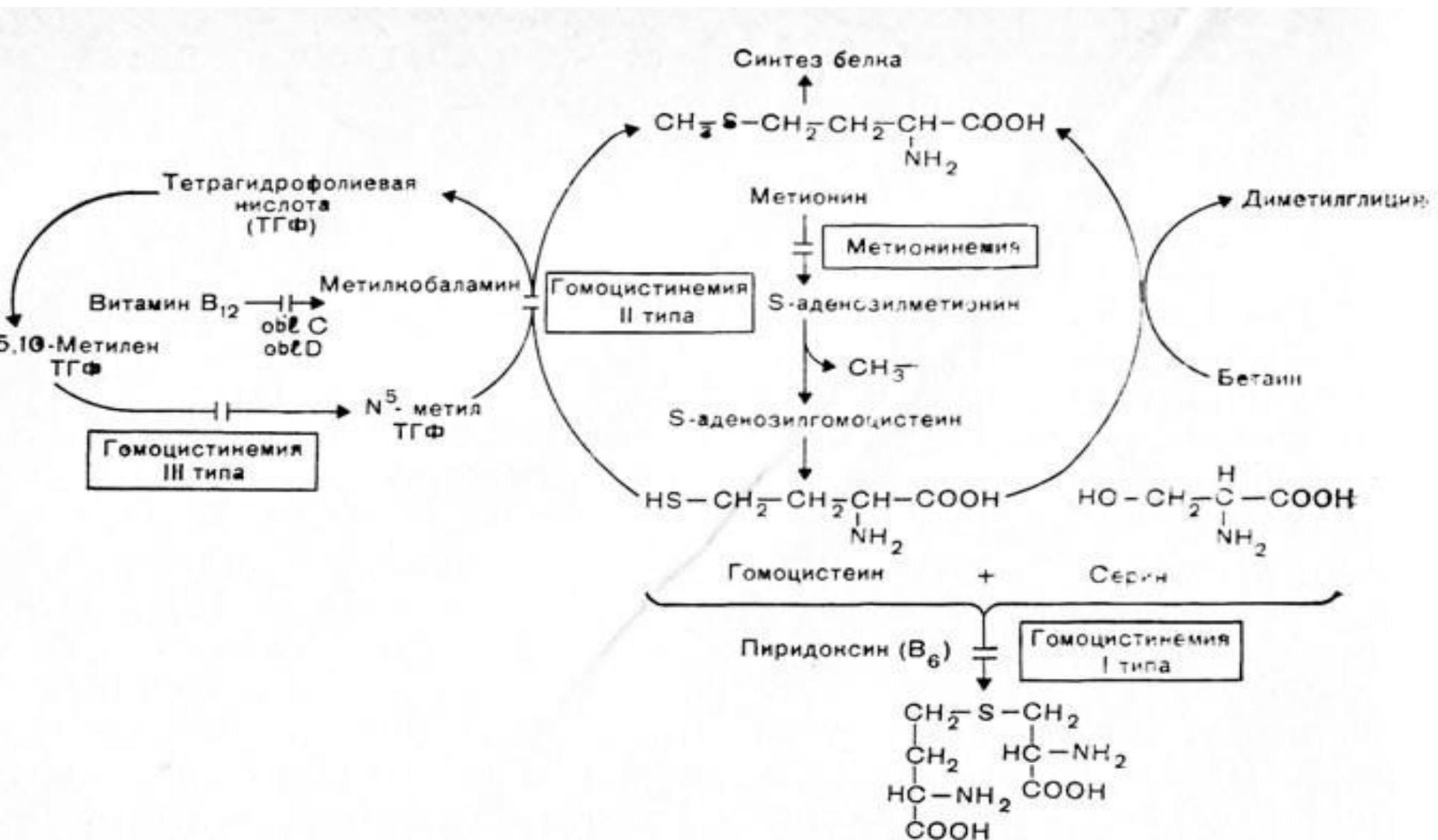


**Пул свободных аминокислот и
родственных соединений в плазме
крови при экспериментальной
недостаточности кровообращения**

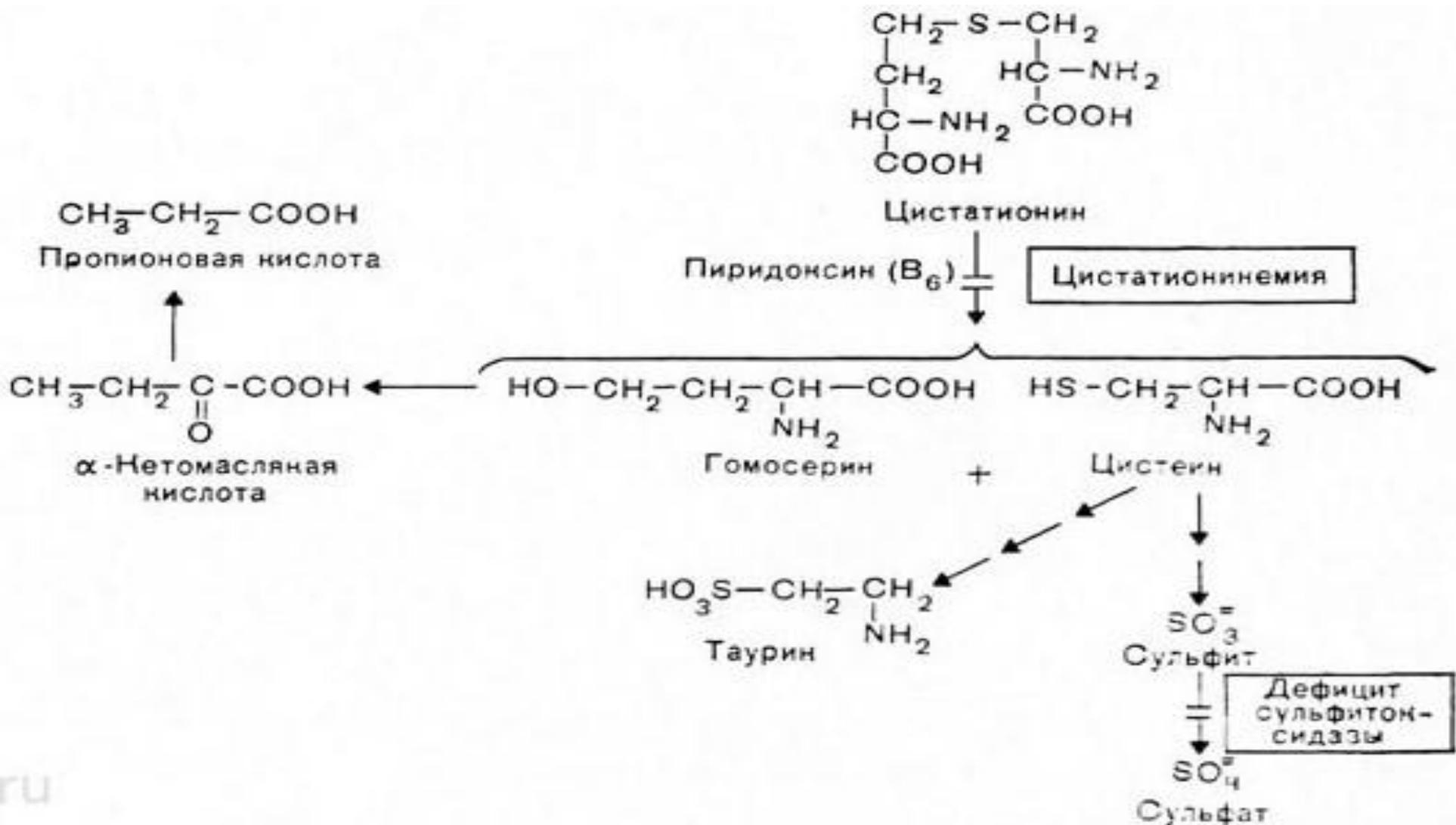
Актуальность исследования

- Метаболические расстройства, связанные с фондом (пулом) аминокислот, играют значимую роль в формировании поражений миокарда при гипоксии и ишемии.
- Актуальны:
 - расшифровка механизмов метаболических расстройств при недостаточности кровообращения,
 - поиск диагностических и прогностических маркеров прогрессирования и эффективности лечения,
- Сердечно-сосудистые заболевания сопровождаются изменениями в пуле **серосодержащих аминокислот**.
- Превращения **серосодержащих аминокислот** сопряжены с:
 - обменом других аминокислот,
 - синтезом гормонов, медиаторов, глутатиона,
 - конечный продукт метаболизма – **таурин** – является нейромедиатором/модулятором в ЦНС. Его содержание весьма высокое в сердце.
 - **Гомоцистеин** – цитотоксичное соединение, его уровень в плазме рассматривают как диагностически информативный показатель при сердечно-сосудистых заболеваниях

Превращения серосодержащих аминокислот



Превращения серосодержащих аминокислот



Актуальность исследования

- Предметом нашего интереса является

- транссульфурирование гомоцистеина,
- синтез таурина.

имеются данные о связи метилирования ДНК и полиморфизма цистатионин- β -синтазы, антиоксидантных свойствах таурина в сердечной мышце.

- **Триптофан** является предшественником серотонина, мелатонина, бета-карболинов, кинуренина
- изменениями серотонинергических функций сопровождаются
 - заболевания сердца и сосудов,
 - патология ЦНС, прежде всего, сосудистого генеза,
 - интоксикации,
 - острый и хронический стресс,
 - деградация биогенных аминов вносит вклад в продукцию прооксидантов в сердце.

Цель работы

оценка влияния недостаточности кровообращения на показатели пула свободных аминокислот и низкомолекулярных серосодержащих соединений в крови

Материалы и методы 150 крыс-самцов (140-160 г в начале эксперимента)

- Недостаточность кровообращения: сужение брюшной аорты 12 нед

Группы животных

- 1 – интактный контроль
- 2 – ложнооперированный контроль
- 3 – недостаточность кровообращения (НК) 12 нед, спираль 1 мм
- 4 – недостаточность кровообращения (НК) 12 нед, спираль 0,7 мм

Модель недостаточности кровообращения

искусственное сужение просвета брюшной аорты выше места отхождения почечных артерий путем наложения ограничивающей просвет аорты металлической скобы (спирали) 0,7 мм



- воспроизводит изометрическую гиперфункцию сердца с выраженной гипертрофией
- воспроизводит недостаточность кровообращения по гемодинамическим показателям [Л.М. Непомнящих, 1986]
- соответствуют наблюдающейся при артериальной гипертензии, аортальном стенозе
- Наиболее стабильная фаза длительной компенсации наблюдается у животных после 1-2 мес.
- В результате роста крыс степень сужения просвета брюшной аорты достигает 2,5–3-кратного, впоследствии оставаясь относительно стабильной.

Определение аминокислот

специально оптимизированной версией метода обращенно-фазной ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией OPA-3-MPA и детектированием по флуоресценции

- метаболиты серосодержащих аминокислот (цистатинин, цистеат, цистеинсульфинат)
- метилгистидины
- бета-аланинсодержащие дипептиды (карнозин и ансерин)
- альфа-аминоадипиновая кислота

Определение гомоцистеина и показателей гамма-глутамильного цикла

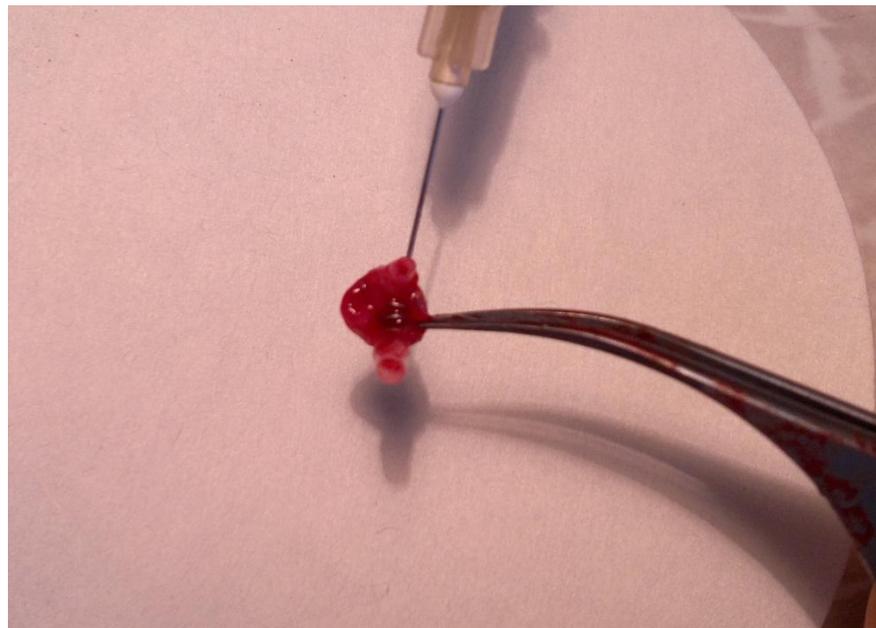
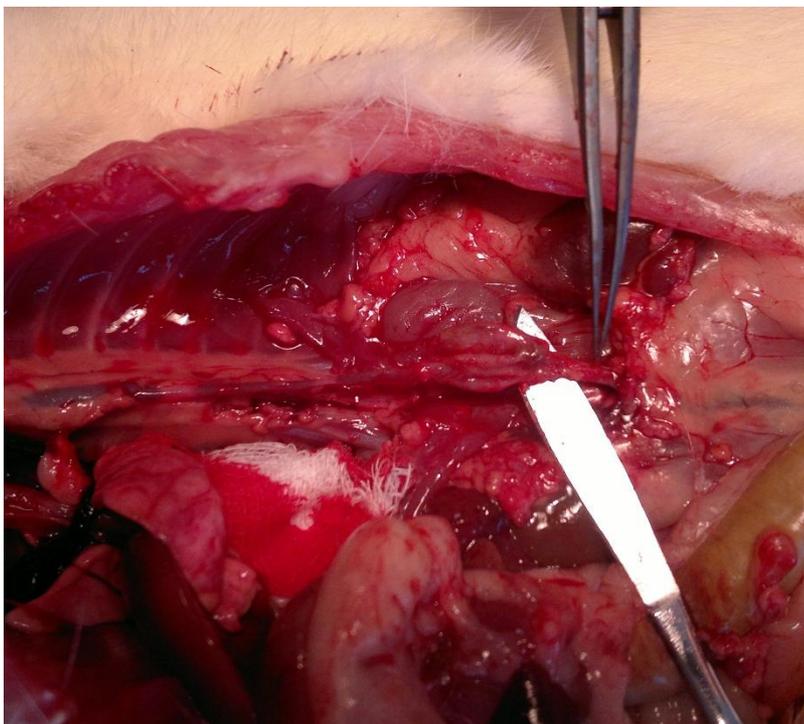
Оптимизированным методом обращенно-фазной ВЭЖХ с с предколоночной дериватизацией SBD-F и детектированием по флуоресценции

Тиолы восстанавливались трис-карбоксиэтилфосфином

- цистеин, гомоцистеин
- Гамма-глутамилцистеин, цистеинилглицин, глутатион (общий)

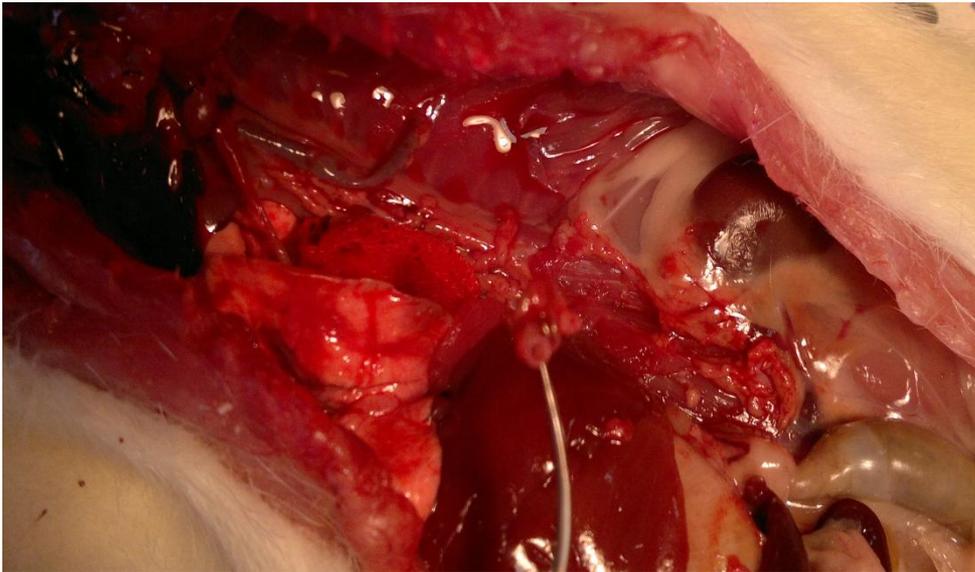
Недостаточность кровообращения

- У животных, которым сужали просвет брюшной аорты до 1 мм, возрастала абсолютная, но не относительная масса сердца по отношению к интактному контролю.
- у 3 животных имело место развитие аневризм брюшной аорты,
- смешанный механизм развития сердечной недостаточности (изометрическая + изотоническая гиперфункция), для которой менее характерно развитие выраженной гипертрофии миокарда



Недостаточность кровообращения

- спираль диаметром 0,7 мм: через 13 нед развивалась выраженная гипертрофия сердца ($p < 0,0001$).
- ни у одного животного не развилась аневризма аорты
- более «чистое» воспроизведение изометрической перегрузки сердца.
- Увеличение относительной массы сердца относительно контроля 43%.



Большой просвет аорты выше спирали - гипертензия (ренин-ангиотензин-альдостероновый механизм)

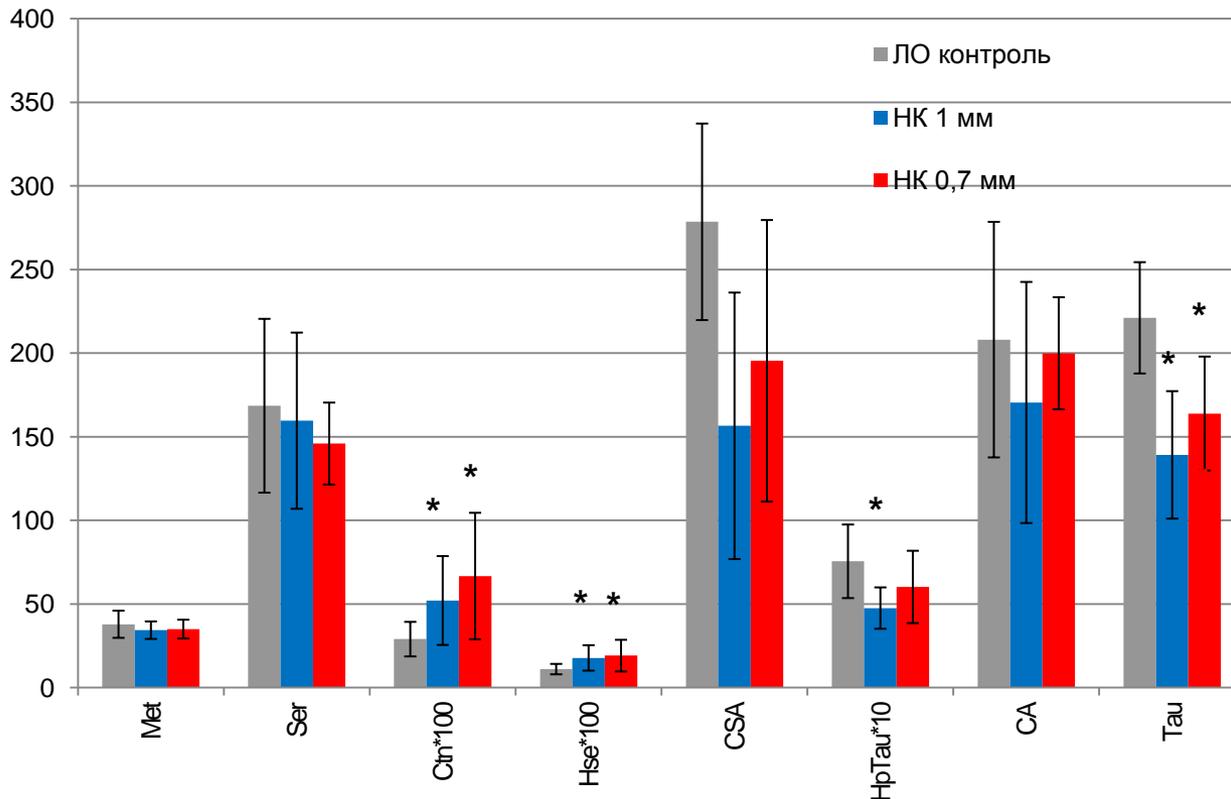
Гипертрофия сердца

	Интактный контроль n=8	ложнооперированный контроль n=8	спираль 1 мм n=7	спираль 0,7 мм n=8
масса тела, г	348,750 ± 12,703	357,500 ± 19,616	410,00 ± 6,546*†	343,750 ± 8,851
масса сердца, г	1,1275 ± 0,03172	1,2288 ± 0,05929	1,447 ± 0,0771*†	1,598 ± 0,0624*†
мс/мт, %	0,326 ± 0,014	0,345 ± 0,0089	0,352 ± 0,0152	0,465 ± 0,016*†

* p<0,05 по отношению к контролю

† p<0,05 по отношению к группе ложнооперированных животных

Эффекты недостаточности кровообращения на фонд свободных серосодержащих соединений в плазме крови крыс



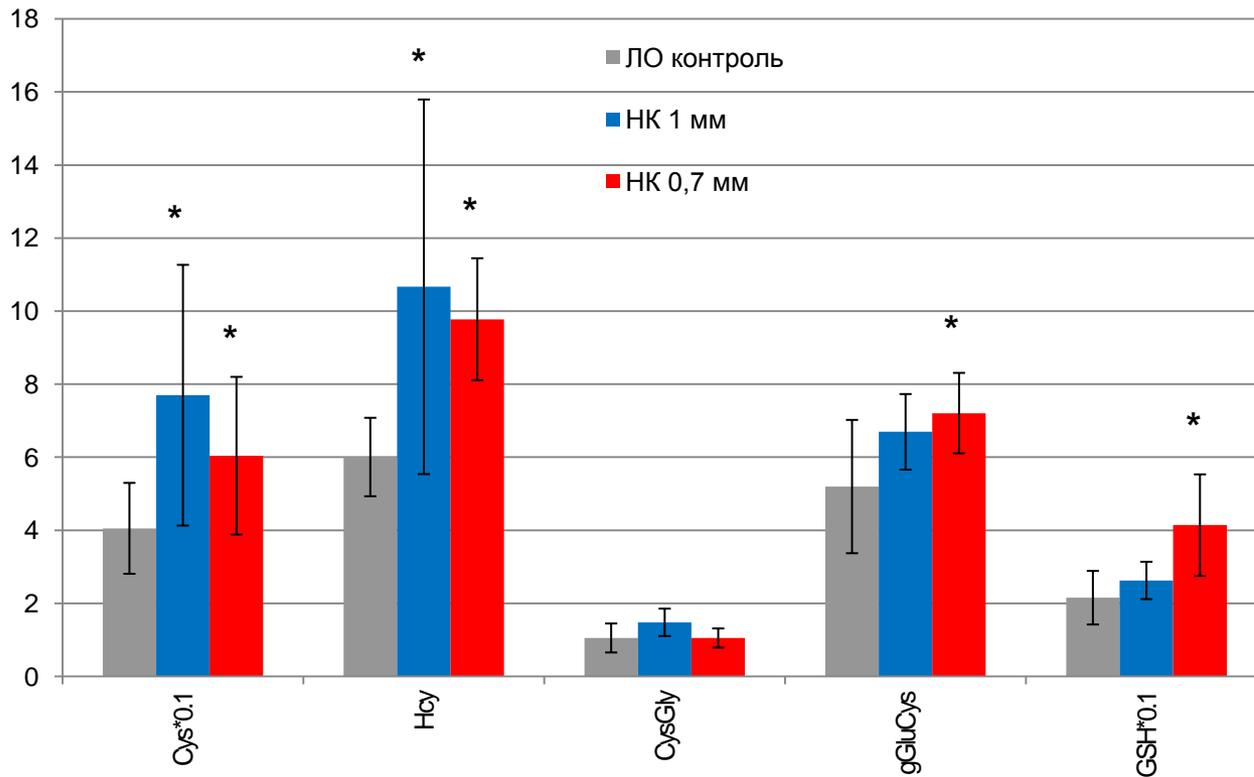
спираль 1 и 0,7 мм:
повышение уровня
цистатионина, **снижение** –
таурина и гипотаурина

Вероятно снижение
скорости синтеза таурина на
уровне превращения
цистеина

НК сопровождается
дефицитом таурина,
наиболее вероятно,
связанным с торможением
превращений цистеина на
фоне активного
транссульфурирования.

* - $p < 0.05$ по отношению к ложнооперированному контролю

Эффекты недостаточности кровообращения на уровни общих аминотиолов в плазме крови крыс



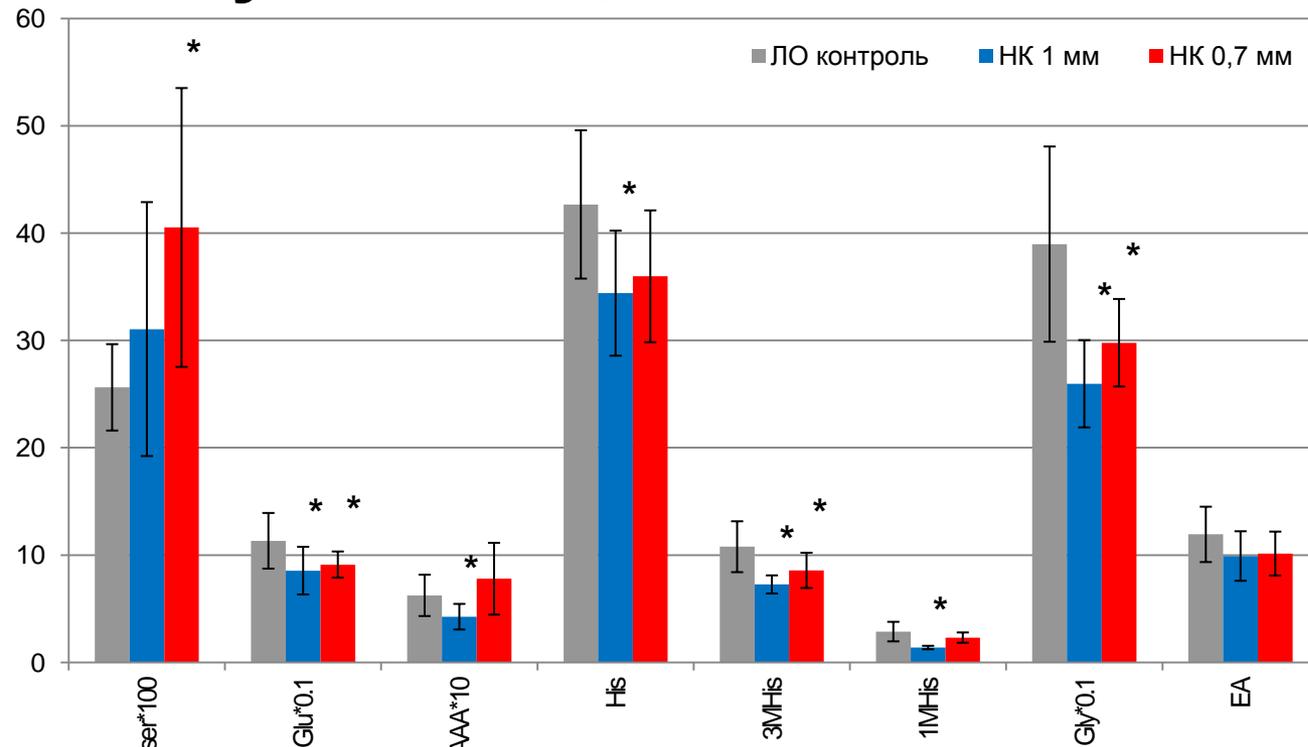
* - $p < 0.05$ по отношению к ложнооперированному контролю

Спираль 1 мм:
выраженная
гипергомоцистеинемия,
повышение уровня
цистеина.

Спираль 0,7 мм: то же +
повышение уровней **гамма-
глутамилцистеина** и
глутатиона.

недостаточность таурина
формируется на уровне
превращений цистеина на
фоне активного
транссульфурирования
(повышение уровней
цистеина и цистатионина).
**Повышение активности
гамма-глутамильного
цикла** (фаза ресинтеза
глутатиона).

Эффекты недостаточности кровообращения на пул свободных аминокислот плазмы



Спираль 1 мм

снижение содержание глутамата, гистидина и метилгистидинов, глицина, бета-аланина и бета-аминоизомасляной кислоты,

повышение - цитруллина.

снижение скорости протеолиза мышечных белков

Спираль 0,7 мм

снижение уровней бета-аланина и глицина, 3-метилгистидина, глутамата. **повышение** - фосфосерина

Возможны изменения в функционировании систем синтеза мембранных фосфолипидов.

* - $p < 0.05$ по отношению к ложнооперированному контролю

При недостаточности кровообращения (1 мм) снижение уровня **α -аминоадипиновой кислоты**.

- интермедиат превращений лизина
- возможно, маркер нарушения гомеостаза глюкозы и риска развития диабета
- единственный эндогенный антагонист NMDA-рецепторов
- ингибитор синтеза KYNA в мозге.

Корреляции с гипертрофией миокарда (спираль 0,7 мм)

относительная масса сердца **отрицательно коррелировала** с уровнями:

- **аспарагина, глутамина, метилгистидинов, глицина, таурина, метионина, валина, лейцина и изолейцина, фенилаланина.**
- т.е. с большей степенью гипертрофии миокарда связаны более низкие уровни аминокислот с «мышечным» типом метаболизма (АРУЦ), а также метилгистидинов, выделяющихся при протеолизе мышечных белков
- выбранный срок эксперимента, очевидно, находится в пределах периода устойчивой компенсации (соответствует компенсированной ХСН у человека), но имеет черты, приближающие к декомпенсации: **положительная корреляции относительная масса сердца и уровня оксализина ($r=0,93$).**

Заключение

- Экспериментальная недостаточность кровообращения вызывает аминокислотный дисбаланс в плазме крови, включающий:
 - гипергомоцистеинемию,
 - снижение уровней гистидина и метилгистидинов,
 - снижение уровня таурина при неизменном уровне предшественников и на фоне активного транссульфурирования,
 - активацию гамма-глутамильного цикла и обогащение пула аминокислот с разветвленной углеводородной цепью.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ