

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. *Алехин, М. Н.* Современные подходы к эхокардиографической оценке систолической функции сердца / М. Н. Алехин, Б. А. Сидоренко // Кардиология. — 2007. — № 7. — С. 4–12.
2. *Буянтян, А. А.* Руководство по анестезиологии / А. А. Буянтян. — 3-е изд. — М.: Медицина, 1997. — 656 с.
3. *Лазюк, Д. Г.* Ультразвуковое исследование сердца (эхокардиография): учеб.-метод. пособие / Д. Г. Лазюк, И. В. Сидоренко, Н. Е. Кокорева. — Мн.: Изд-во НИИ кардиологии, 2000. — 30 с.
4. Практическое руководство по ультразвуковой диагностике в 5 т. / редкол.: В. В. Митьков (гл. ред.) [и др.]. — М.: Изд. дом Видар-М, 2003. — Т. 5: Эхокардиография. — 650 с.
5. *Bjornerheim, R.* High frame rate of Doppler echocardiography in the rat: an evolution of the method. / R. Bjornerheim, H.K. Groggaard, H. Kjekshus, H. Attramadal, O.A. Smiseth // Eur. J. Echocardiogr. — 2001. — Vol. 17, № 2. — P. 78–87.
6. Echocardiographic measurement of left ventricular mass and volume in normotensive and hypertensive rats. / G. De Simone [et al.] // Necropsy validation. Am. J. Hypertens. — 1990. — Vol. 3, № 3. — P. 688–696.
7. Impact of anesthesia on cardiac function during echocardiography in mice. / M. D. Roth [et al.] // Am J Physiol Heart Circ Physiol. — 2002. — Vol. 282, № 6. — P. 2134–2140.
8. Pharmacological properties and big endothelins in ketamine/xylazine or urethane anesthetized rats. / J. P. Gratton [et al.] // Am J Hypertens. — 1995. — Vol. 6, № 8. — P. 1121–1127.
9. Preferable Anesthetic Conditions for Echocardiographic Determination / Y Kawahara [et al.] // J Pharmacol Sci — 2005. — Vol. 99, № 2. — P. 95–104.
10. Transthoracic Echocardiography in Models of Cardiac Disease in the Mouse. / M. D. Nobuaki Tanaka [et al.] // Circulation. — 1996. — Vol. 94, № 4. — P. 1109–1117.
11. *Marino, P. L.* The ICU book / P. L. Marino. — Philadelphia: Williams & Wilkins, 1998. — 640 p.

Поступила 05.11.2007

УДК 547.21/31:576.2:577.1

ЭФФЕКТЫ ДИНИЛА И КУРСОВОГО ВВЕДЕНИЯ ТАУРИНА НА КОНЦЕНТРАЦИИ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ В ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ

В. М. Шейбак, О. Н. Могилевец, Е. М. Дорошенко,
В. Ю. Смирнов, А. Л. Бубен

Гродненский государственный медицинский университет

В эксперименте на крысах исследованы метаболические последствия введения динила в отношении содержания свободных аминокислот и их производных в тканях животных, а также влияние таурина, вводимого совместно с динилом, на спектр определяемых показателей. Выявлено, что периферическое действие таурина, вводимого на фоне интоксикации динилом, реализуется через активацию анаболических процессов. Несмотря на достаточно ограниченный спектр выявленных изменений в тканях различных отделов мозга, у животных, получивших динил, эти сдвиги могут иметь самое непосредственное отношение к клиническим проявлениям интоксикации динилом. Курсовое введение таурина на этом фоне вызывает существенные сдвиги в концентрациях нейротрансмиттерных аминокислот, биогенных аминов, их метаболитов и предшественников. Анализ полученных данных позволяет сделать заключение об адаптивном значении наблюдаемых изменений, подтверждающих роль таурина в качестве соединения, оптимизирующего течение метаболических процессов в условиях метаболического стресса как в периферических тканях, так и на уровне ЦНС.

Ключевые слова: динил, таурин, аминокислоты, биогенные амины, головной мозг.

EFFECTS OF DINYL AND COURSE INTRODUCTION OF TAURINE ON THE CONCENTRATION OF FREE AMINO ACIDS AND THEIR DERIVATIVES IN ANIMAL'S TISSUES

V. M. Shejbak, O. N. Mahiliavets, E. M. Dorochenko, V. Y. Smirnov, A. L. Buben

Grodno State Medical University

Metabolic consequences of introduction of dinyl on the concentration of free amino acids and their derivatives in animal's tissues have been investigated in experiment on rats. The influence of taurine which was introduced together with dinyl on the spectrum of determined parameters also has been investigated. It has been revealed, that the peripheral action of taurine, which was introduced together with dinyl, is realized through the activation of the anabolic processes. The changes in tissues of the various departments of the brain at the animals receiving dinyl can have the relationship with clinical presentations of intoxication of dinyl. The course introduction of taurine on this background causes of the considerable changes in the concentration of the transmitter amino acid, biogenic amines, their metabolites and precursors. The analysis of the received data allows to make the conclusion about adaptive importance of observable changes. They confirm a role of taurine as compound optimizing the metabolic processes in the conditions of metabolic stress, both in the peripheral tissues, and the central nervous system.

Key words: dinyl, taurine, amino acids, biogenic amines, the brain.

Введение

Динил — эвтектическая смесь ароматических углеводородов дифенила и дифенилокси-

да (26,5:73,5), жидкость светло-коричневого цвета с резким характерным запахом, широко используется в химической промышленности. Ис-

паряется динил азеотропически, то есть с сохранением соотношения компонентов, входящих в состав смеси, ПДК составляет порядка 0,01 мг/м³. При остром отравлении динилом регистрируются нарушения функционирования нервной и сердечно-сосудистой систем, желудочно-кишечного тракта. Хроническая интоксикация динилом проявляется в виде астенического синдрома и энцефалопатии с преимущественным поражением гипоталамической области [1, 3]. Несмотря на широкое использование динила для практических целей, механизм вызываемых им изменений в организме не изучен, как и возможные пути коррекции возникающих нарушений. Таурин — серосодержащая свободная аминокислота является конечным метаболитом метионина и не входит в состав белков или пептидов. Благодаря редкому набору положительных качеств (антиоксидантное действие, осморегуляция, нейропротекция, гепатопротекция) это соединение получило широкое распространение в качестве препарата метаболической терапии [2, 4].

Целью нашего исследования было определение метаболических последствий введения динила в отношении содержания свободных аминокислот и их производных в тканях животных, а также влияния таурина, вводимого совместно с динилом, на спектр определяемых показателей.

Материалы и методы

В эксперименте использованы 24 белые крысы гетерогенной популяции, массой 180–220 г, находящиеся на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Опытной группе животных в течение 30 дней внутрибрюшинно вводили динил в дозе 5 мг/кг массы и объеме 0,5 мл/кг. В течение последних 10 суток равной части животных из опытной группы внутрижелудочно вводили таурин в дозе 100 мг/кг массы. Контрольная группа крыс (8 особей) получала эквивалентные количества физиологического раствора. Через 24 ч после последнего введения животных декапитировали и для биохимических исследований забирали плазму крови, печень, сердце и отделы мозга — стриатум, средний мозг и гипоталамус.

Определение свободных аминокислот плазмы крови, тканей печени и сердца проводили в хлорнокислых экстрактах на аминокислотном анализаторе ААА-339Т.

Определение свободных аминокислот и их производных проводили в хлорнокислых экстрактах мозга (отделы мозга гомогенизировали в соотношении 1:10 в 0,2 М HClO₄, содержащей 1 мМ гомотаурина и 1 мкМ ванилиновой кислоты (внутренние стандарты), 20 мг/л ЭДТА и 50 мг/л метабисульфата натрия, затем центрифугировали на холоде при 20000g 15 мин,

после чего супернатант немедленно отделяли от осадка) методом обращеннофазной ВЭЖХ с о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с изократическим элюированием и детектированием по флуоресценции (231/445 нм). Условия определения: колонка Диасорб 130 C₁₆T, 3×150 мм; подвижная фаза: 0,1 М Na-ацетатный буфер pH 5,7 / 50% метанол — 100 / 54 (об/об). Скорость потока 0,8 мл/мин, температура колонки 30°C. Дериватизация производилась путем смешивания пробы с 5 объемами 0,4%-ного раствора о-фталевого альдегида и 0,3%-ной 3-меркаптопропионовой кислоты в 0,4 М Na-боратном буфере, pH 9,4. Нейтрализация осуществлялась добавлением равного объема 0,1 М хлорной кислоты. Определение ароматических аминокислот (тирозина и триптофана) проводили дополнительно методом ион-парной ВЭЖХ с детектированием по природной флуоресценции (280/320 нм для тирозина и 280/340 нм — для триптофана). Условия определения: колонка Сепарон SGX C₁₈, 8 мкм, подвижная фаза: 0,1 М NaH₂PO₄, 17 мМ CH₃COOH, 20 мг/л ЭДТА, 180 мг/л октилсульфоната натрия, 230 мг/л гептилсульфоната натрия. Скорость потока 0,5 мл/мин, температура колонки 27°C. Все определения проводили с помощью хроматографической системы Agilent 1100, прием и обработка данных — с помощью программы Agilent ChemStation A10.01. Обработка данных была реализована с помощью программы «Statistica 7.0.»

Результаты и их обсуждение

Как следует из представленных в таблице 1 данных, хроническое введение динила вызвало увеличение общего содержания свободных аминокислот и их производных в плазме крови. Оно было в основном обусловлено существенным повышением количества незаменимой аминокислоты треонина, а также серина, аланина и глутамина. Одновременное курсовое внутрижелудочное введение таурина фактически нормализовало общее содержание свободных аминокислот в плазме крови: отсутствовало повышение уровня серина и наблюдалось снижение концентраций аспартата, пролина и лизина. Одновременно в плазме крови уменьшалось количество этаноламина — продукта распада фосфолипидов клеточных мембран [2]. Между тем уровни треонина и глутамина сохранялись повышенными, аналогично ситуации в группе животных, получавших только динил (таблица 1).

В ткани печени введение динила приводило к повышению уровней ароматической аминокислоты фенилаланина и глутамина (таблица 1). При этом общее количество свободных аминокислот и их производных в этой ткани

достоверно не изменялось. Курсовое введение таурина хотя и не оказывало существенного влияния на концентрацию фенилаланина в ткани печени, тем не менее нормализовало уровень глутамина и приводило к снижению концентрации лизина, а также содержания β -аланина, конкурентного ингибитора транспорта таурина через плазматические мембраны и продукта распада цистеамина [9]. Известно, что снижение уровня этой аминокислоты в ткани способствует насыщению клеток таурином, поскольку в отличие от других переносчиков аминокислот мембранный переносчик таурина принадлежит к семейству Na^+ - и Cl^- -зависимых транспортеров и осуществляемый им перенос таурина ингибируется β -аминокислотами, такими как гипотаурин и β -аланин, но не L-аланин [5, 7].

Достаточно выраженные изменения аминокислотного спектра происходят в тканях сердца после совместного введения динила и таурина (таблица 1). Так, если после хронической интоксикации динилом обнаруживалось повышение концентрации только β -аланина, то дополнительное курсовое введение таурина хотя и влияло на уровень данной аминокислоты, но значительно увеличивало содержание заменимых аминокислот — глутамина (на 25%) и пролина (на 64%). Этот факт наряду с одновременным снижением концентраций некоторых незаменимых аминокислот (таблица 1) может свидетельствовать об их энергичном использовании в синтезе сократительных белков миокарда, и в меньшей степени, белков соединительной ткани (коллаген), поскольку уровень второго основного необходимого для этих целей компонента — лизина значительно снижается. Повышение уровня глутамина также способствует синтезу ряда биологически активных соединений, включая азотистые основания, что также можно рассматривать как анаболический эффект введения таурина [6, 8].

Таким образом, периферическое действие таурина, вводимого на фоне интоксикации динилом, реализуется через активацию анаболических процессов. Этот эффект, вероятно, во многом следствие мембраностабилизирующего действия таурина, позволяющего нормализовать транспортные потоки на уровне плазматических мембран, и в итоге, улучшить энергетическое состояние клетки [4].

Поскольку одним из негативных проявлений интоксикации динилом является психическая нестабильность и нарушение вегетативных функций со стороны центральной нервной системы, особый интерес представляют данные, полученные при исследовании отделов мозга животных — стриатума, среднего мозга,

гипоталамуса. Это основные отделы мозга, отвечающие за реализацию функций вегетативной нервной системы, а также синтез нейропептидов. Нами обнаружено, что, несмотря на достаточно ограниченный спектр выявленных изменений, у животных, получавших динил (уменьшение концентрации тирозина в среднем мозге, снижение содержания аспарагиновой кислоты и увеличение уровня тормозного нейромедиатора серотонина в стриатуме, низкое содержание аспартата и увеличение количества цистеиновой кислоты в гипоталамусе), эти сдвиги могут иметь самое непосредственное отношение к клиническим проявлениям интоксикации динилом [1, 3]. Курсовое введение таурина одновременно с динилом вызывало существенные изменения в содержании нейроактивных соединений в исследованных отделах мозга (таблица 2). Так, в среднем мозге наблюдалось снижение концентрации предшественника серотонина — 5-гидрокситриптофана, и напротив, повышение уровня одного из метаболитов тирозина — диоксифенилуксусной кислоты.

В стриатуме животных, получавших таурин, нормализовалось содержание серотонина и одновременно снижалось количество одного из метаболитов катехоламинов — гомованилиновой кислоты. Однако при этом основные изменения введение таурина вызывало в спектре нейроактивных аминокислот: в стриатуме значительно повышались концентрации возбуждающих нейротрансмиттерных аминокислот — глутамата, аспартата, а также аспарагина и глутамина. При этом в несколько раз выше контрольных значений регистрировались концентрации гистидина и треонина (таблица 2). В данном отделе мозга введение таурина повышало и уровень субстрата NO-синтаз — аргинина (в среднем на 45%). Как результат введения таурина можно, вероятно, рассматривать повышение содержания в ткани мозга фосфоэтанолamina — компонента фосфолипидов клеточных мембран. Известно, что между таурином и фосфоэтанолamiном существуют тесные корреляционные взаимоотношения, во многом зависящие от гормонального статуса животных. Таурин является высокоактивным модулятором гормональной активности и при введении в организм оказывает адреналин-сберегающее действие, блокируя секрецию кортикостероидов в активной форме из хромаффинных депо [2].

В гипоталамусе после введения таурина, напротив, наблюдается снижение уровня возбуждающих аминокислот (глутамата, аспартата, а также их производных — аспарагина и глутамина). Одновременно уровень гистидина в гипоталамусе был выше контрольных значений, а со-

держание треонина, в противоположность данным, полученным в стриатуме, достоверно снижалось. Уровень фосфоэтанолamina как в стриатуме, так и в гипоталамусе увеличивался у животных, получавших таурин. Важным представляется и наблюдаемое падение уровня β -аланина, что, возможно, позволяет оптимизировать вне- и внутриклеточные потоки таурина и сопряженно с ним перемещения Ca^{2+} [4, 8].

Таким образом, курсовое введение таурина на фоне интоксикации динилом вызывает существенные сдвиги в концентрациях нейротранс-

миттерных аминокислот, биогенных аминов, их метаболитов и предшественников. Эти изменения специфичны для определенных регионов мозга и в некоторых из них (стриатум, гипоталамус) носят разнонаправленный характер. В целом, анализ полученных данных позволяет сделать заключение об адаптивном значении наблюдаемых изменений, подтверждающих уже известную роль таурина в качестве соединения, оптимизирующего течение метаболических процессов в условиях метаболического стресса как в периферических тканях, так и на уровне ЦНС.

Таблица 1 — Изменение концентраций свободных аминокислот и их производных в плазме крови и тканях крыс после хронического введения динила и дополнительного назначения на этом фоне таурина

Показатели	Контроль	Динил	Динил + таурин
Плазма крови, мкмоль/л			
Аспаргат	27,14 ± 3,39	33,94 ± 3,71	24,00 ± 1,16†
Треонин	141,49 ± 7,18	189,56 ± 7,9*	170,96 ± 7,99*
Серин	289,1 ± 17,6	369,3 ± 13,4*	335,2 ± 17,2
Глутамин	2710 ± 132	3460 ± 211*	3284 ± 121*
Пролин	379,4 ± 85,3	488,1 ± 61,4	297,6 ± 37,7†
Аланин	821,1 ± 32,3	992,9 ± 43,9*	884,4 ± 55,6
Этаноламин	39,62 ± 8,79	45,7 ± 11,0	12,76 ± 3,88*†
Лизин	167,2 ± 18,6	216,8 ± 19,9	139,5 ± 15,6†
Сумма аминокислот и их производных	5416 ± 235	6724 ± 253*	6051 ± 222
Печень, нмоль/г			
Глутамин	4760 ± 220	5778 ± 366*	5349 ± 397
Фенилаланин	67,01 ± 5,07	92,48 ± 4,12*	91,30 ± 6,34*
β -аланин	224,4 ± 20,4	237,03 ± 9,22	196,2 ± 16,3†
Лизин	241,6 ± 35,3	279,2 ± 29,8	182,9 ± 28,1†
Сердце, нмоль/г			
Глутамин	4799 ± 544	4992 ± 268	6039 ± 359†
Пролин	277,1 ± 31,7	364,3 ± 48,0	732 ± 119*†
Тирозин	107,88 ± 6,54	110,1 ± 13,8	44,76 ± 7,84*†
Фенилаланин	65,67 ± 4,71	79,61 ± 5,87	62,19 ± 2,65†
β -аланин	150,8 ± 20,7	232,2 ± 23,0*	292,8 ± 22,5*
Лизин	250,3 ± 24,5	326,3 ± 42,3	216,8 ± 24,8†

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группой «контроль», † — $p < 0,05$ при сравнении с группой «динил».

Таблица 2 — Изменения содержания нейроактивных аминокислот, биогенных аминов и их метаболитов в отделах мозга крыс, нмоль/г

Показатели	Контроль	Динил	Динил + таурин
Средний мозг			
Тирозин	69 ± 4	51 ± 4*	46 ± 10
5-гидрокситриптофан	2,2 ± 2,01	0,19 ± 0,007	0,16 ± 0,007†
Диоксифенилуксусная кислота	3,35 ± 0,359	2,40 ± 0,276	4,02 ± 0,535†
Стриатум			
Цистеиновая кислота	5,9 ± 0,96	11,4 ± 3,47	18,7 ± 4,52*†
Аспарагиновая кислота	376 ± 13	525 ± 140	1280 ± 66*†
Глутаминовая кислота	3883 ± 204	4980 ± 892	9642 ± 410*†
Аспарагин	43,2 ± 4,32	27,3 ± 4,90*	79 ± 20,24†
Глутамин	765 ± 73	869 ± 81	1115 ± 49*†
Гистидин	3,9 ± 1,19	18,9 ± 9,47	49 ± 2,33*†

Окончание таблицы 2

Показатели	Контроль	Динил	Динил + таурин
Треонин	94 ± 19	217 ± 58	728 ± 30*†
Фосфоэтанолламин	383 ± 80	480 ± 122	1190 ± 76*†
Аргинин	80 ± 3,5	83 ± 5,8	117 ± 6,5*†
Гомованилиновая кислота	2,9 ± 0,26	2,3 ± 0,24	1,9 ± 0,15*†
Серотонин	1,75 ± 0,17	2,62 ± 0,35*	2,49 ± 0,51†
Гипоталамус			
Цистеиновая кислота	19,6 ± 0,94	31,5 ± 3,27	33,8 ± 2,88*†
Аспарагиновая кислота	1533 ± 49	1517 ± 41	1386 ± 39*†
Глутаминовая кислота	8571 ± 259	9419 ± 349	8158 ± 348†
Аспарагин	143 ± 3	120 ± 8*	84 ± 4*†
Глутамин	1768 ± 137	1629 ± 157	1204 ± 73*†
Гистидин	51 ± 3	58 ± 2,8	63 ± 2,2*†
Глицин	728 ± 39	679 ± 26	632 ± 14*†
Треонин	746 ± 45	719 ± 45	604 ± 27*†
Фосфоэтанолламин	1321 ± 54	1467 ± 46	1614 ± 76*†
β-аланин	56 ± 3	61 ± 5	41 ± 2*†

Примечание: * — $p < 0,05$ при сравнении с группой «контроль», † — $p < 0,05$ при сравнении с группой «динил».

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Березин, В. И. Некоторые вопросы гигиены труда при работе с динилом и малеиновым ангидридом / В. И. Березин // Гигиена труда и профессиональные заболевания. — 1968. — № 11. — С. 38–39.
2. Информативность таурина и фосфоэтанолламина в модельных ситуациях гипо- и гиперкортицизма / Л. И. Нефедов [и др.] // Вести Академии наук Беларуси — сербиол. наук. — 1993. — № 4. — С. 37–41.
3. Капустина, А. Н. Два случая острой интоксикации динилом / А. Н. Капустина // Гигиена труда и профессиональные заболевания. — 1983. — № 3. — С. 50–51.
4. Шейбак, Л. Н. Биологическая роль таурина в организме млекопитающих / Л. Н. Шейбак, В. М. Шейбак // Медицинские новости — 2005. — № 10. — С. 15–18.
5. Hammer, M. B-alanine but not taurine can function as an organic osmolyte in preimplantation mouse embryos cultured from fer-

tilized eggs / M. Hammer, J. Baltz // Mol. Reprod. Dev. — 2003. — Vol. 66. — P. 153–161.

6. Holecsek, M. Glutamine and branched-chain amino acids—practical importance of their metabolic relations / M. Holecsek // Cas Lek Cesk. — 2005. — Vol. 144, № 1–3. — P. 9–12.

7. Kerai, M.D.J. The effect of taurine depletion by β-alanine treatment on the susceptibility to ethanol-induced hepatic dysfunction in rats / M.D.J. Kerai, C.J. Waterfield, S.H. Kenyon // Alcohol. Alcoholism. — 2001. — Vol. 36, № 1. — P. 29–38.

8. Modi, P. Myocardial taurine, development and vulnerability to ischemia / P. Modi, M.-S. Suleiman // Amino Acids. — 2004. — Vol. 26. — P. 65–70.

9. Regulation of taurine transport at the blood-brain barrier by tumor necrosis factor-α, taurine and hypertonicity / Y. Kang [et al] // J. Neurochem. — 2002. — V. 83. — P. 1188–1195.

Поступила 16.05.2007

УДК 616.37-031.3-092.9

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ ГИПОТЕРМИИ (экспериментальное исследование)

С. В. Дорошкевич Е. Ю. Дорошкевич

Гомельский государственный медицинский университет

Изучено в эксперименте криовоздействие на поджелудочную железу белой крысы. Выявлены особенности альтеративных, дисциркуляторных и регенерационных процессов.

Ключевые слова: поджелудочная железа, гипотермия, патоморфология.

STRUCTURAL CHANGES IN A PANCREAS AT LOCAL HYPOTHERMIA (experimental research)

S. V. Doroshkevich, E. Yu. Doroshkevich

Gomel State Medical University

We investigated cryoinfluence on a pancreas of a white rat in the experiment. Features of alterative, discirculatory and reclaiming processes are revealed.

Key words: pancreas, hypothermia, pathomorphology.