/кг) как самостоятельно, так и с вальпроевой кислотой (400 мг/кг) на фоне хронической алкогольной интоксикации не изменяло уровня Трп в печени и повышало его содержание в плазме крови в темновую фазу.

В среднем мозге, стриатуме, лобной доле коры Трп увеличивал синтез и катаболизм 5-НТ по окислительной и N-ацетилирующим цепочкам и ослаблял гидроксилирование этой аминокислоты в гипоталамусе. Не отмечалось изменений в продукции Mel в эпифизе, однако его содержание было повышено в среднем мозге. Повышалось образование TRN в стриатуме и лобной доле коры. Все эти эффекты были связаны с повышением доступности Трп вследствие создания концентрационного градиента между кровью и нервной тканью. В стриатуме, гипоталамусе, мозжечке, лобной доле коры, среднем мозге комбинированное введение Трп и VPA вызывало увеличение синтеза 5-НТ и его катаболизма по окислительной и в последнем отделе мозга – по N-ацетилирующей цепочке, в эпифизе угнетался синтез мелатонина. В лобной доле коры снижалось декарбокислирование триптофана и в эпифизе усиливался катаболизм триптамина. Эффекты во всех отделах мозга реализовывались через повышение доступности триптофана, которые, возможно, были модифицированы вальпроевой кислотой.

SUMMARY

M.M. Zolotukhin, Ye. M. Doroshenko,
V.Yu. Smirnov

THE METABOLIC EFFECTS OF
L-TRYPTOPHAN AND ITS COMBINED
APPLICATION WITH VALPROIC ACID
ON THE LEVELS OF TRYPTOPHAN AND
ITS METABOLITES IN BLOOD PLASMA,
LIVER, AND BRAIN OF RATS UNDER
CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION

We investigated effects of tryptophan (Trp, 100 mg/kg) and its combination with

valproic acid (VPA, 400mg/kg) on content of tryptophan and its metabolites in blood plasma, liver, brain of rats undergoing chronic alcohol intoxication (CHAI). Both compounds were injected intragastrically 7 days in light phase; the Trp – 12 h and the valproic acid – 3 h before decapitation. The CHAI (14 weeks) didn't change the levels of Trp and its metabolites in plasma, liver, and brain. The Trp and its combination (Trp+VPA) increased levels of Trp in plasma but not in liver. After administration of Trp the levels of Trp, 5-HT, 5-HIAA, NAS, TRN in striatum and frontal cortex were increased. The content of Trp was increased in hypothalamus, midbrain, cerebellum. The synthesis of 5-HTP was enhanced in striatum, midbrain and depressed in hypothalamus. The levels of NAS, Mel, NAT were increased in midbrain. After injection of Trp+VPA the levels of Trp and 5-HIAA in striatum, hypothalamus, midbrain, and cerebellum were increased. The concentration of Trp was increased in pineal gland, frontal cortex as well as content of NAS in hypothalamus, frontal cortex, and midbrain. The levels of 5-HTP in midbrain and 5-HT in cerebellum were risen. The concentrations of TRN were decreased in midbrain, pineal gland as well as levels of Mel, 5-MIAA in pineal gland. We suppose all effects to be realized through modification of Trp transport by VPA. The intragastral injection (7 days) of L-tryptophan (100 mg/kg) and its combination with valproate (400mg/kg) increased content of tryptophan during dark phase in blood plasma of rats undergoing chronic alcohol intoxication. Both drugs stimulated the central serotonergic system of the brain.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попова, Н.К. Серотонин и поведение / Н.К. Попова, Е.В. Науменко, В.Г. Колпаков. – Новосибирск: Наука. Сибирское отделение, 1978. – С. 51–52.
2. Bakalian, M.J. Effects of L-tryptophan and other amino acids on electroencephalographic sleep in the rat / M.J. Bakalian, J.D. Fernstrom // Brain. Res. – 1990. – Vol. 528, N. 2. – P. 300 – 307.
3. Sandyk, R. L-tryptophan in neuropsychiatric disorders: a review / R. Sandyk // Int.

- J. Neurosci. – 1992. – Vol. 67, N. 1–4. – P. 127–144.
4. 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.
5. Effects of subchronic treatment with valproate on L-5-HTP-induced cortisol responses in mania: evidence for increased central serotonergic / M. Maes [et al.] // Psychiatry. Res. – 1997. – Vol. 71, N. 2. – P. 67–76.
6. Badawy, A.A.-B. Tryptophan metabolism and disposition in relation to alcohol and alcoholism / A.A.-B. Badawy // Adv. Exp. Med. Biol. – 1996. – Vol. 398. – P. 75–82.
7. Badawy, A.A.-B. Tryptophan metabolism in alcoholism / A.A.-B. Badawy // Adv. Exp. Med. Biol. – 1999. – Vol. 467. – P. 265–274.
8. Pineal function during ethanol intoxication, dependence, and withdrawal / H.B. Moss [et al.] // Life Sci. – 1986. – Vol. 39, N. 23. – P. 2209–2214.
9. Островский, Ю.М. Аминокислоты в патогенезе, диагностике и лечении алкоголизма / Ю.М. Островский, С.Ю. Островский. – Мн.: Навука і тэхніка, 1995. – С. 62–63.
10. 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.
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. Золотухин, М.М. Метод определения метаболитов гидроксизазного пути обмена триптофана в эпифизе крысы с помощью ион- парной хроматографии с детектированием по флуоресценции / М.М. Золотухин, Е.М. Дорошенко // Журнал ГрГМУ. – 2007. – № 2. – С.25-28.
13. 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.
14. 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. – V. 133. – P. 221 – 230.
15. 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.

Поступила 30.06.2008 г.
