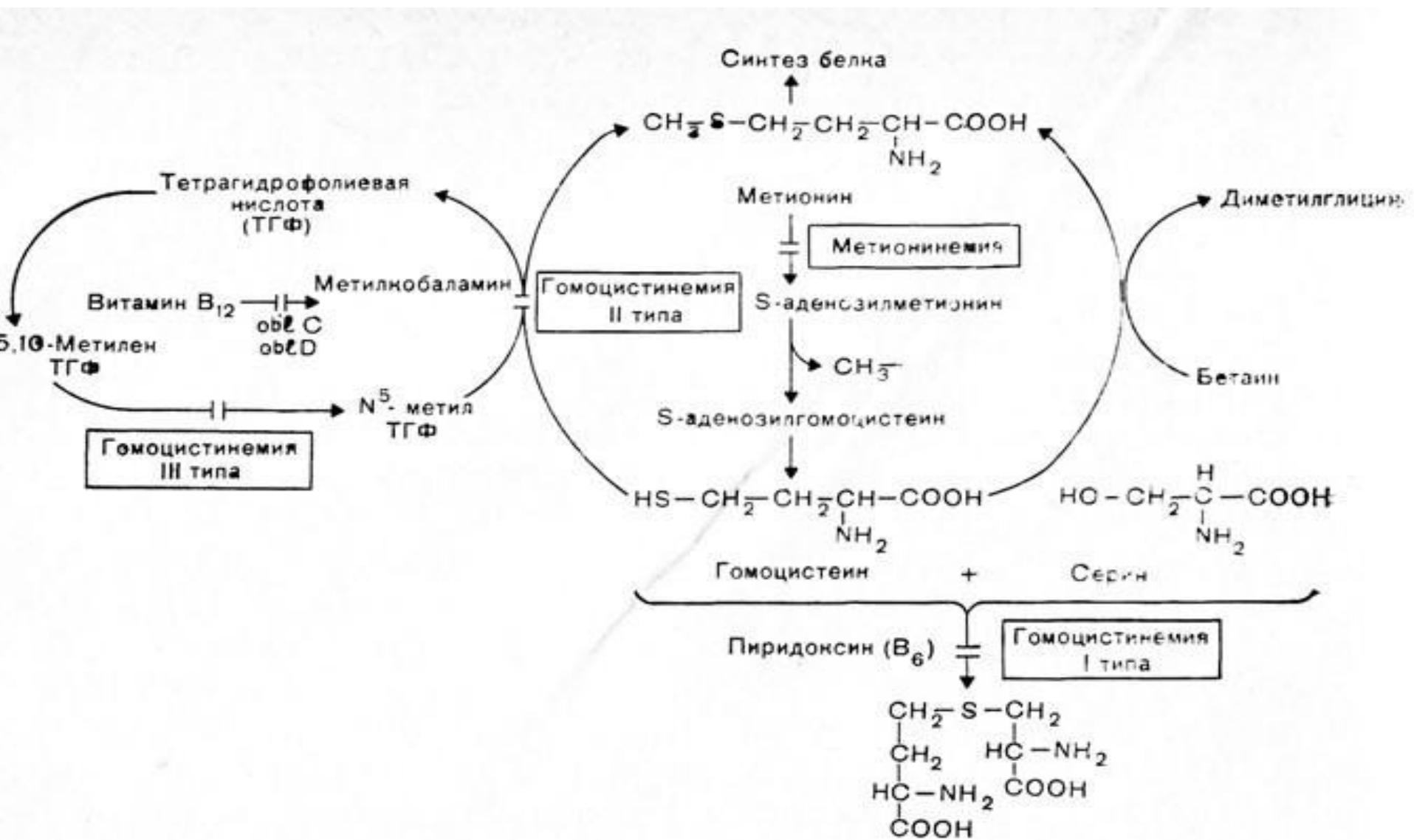


**Пул свободных аминокислот и  
родственных соединений в плазме  
крови при экспериментальной  
недостаточности кровообращения**

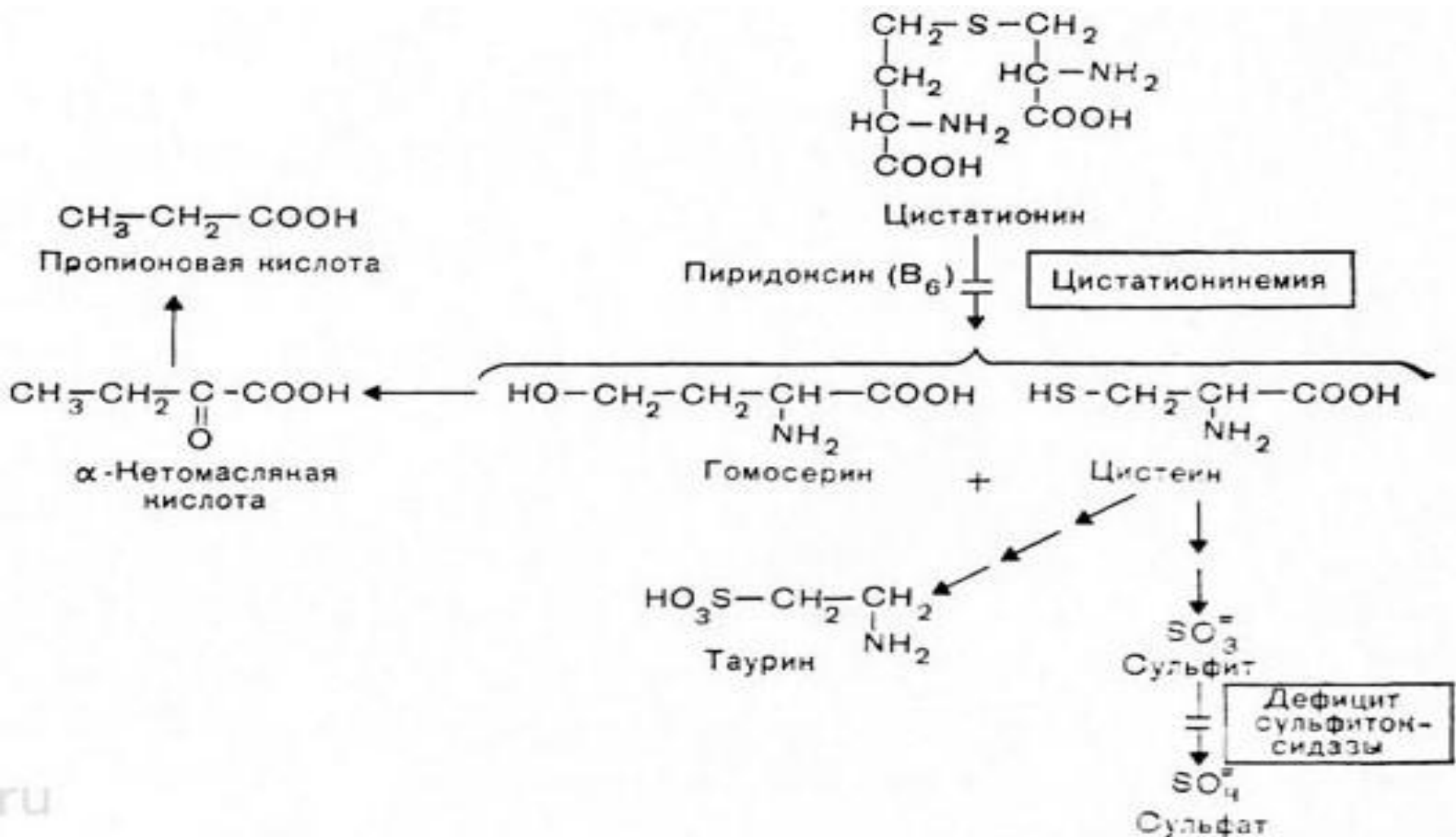
# Актуальность исследования

- 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- $\beta$ -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)

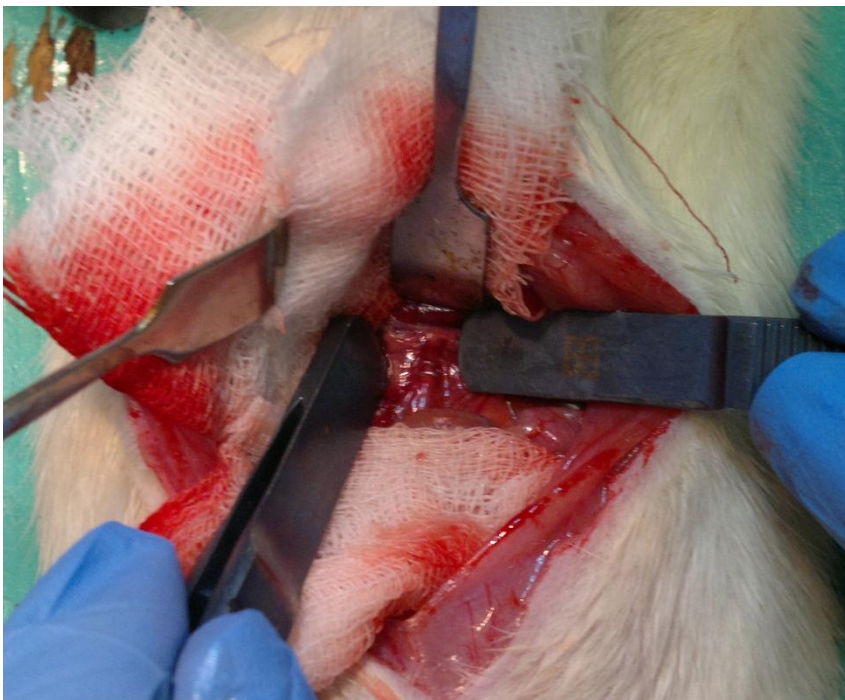
- Недостаточность кровообращения: сужение брюшной аорты 12 нед

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

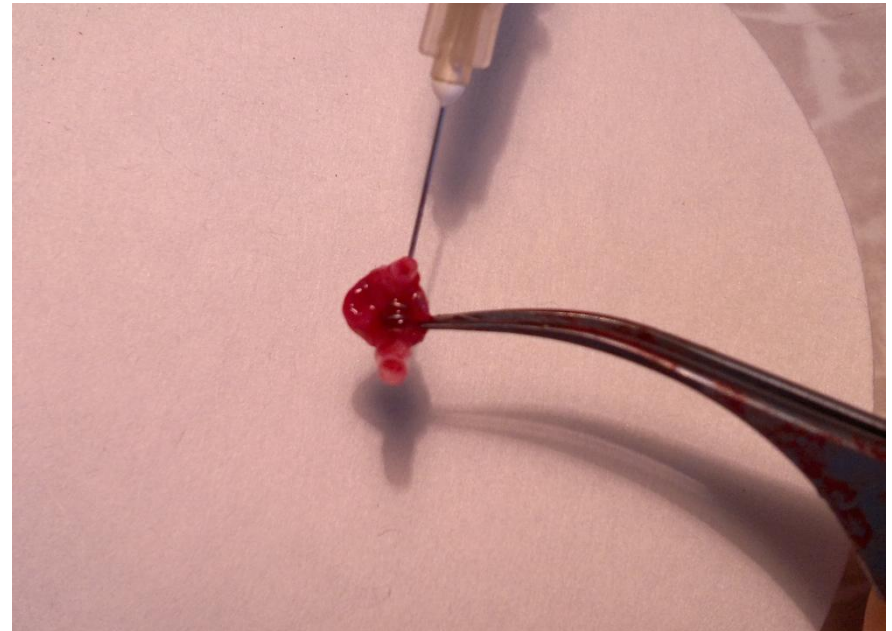
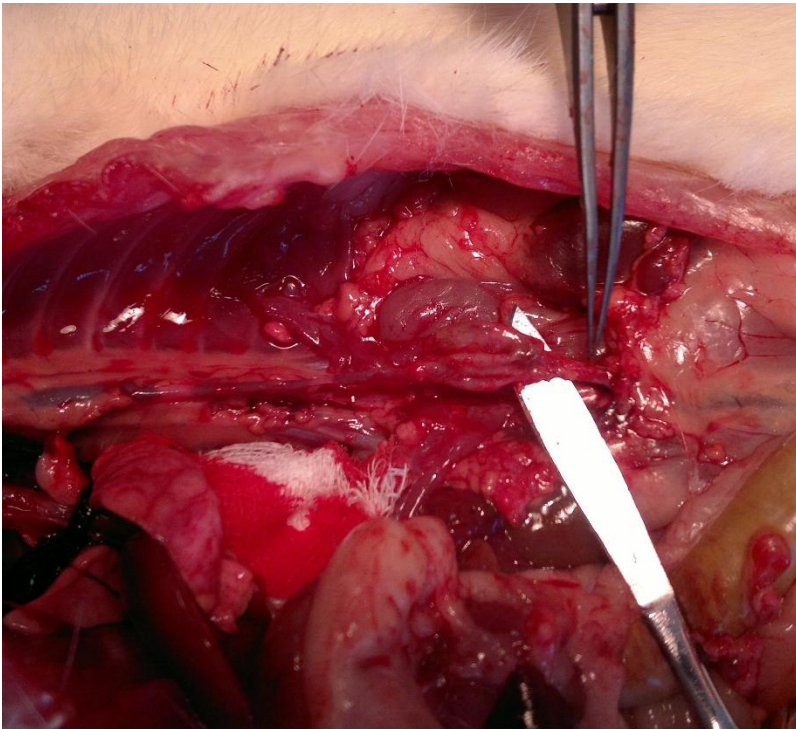
Тиолы восстанавливались трис-карбоксиэтилфосфином

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



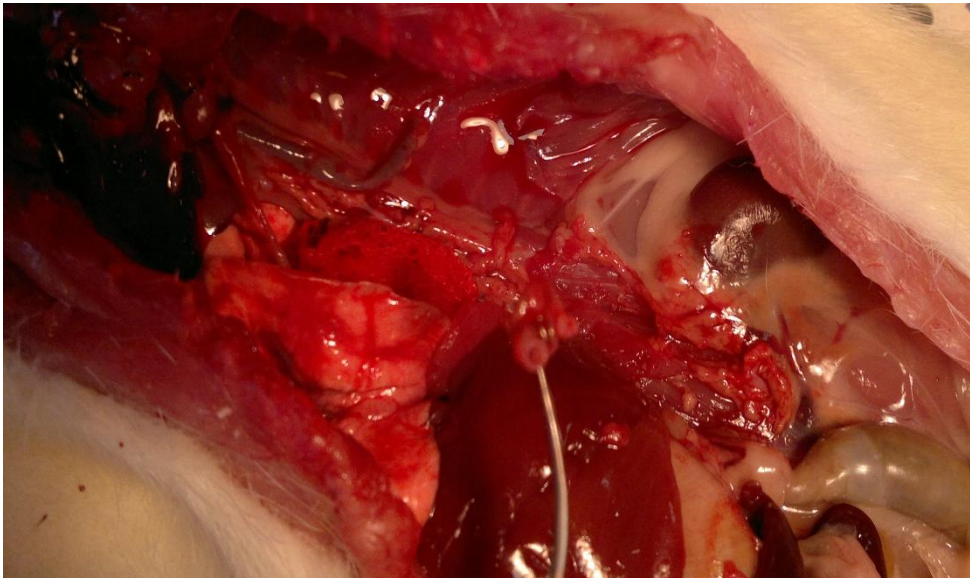
# Недостаточность кровообращения

- 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)

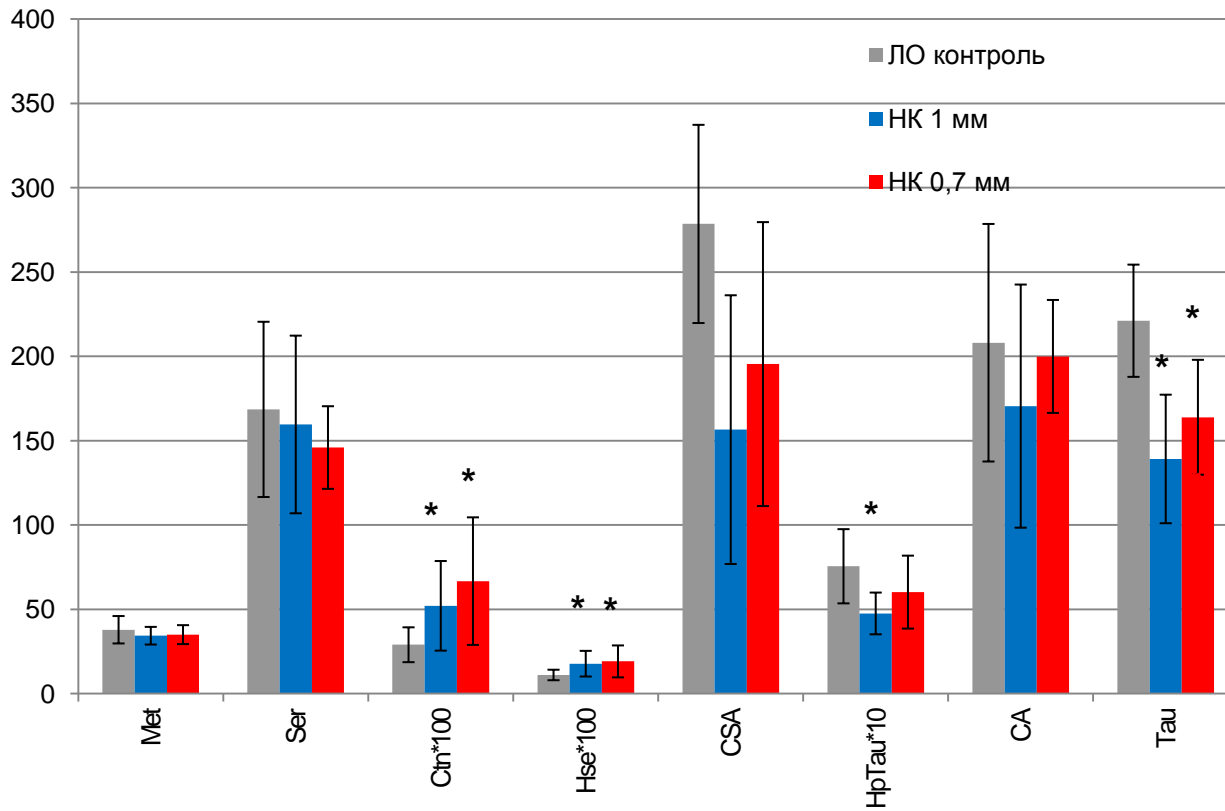
# Гипертрофия сердца

	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	<b>1,447 ± 0,0771*†</b>	<b>1,598 ± 0,0624*†</b>
мс/мт, %	0,326 ± 0,014	0,345 ± 0,0089	0,352 ± 0,0152	<b>0,465 ± 0,016*†</b>

\* 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



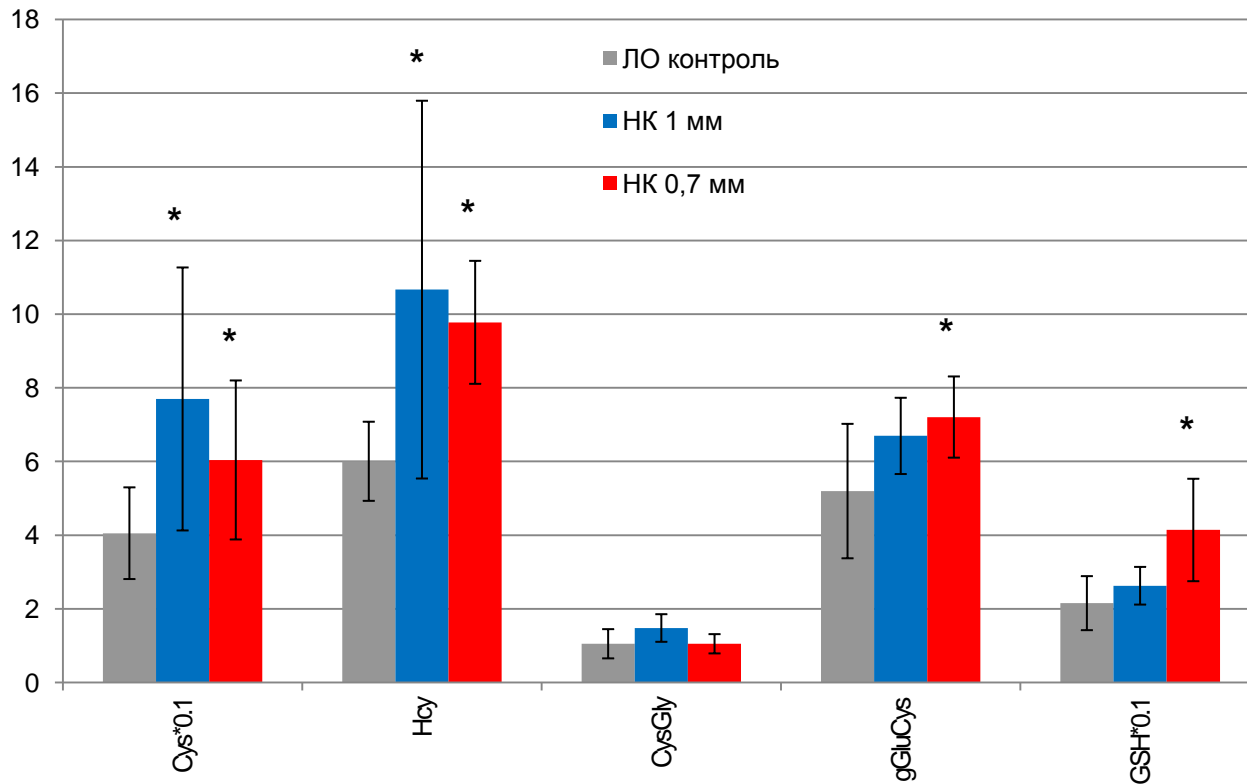
спираль 1 и 0,7 мм:  
повышение уровня  
цистатинина, **снижение** –  
таурина и гипотаурина

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 аминокислот в плазме крови крыс



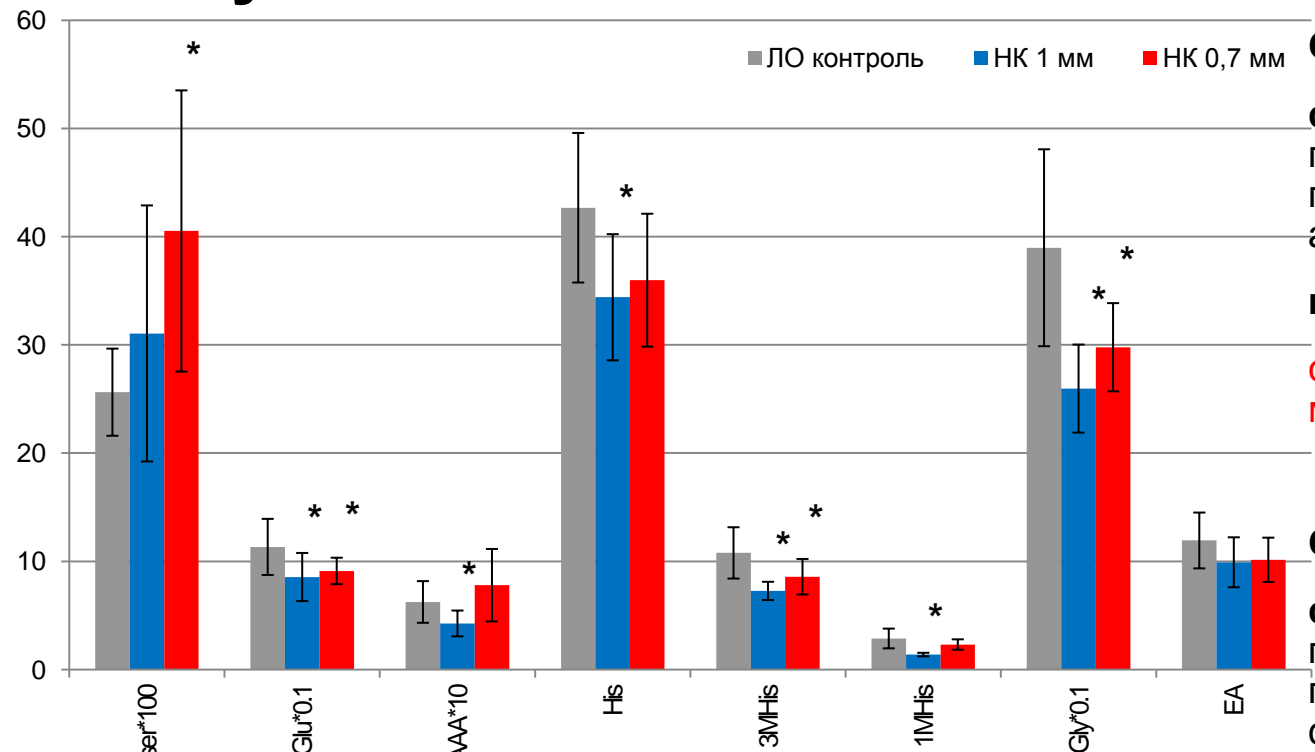
\* -  $p < 0.05$  по отношению к ложнооперированному контролю

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  **$\alpha$ -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**