УДК 159.96.07 + 616-092 + 612.821 + 61:577.1
ББК 28.672

СООТНОШЕНИЕ МЕЖДУ СОДЕРЖАНИЕМ МОНОАМИНОВ-НЕЙРОТРАНСМИТТЕРОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ И ПОКАЗАТЕЛЯМИ МИКРОСОМАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ В ПЕЧЕНИ КРЫС ЧЕРЕЗ 10 ДНЕЙ ПОСЛЕ ЗАВЕРШЕНИЯ ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО СТРЕССА

ЛАПШИН М.С. [1], АЛЛИЛУЕВ А.В. [1], ФЕДОРОВ С.А. [2], ПОПОВА Д.А. [1], ПОПКОВ П.Н. [2], ПЛАТКОВСКИЙ П.О. [1], КОМЕЛЬКОВА М.В. [1, 2], ЦЕЙЛИКМАН О.Б. [1]
[1] ФГАОУ ВО ЮУрГУ (НИУ), Челябинск, Россия
[2] ФГБОУ ВО ЮУГМУ Минздрава России, Челябинск, Россия
e-mail: mkomelkova@mail.ru

Аннотация
У крыс спустя 10 суток после завершения повторных стрессорных воздействий, вызванных запахом хищника, наблюдаются нарушения поведенческой активности в виде снижения времени в открытых рукавах и повышения времени в закрытых рукавах лабиринта. Одновременно наблюдалось повышение содержания норадреналина и дофамина. У стрессированных животных также наблюдалось снижение микросомального окисления, что проявлялось в снижении содержания цитохрома Р450 и цитохрома b5 в печени.

Ключевые слова: *стресс, тревожность, катехоламины, микросомальное окисление.*

Актуальность. Основные нейрохимические сдвиги при синдроме посттравматических стрессорных расстройств (ПТСР) заключаются в повышении содержания норадреналина и дофамина при одновременном снижении содержания серотонина в различных структурах головного мозга [6]. Подобный дисбаланс нейротрансмиттеров обусловливает появление таких симптомов ПТСР, как повышенная возбудимость, тревожность, ночные кошмары, вспышки гнева, агрессивность. К сожалению, фармакологические препараты, используемые для коррекции ПТСР мало эффективны [3]. Подавляющее большинство используемых для коррекции ПТСР препаратов, относящихся к ингибиторам обратного захвата серотонина, транквилизаторов и анксиолитиков подвергаются биотрансформации в печени при участии цитохром Р450-зависимых монооксигеназ. В свою очередь моноамины-нейротрансмиттеры обладают способностью регулировать микросомальное окисление в печени. На основании экспериментальных данных, продемонстрировавших активацию цитохром Р450-зависимых монооксигеназ в условиях разрушения дофаминергических, серотонинергических и норадренергических ядер, было сделано заключение о способности данных нейротрансмиттеров вызывать подавление активности микросомального окисления в печени.

В современных исследованиях, связанных с экспериментальным ПТСР, основной акцент ставится на сопоставление между поведенческими расстройствами и изменениями в головном мозге. К сожалению, при этом не учитываются особенности микросомального окисления в печени несмотря на то, что изучение именно этого аспекта ПТСР поможет понять причины низкой эффективности фармакологической терапии данного заболевания.

Цель работы. Сопоставление между уровнями норадреналина, дофамина и серотонина и состоянием микросомального окисления при экспериментальном ПТСР.

Материалы и методы. Исследование выполнено на белых беспородных лабораторных крысах. ПТСР воспроизводился предъявлением запаха кошачьей мочи в течение 10 дней по 10 минут в сутки ежедневно. Стимул вносился в домашние клетки. После завершения стрессорных экспозиций крысы содержалась в обычных условиях еще в течение 10 суток. Контрольную группу составили интактные животные (n=16), не подвергавшиеся стрессорным воздействиям. Выраженность тревожной симптоматики ПТСР определялась в

тесте приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ).

Анализ содержания норадреналина и дофамина в гомогенатах головного мозга проводили путем детекции флуоресценции продуктов окисления (pH 4,2-6,2) на приборе "ФЛЮОРАТ-02-АБЛФ-Т" с использованием комплектующих светофильтров "1" – 410-520 нм; "2" – 360-520 нм; "3"– 360-410 нм. [1]. В гомогенатах печени определяли концентрации цитохромов Р450 и b5, считающихся интегральными показателями микросомального окисления [4]. Результаты обрабатывались общепринятыми методами дескриптивной статистики и выражались в виде среднеарифметической (M) и её стандартной ошибки (m). Статистически значимые различия определяли с использованием критериев непараметрической статистики: Манна-Уитни (U).

Результаты исследования. На 10 сутки после завершения повторных стрессорных воздействий у животных экспериментальной группы было зарегистрировано наличие повышенной тревожности. Это проявлялось в увеличении у стрессированных животных времени, проводимых в закрытых рукавах при одновременном сокращении времени проведенных в открытых рукавах. В контроле время пребывания в темных рукавах составило 496,00±27,8 секунд (n=8), а в открытых 104,0± 10,45 секунд (n=8). В опыте время пребывания в темных рукавах повысилось и составило 568,5±37,9 секунд (n=8; p<0.05). Соответственно время пребывания в светлых рукавах снизилось и составило 31,5±9,33 (n=8; p<0.05). Одновременно с развитием тревожной симптоматики ПТСР у стрессированных животных наблюдались типичные для этого заболевания нейрохимическими изменениями уровней моноаминов, нейротрансмиттеров, что выражалось в повышении содержания норадреналина и дофамина в головном мозге (табл.). При этом отмечено наличие корреляций между показателями микросомального окисления, содержания моноаминов и поведенческой активностью в тесте крестообразный лабиринт.

В частности, обнаружены обратные корреляции: а) между временем нахождения в открытых рукавах крестообразного лабиринта и содержанием норадреналина в головном мозге и временем проведения в светлом лабиринте (rs=-0,833; p=0.0075); б) между содержанием дофамина в головном мозге и содержанием цитохрома Р450 в печени (rs=-0,718; p=0.015); в) между содержанием норадреналина и содержанием цитохрома Р450 в печени (rs=-0,756; p=0.011).

Кроме того, были обнаружены положительные корреляции между содержанием цитохрома Р450 и временем пребывания в открытых рукавах крестообразного лабиринта (rs=0,628; p=0.035).

Полученные корреляционные зависимости отражают непосредственные связи между содержанием норадреналина и дофамина и развитием тревожной симптоматики ПТСР. Согласно данным литературы, развитие симптомов ПТСР как в клинических условиях, так и при воспроизведении экспериментальных моделей связано с повышенным содержанием норадреналина и дофамина прежде всего в префронтальной коре, гиппокампе, миндалине и в других структурах головного мозга [8]. Как в клинических, так и в экспериментальных исследованиях прослеживаются отчетливые корреляции между повышенным уровнем этих катехоламинов и выраженностью поведенческих симптомов и соматических изменений при ПТСР [5]. С повышенным уровнем норадреналина связывают развитие тревожности, возбудимости [7]. Кроме того, с повышенным уровнем норадреналина связывают вегетативные реакции при ПТСР такие как повышение артериального давления, пульса, частоты сердечных сокращений. У пациентов с ПТСР отмечается увеличение экскреции дофамина и его метаболитов с мочой. Имеются доказательства того, что воздействие стрессоров вызывает высвобождение мезолимбического дофамина, что, в свою очередь, может модулировать реакции гипотоламо-гипофизарно-адреналовой системы. Причем на уровне гипоталамуса активация дофаминергических нейронов ингибирует продукцию кортиколиберина, что приводит в конечном счете к сниженной секрецией глюкокортикоидов надпочечниками. Поэтому для больных ПТСР характерно наличие сниженного уровня кортизола [7]. В свою очередь в следствие сниженного уровня кортикостерона также сужаются возможности ограничения глюкокортикоидами тканевым эффектам цитокинов. Известно, что провоспалительные цитокины выступают в роли

супрессоров микросомального окисления. Полученные результаты свидетельствуют о том, что отдаленным последствием периодических стрессорных воздействий является угнетение микросомального окисления. Это выражалось в снижении уровня цитохрома b5 и цитохрома P450 на 10 сутки после завершения последующего стрессорного эпизода. В настоящее время получены убедительные доказательства вовлеченности катехоламинергических нейронов ЦНС в регуляцию активности цитохром P450 зависимых монооксигеназ в печени. В частности показано, что введение селективных для норадренергических и дофаминергических нейронов токсинов в паравентрикулярное ядро гипоталамуса повышает экспрессию изоформ CYP2C11, CYP3A и CYP2A из чего можно прийти к заключению о способности норадренергических нейронов подавлять экспрессию изоформ цитохрома P450 [2]. Эти исследования отчетливо свидетельствуют о вовлеченности именно паравентрикулярного ядра гипоталамуса в регуляцию активности изоформ цитохрома P450. Причем среди перечисленных изоформ присутствует изоформа CYP3A, метаболизирующая глюкокортикоиды. Принципиально важно, что блокада норадренергических нейронов не привела к изменениям уровня кортикостерона, что говорит о том, что влияние норадренергических нейронов на микросомальное окисление печени не опосредовано через ГГАС. Вполне возможно, что здесь имеет место опосредованное усиление супрессивного действия цитокинов на цитохром P450 зависимые монооксигеназы. Дофаминергическая регуляция активностей цитохром P450-зависимых монооксигеназ затрагивает непосредственно продукцию глюкокортикоидов. Изменения в функционировании дофаминергической системы головного мозга влияют на экспрессию цитохрома P450 (CYP) в печени (CYP1A, CYP2B, CYP2C11 и CYP3A в случае тубероинфундибулярного пути или CYP1A и CYP3A в случае мезолимбического пути), а также в плазме крови концентрация соответствующих гормонов гипофиза у крыс. Таким образом, дофаминергическая система мозга стала важным центром, регулирующим CYP печени. Эта регуляция происходит через дофаминергические D (2) рецепторы гипофиза (активируемые тубероинфундибулярным путем) и D (2) рецепторы ядра accumbens (активируемые мезолимбическим путем и передающие сообщение от прилежащего ядра до паравентрикулярного ядра гипоталамуса. Эти рецепторы прямо или косвенно стимулируют секрецию гормонов, которые активируют ядерные / цитозольные рецепторы, контролирующие гены CYP [9]. Следовательно, стимуляция или ингибирование дофаминергической системы мозга может вызывать изменения в активности CYP физиологического, фармакологического и токсикологического значения, поскольку изоформы CYP, которые регулируются дофаминергической системой, катализируют метаболизм эндогенных веществ (например, стероиды), клинически важные лекарства (например, психотропные средства, антагонисты кальциевых каналов, антибиотики) и токсины.

Скорее всего, угнетение микросомального окисления играет здесь адаптивную роль, так как среди этих изоформ присутствуют изоформы CYP3A1 и CYP3A2, которые вовлечены в реакции 6β-гидроксилирования глюкокортикоидов. Возможно, что путем угнетения микросомального окисления сдерживается тенденция к снижению уровня глюкокортикоидов в условиях ПТСР. Но кроме того, угнетение микросомальных ферментов у человека может затруднять фармакологическую коррекцию ПТСР.

Таблица

Влияние психоэмоционального стресса на показатели поведенческой активности, содержание нейротрансмиттеров в мозге и цитохромов в печени крыс

Показатель	Контроль	ПТСР
Норадреналин мкг/г	0,27 ±0,10	0,89±0,11*
ДОФА мкг/г	0,07±0,010	0,13±0,03*
Дофамин мкг/г	2,19±0,97	5,30±0,75*
Цитохром P450, нмоль/мг белка	0,38±0,11	0,18±0,03*
Цитохром b5, нмоль/мг белка	0,30±0,08	0,12±0,009*
Время в открытых рукавах сек	104,0±10,45	31,5±9,33*
Время в закрытых рукавах сек	496,00±27,8	568,5±37,9*
* – статистически значимые отличия от контрольной группы, p<0,05U		

Выводы. 1. На десятые сутки животные, подверженные стрессорным воздействиям, характеризуются более высоким уровнем ДОФА, норадреналина и дофамина.

2. Стрессированные животные на 10 сутки характеризуются более низким уровнем микросомального окисления относительно контрольной группы, а также более низким уровнем дофамина и серотонина относительно высокотревожных крыс.

Список литературы

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – 3-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2009. – 896 с.

2. Bromek E. Involvement of the paraventricular (PVN) and arcuate (ARC) nuclei of the hypothalamus in the central noradrenergic regulation of liver cytochrome P450 / E. Bromek, J. Wójcikowski, W.A. Daniel // Biochem Pharmacol. – 2013. – Vol. 86, №11. – P. 1614-1620.

3. Kessler R.C. Posttraumatic stress disorder: the burden to the individual and to society / R.C. Kessler // J Clin Psychiatry. – 2000. – Vol. 61, Suppl 5. – P. 4-12.

4. Omura T. The carbon monoxide binding pigment of liver microsomes 1. Evidence for its hemoprotein nature / T. Omura, R. Sato // J. Biol. Chem. – 1964. – Vol. 239. – P. 2370-2378.

5. Pitman R.K. Biological studies of post-traumatic stress disorder / R.K. Pitman [et al.] // Nat Rev Neurosci. – 2012. – Vol. 13, №11. – P. 769-787.

6. Ronzoni G. Enhanced noradrenergic activity in the amygdala contributes to hyperarousal in an animal model of PTSD / G. Ronzoni [et al.] // Psychoneuroendocrinology. – 2016. – Vol. 70. – P. 1-9.

7. Sherin J.E. Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma / J.E. Sherin, C.B. Nemeroff // Dialogues Clin Neurosc. – 2011. – Vol. 13, №3. – P. 263-267.

8. Wilson C.B. Predator exposure/psychosocial stress animal model of post-traumatic stress disorder modulates neurotransmitters in the rat hippocampus and prefrontal cortex / C.B. Wilson [et al.] // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, №2. – e89104 – P. 1-7.

9. Wójcikowski J. The brain dopaminergic system as an important center regulating liver cytochrome P450 in the rat / J. Wójcikowski, W.A. Daniel // Expert Opin Drug Metab Toxicol. – 2009. – Vol. 5, №6. – P. 631-645.

THE RELATIONSHIP BETWEEN BRAIN MONOAMINE NEUROTRANSMITTERS AND HEPATIC MICROSOMAL OXIDATION IN RATS ON DAY 10 AFTER EXPERIMENTAL PSYCHOEMOTIONAL STRESS CONDITIONS CLOSE*

LAPSHIN M.S. [1], ALLILUEV A.V. [1], FEDOROV S.A. [2], POPOVA D.A. [1], POPKOV P.N. [2], PLATKOVSKII P.O. [1], KOMELKOVA M.V. [1, 2], TSEILIKMAN O.B. [1]

[1] FSAEI HE SUSU (NRU), Chelyabinsk, Russia

[2] FSBEI HE SUSMU MOH Russia, Chelyabinsk, Russia

e-mail: mkomelkova@mail.ru

Abstract

The repeated exposures to predator scent were used to model stress disorder in rats. Changes were registered 10 days after the experiment was completed. We found some behavioral alterations which manifested in an increased time in the closed vs. open arms of the maze. Both dopamine and noradrenaline concentrations were reported to be increased. Stressed animals did also show a decreased function of microsomal oxidation due to cytochromes P450 and b5 decrease in the liver.

Keywords: *stress, anxiety, catecholamines, microsomal oxidation.*

* Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда: грант №17-15-013418