

ПРИМЕНЕНИЕ *L*-ТРИПТОФАНА С ЦЕЛЬЮ КОРРЕКЦИИ ДИСБАЛАНСА ЦЕНТРАЛЬНЫХ НЕЙРОАКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ПРИ СИНДРОМЕ ОТМЕНЫ МОРФИНА

Ю. Е. Разводовский, Е. М. Дорошенко, М. И. Селевич¹

Исследовано влияние *L*-триптофана на содержание свободных аминокислот и биогенных аминов в различных отделах головного мозга при синдроме отмены морфина. Установлено, что хроническая морфиновая интоксикация и синдром отмены морфина сопровождаются активацией дофаминовой системы, а также повышением содержания возбуждающих аминокислот в мозге. При синдроме отмены морфина обнаружено также угнетение серотонинергической активности во всех исследованных отделах головного мозга. *L*-триптофан (100 мг/кг внутривнутрибрюшинно) на фоне синдрома отмены морфина активизирует центральные серотонинергические структуры, а также предотвращает увеличение содержания возбуждающих аминокислот в головном мозге.

Ключевые слова: морфин, *L*-триптофан, серотонин, головной мозг

ВВЕДЕНИЕ

Большинство *L*-аминокислот, при введении их в организм в более высоких дозах, нежели те, в которых они поступают с пищей, вызывают специфические фармакологические эффекты [3].

Актуальным является исследование механизмов регуляторного действия аминокислот при различных патологических состояниях с целью последующего их применения в качестве препаратов метаболической терапии. Незаменимая аминокислота *L*-триптофан — предшественник серотонина, применяется в клинической практике в качестве антидепрессивного и снотворного средства [9].

Ранее нами продемонстрировано, что *L*-триптофан при введении в желудок в дозе 50 мг/кг вызывает выраженную активацию серотониновой системы за счет усиления синтеза, а также распада медиатора, повышая содержание 5-окси-*L*-триптофана (5-НТФ) в различных отделах головного мозга крыс. При этом механизм действия *L*-триптофана не ограничивался ролью предшественника серотонина, так как усиление синтеза серотонина было менее выраженным, чем стимуляция его распада. Кроме того, введение *L*-триптофана вызывало снижение содержания тирозина в гипоталамусе, что, вероятно, объясняется конкурентными взаимоотношениями на уровне системы транспорта ароматических аминокислот [1]. Аминокислотный дисбаланс играет важную роль в патогенезе нейрохимических сдвигов в ЦНС, которыми сопровождается опийная наркомания [5]. Изменения уровней центральных медиаторов могут быть опосредованы нарушением обмена аминокислот-предшественников. Коррекция дисбаланса аминокислот и их производных является важным компонентом метаболической терапии при зависимости от опиоидов. Участие серотониновой системы в механизмах развития толерантности и зависимо-

сти от морфина хорошо известно. Экспериментально доказано, что анальгетический эффект морфина, ослабленный резерпином, может быть восстановлен системным введением 5-окситриптофана или инъекцией серотонина в желудочки мозга крыс [5]. Предполагается, что патологическое влечение к опиоидам обусловлено нарушением серотонинергических функций, которое приводит к дефициту серотонина в гипоталамусе [8]. При однократном введении морфина наблюдается повышение уровня серотонина в коре большого мозга, а также его метаболита 5-индолилуксусной кислоты в стволе, что свидетельствует об ускоренном обороте медиатора [10]. Хроническая опийная интоксикация и синдром отмены сопровождаются снижением уровня серотонина и его прекурсора триптофана в различных отделах головного мозга [6]. Таким образом, формирование функционального дефицита серотонинергической системы является важным механизмом развития опийной зависимости. В этой связи представляется обоснованным использование при лечении зависимости от опиоидов препаратов, которые стимулируют центральную серотонинергическую систему. Показано, что введение *L*-триптофана в процессе развития зависимости от морфина снижало тяжесть абстинентного синдрома [7]. Кроме того, установлено, что антидепрессанты, механизм действия которых основан на ингибировании нейронального захвата серотонина, увеличивают продолжительность ремиссии у лиц, зависимых от опиоидов [11].

Цель настоящего исследования состояла в изучении влияния *L*-триптофана на формирование фонда свободных аминокислот и биогенных аминов при синдроме отмены морфина и обосновании рациональности его применения в терапии опийной зависимости.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 54 белых беспородных крысах-самцах массой 180 – 200 г. Животных содержали

¹ Институт биохимии НАН Беларуси, Гродно, 230017, БЛК, 50.

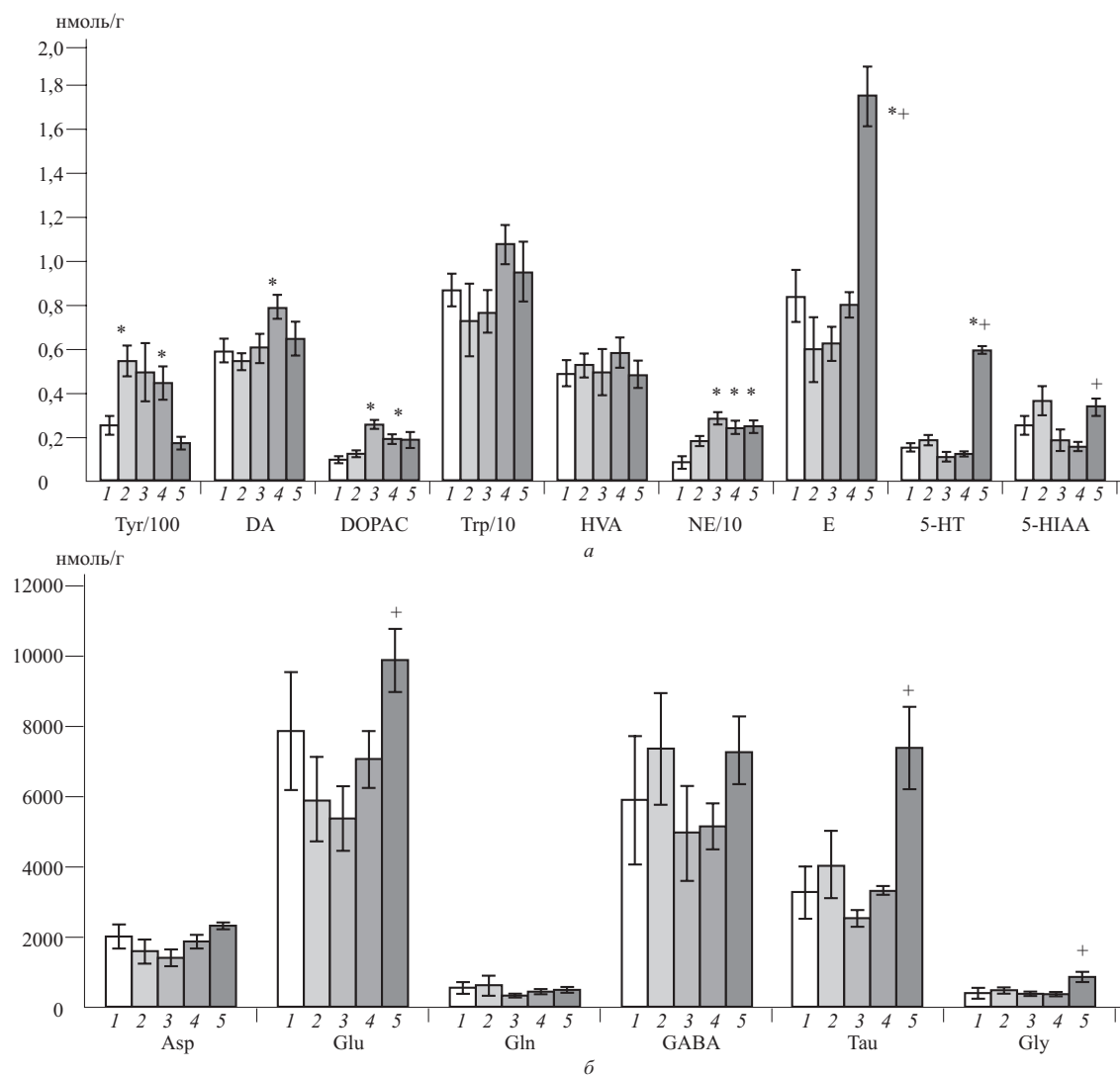


Рис. 1. Содержание биогенных аминов и родственных соединений (*а*) и нейтроактивных аминокислот (*б*) в гипоталамусе крыс при опийной интоксикации, отмене морфина и введении триптофана.

Здесь и на рис. 2 и 3: 1 — контроль; 2 — хроническая интоксикация; 3 — отмена морфина (1 сут); 4 — отмена морфина (7 сут); 5 — отмена морфина (7 сут + триптофан, 100 мг/кг/сут). Различия достоверны по отношению: * — к контролю ($p < 0,05$); + — к сроку отмены морфина (7 сут).

на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде. Хроническую морфиновую интоксикацию у крыс и признаки синдрома отмены воспроизводили путем ежедневных внутривенных инъекций животным на протяжении 14 дней (2 раза в сутки с интервалом 12 ч, 8:00 и 20:00) 1% раствора морфина гидрохлорида в суммарной дозе, возрастающей от 20 до 40 мг/кг массы в сутки (первые два дня — 20 мг/кг, последующие два дня — 30 мг/кг, последние 10 дней — 40 мг/кг). Контрольные животные получали эквивалентное количество дистиллированной воды. Крыс декапитировали через 1 ч и 7 сут после последней инъекции морфина. Кроме того, в одной из групп животных в течение 7 дней после отмены морфина внутривенно (дважды в день, разовая доза 50 мг/кг) вводили триптофан в дозе 100 мг/кг. Определение нейтроактивных аминокислот, биогенных аминов, их предшественников и метаболитов в головном

мозге проводили на ВЭЖХ-системе Waters-206 (“Milipore – Waters”, США). Нейтроактивные аминокислоты определяли методом обращенно-фазной хроматографии на колонке 3 × 150 мм, Диасорб-130 C₁₆T (8 мкм) (“Элсико”, Россия) с изократическим элюированием после предколоночной дериватизации с о-фталевым альдегидом и 2-меркаптоэтанолом и флуориметрическим детектированием (338/425 нм). Биогенные амины, их предшественники и метаболиты определяли методом ион-парной ВЭЖХ на колонке Сепарон SGX C18 (5 мкм, 3 × 150 мм) с электрохимическим детектированием [2]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ для медико-биологических исследований 3d и 7m из пакета BMDP (BMDP Statistical Software).

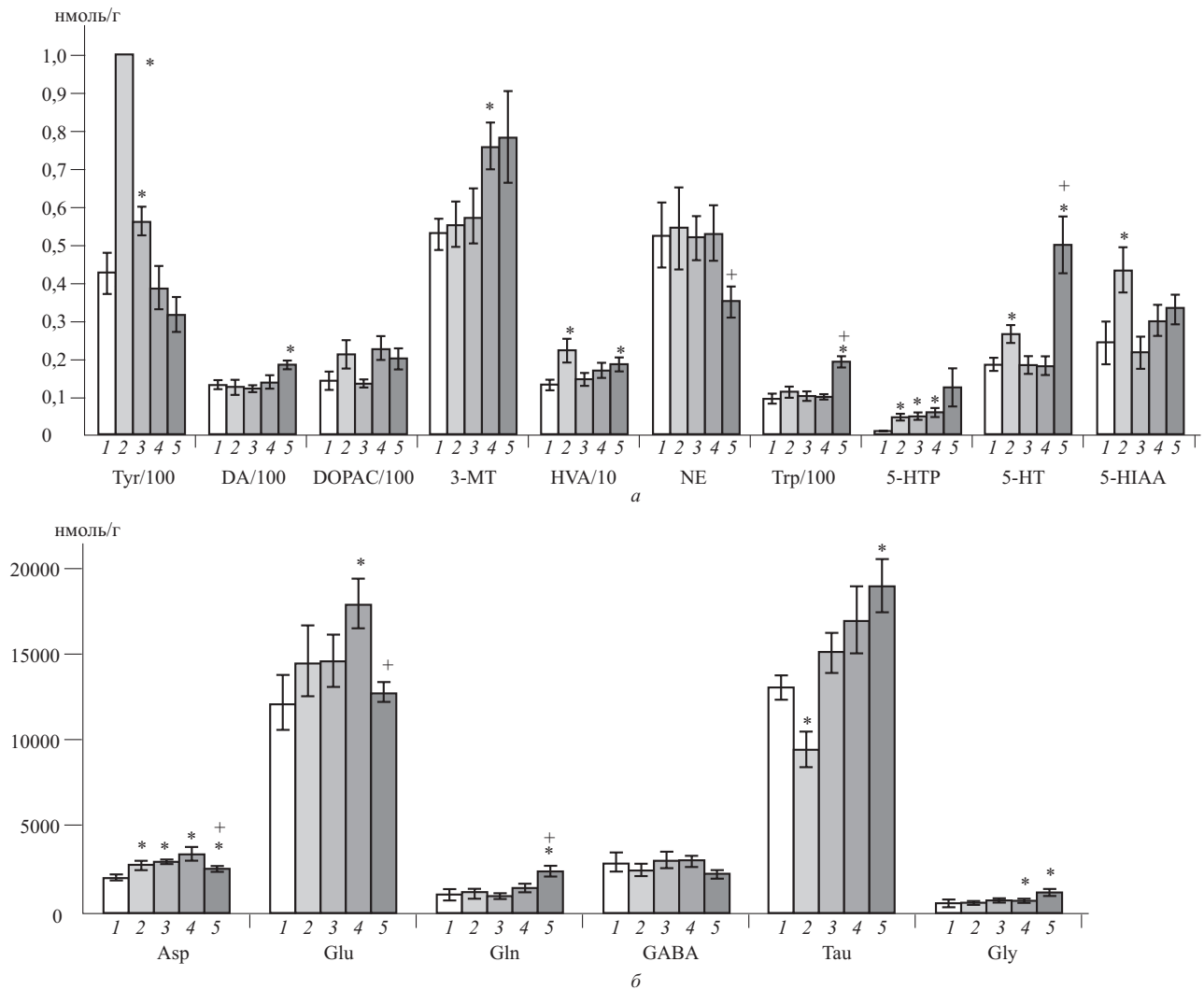


Рис. 2. Содержание биогенных аминов и родственных соединений (*а*) и нейроактивных аминокислот (*б*) в стриатуме крыс при опийной интоксикации, отмене морфина и введении триптофана. Обозначения те же, что на рис. 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хроническая опийная интоксикация и синдром отмены сопровождались ростом содержания тирозина (Тур) в гипоталамусе (рис. 1, *а*). Такая же тенденция наблюдалась в других отделах мозга (рис. 2, *а*; 3, *а*). Однако это не сопровождалось увеличением содержания дофамина (DA): оно было зарегистрировано только при отмене на 7-е сутки, а в стволе мозга, наоборот, только на фоне интоксикации. Деградация DA имела тенденцию к ускорению, причем повышалась концентрация как 3,4-диоксифенилуксусной (DOPAC), так и 3-метокси-4-оксифенилуксусной (гомованилиновой) кислоты (HVA). При отмене морфина в стриатуме повышалось содержание 3-метокситирамина (3-MT), что можно рассматривать как усиление синаптического выброса DA (рис. 2, *а*). Таким образом, хроническая опийная интоксикация и отмена морфина приводят к активации дофаминовой системы: усилению синаптического выброса и деградации медиатора, в меньшей

степени — его синтеза. Частично активация может быть опосредована повышением уровня предшественника. Концентрация норадреналина (NE) не изменялась во всех исследованных группах. Отмена морфина приводила к повышению содержания адреналина в гипоталамусе.

Введение Тур на фоне отмены морфина в течение 7 сут нормализовало концентрацию Тур в гипоталамусе (рис. 1, *а*). Там же возвращались к нормальным значениям уровни дофамина и его метаболитов. В стриатуме и среднем мозге, наоборот, повышалось содержание дофамина и его деградация, т.е. наблюдалось ускорение оборота медиатора (рис. 2, *а*; 3, *а*). В среднем мозге повышалось содержание не гомованилиновой (HVA), а 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (DOPAC), т.е. усиливалась пресинаптическая деградация медиатора, а не его синаптический выброс. Очевидно, усиливался синтез DA, так как его концентрация была повышена (в стриатуме и среднем мозге) или не отли-

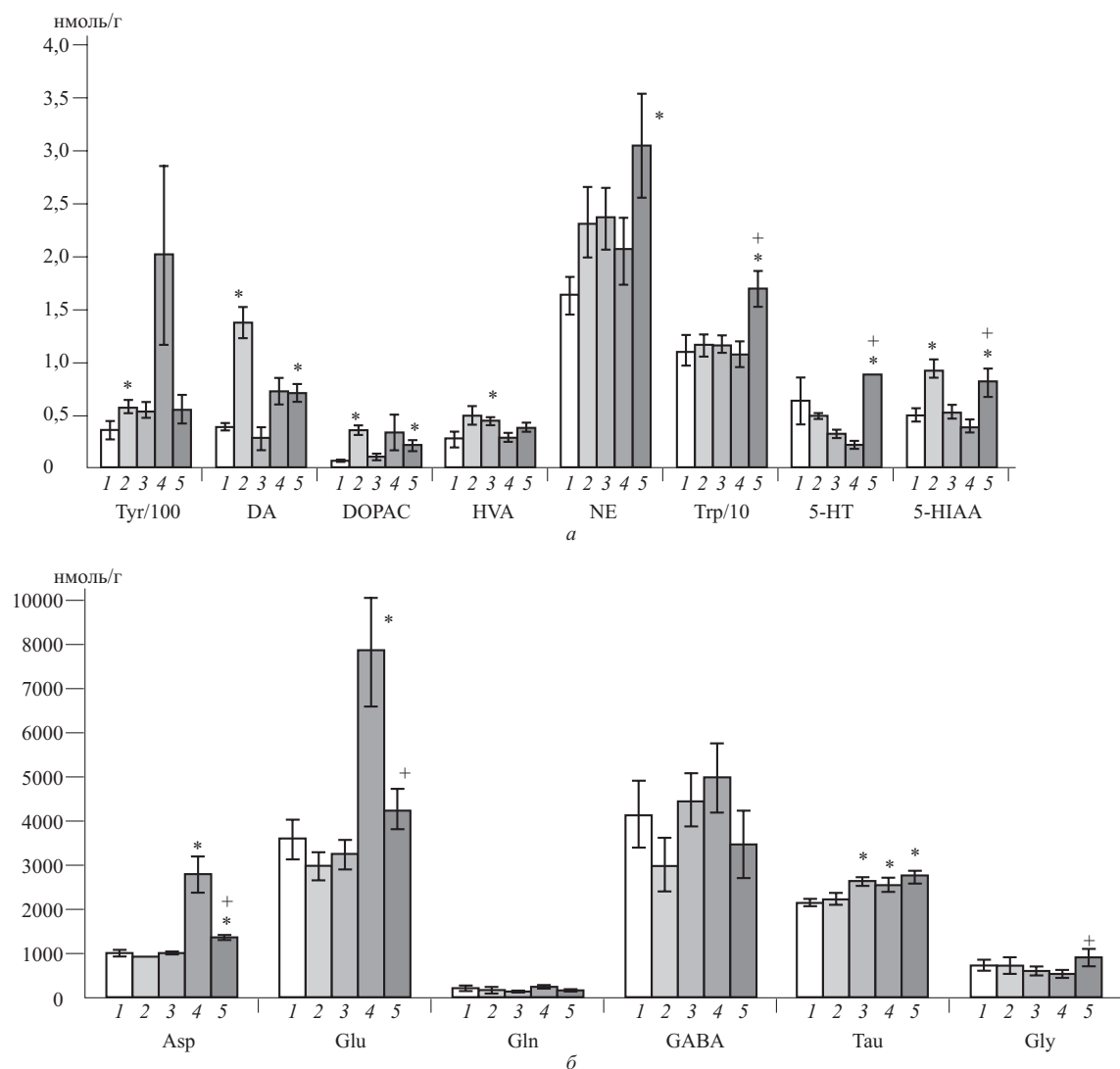


Рис. 3. Содержание биогенных аминов и родственных соединений (а) и нейроактивных аминокислот (б) в стволе мозга крыс при опийной интоксикации, отмене морфина и введении триптофана. Обозначения те же, что на рис. 1.

чалась от контроля (в гипоталамусе) на фоне нормальной концентрации предшественника. В стриатуме после введения *Trp* уменьшалось (рис. 2), а в среднем мозге — увеличивалось (рис. 3, а) содержание *NE*.

При опийной интоксикации в стриатуме повышалось содержание 5-окси-*L*-триптофана (5-НТР), серотонина (5-НТ) и 5-оксииндолуксусной кислоты (5-НИАА). При синдроме отмены морфина эти показатели имели тенденцию к снижению. Аналогичные по направленности изменения наблюдались в стволе мозга. Таким образом, при хронической опийной интоксикации наблюдается усиление активности серотониновой системы. При синдроме отмены морфина, наоборот, отмечается угнетение серотонинергической активности.

На фоне введения триптофана во всех исследованных отделах головного мозга зарегистрирован рост его концентрации, а также уровней серотонина и 5-НИАА. Однако содержание последнего соединения превыша-

ло контрольные значения только в стволе мозга. Следовательно, была достигнута только нормализация, а не избыточная стимуляция серотонинергической активности.

Одним из механизмов торможения серотонинергической активности при синдроме отмены морфина, возможно, является замедление декарбоксилирования 5-НТР, так как во всех опытных группах зарегистрировано повышение его концентрации. Поэтому добиться адекватной коррекции можно, создав значительный избыток предшественника, что и обосновывает применение триптофана в данной ситуации.

Опийная интоксикация вызвала повышение уровня аспартата (*Asp*) в стриатуме, которое сохранялось на фоне отмены, и снижение уровня таурина (*Tau*), которое после отмены морфина не регистрировалось (рис. 2, б). На фоне отмены в течение 7 сут повышалось содержание глутамата (*Glu*). Через 7 сут после отмены повышалось содержание глицина (*Gly*). В

стволе мозга отмена морфина в течение 7 сут приводила к выраженному повышению концентрации возбуждающих медиаторов (Asp и Glu); в оба срока после отмены повышалось содержание таурина (рис. 3, б).

Применение триптофана вызывало достоверное по сравнению с синдромом отмены морфина повышение уровня Tau и Glu в гипоталамусе (рис. 1, б). В стриатуме и стволе мозга триптофан устранял повышение содержания возбуждающих аминокислот. Повышение уровня таурина в стволе мозга сохранялось. В стриатуме оно отсутствовало после отмены морфина, но наблюдалось после введения триптофана (рис. 2, б; 3, б).

ВЫВОДЫ

1. Хроническая морфиновая интоксикация и синдром отмены морфина сопровождаются выраженной активацией дофаминовой системы, а также повышением уровней возбуждающих аминокислот в исследованных отделах головного мозга. При синдроме отме-

ны морфина имеет место угнетение центральной серотонинергической активности.

2. *L*-триптофан (100 мг/кг массы внутривнутрибрюшинно) при синдроме отмены морфина активирует серотониновую систему и предотвращает повышение уровней возбуждающих аминокислот в головном мозге.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. М. Дорошенко, Ю. Е. Разводовский, В. Ю. Смирнов, С. Ю. Островский, *Мат. между. конф., посв. 40-летию ГГМИ*, Гродно (1998), с. 23.
2. Е. М. Дорошенко, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Минск (1994).
3. Л. И. Нефедов, *Автореф. докт. дис.*, Минск (1993).
4. G. S. Borszcz, *Behav. Neurosci.*, **113**(3), 612 – 31 (1999).
5. D. H. Clouet and M. Ratner, *Science*, **168**, 854 – 856 (1970).
6. М. А. Филоненко, *Ukr. Biokhim. Zh.*, **71**(4), 58 – 62 (1999).
7. I. K. Ho, *Prog. 3th meeting of the NAC / NRC Committee on problems of Drug Dependence* (1972).
8. A. Honkanen, *Alcohol.*, **18**(1), 3 – 10 (1999).
9. T. Nakajima, *Clin. Neurosci.*, **51**(5), 267 – 74 (1997).
10. J. W. Sloan, *Psychopharmacol.*, **4**, 261 – 270 (1963).
11. J. S. Wakelin, *Adv. Biol. Psychiatr.*, 70 – 83 (1998).

Поступила 05.11.01

L-TRYPTOPHAN PRODUCES CORRECTION OF THE DYSBALANCE OF THE POOL OF CENTRAL NEUROTRANSMITTERS IN RATS WITH MORPHINE WITHDRAWAL SYNDROME

Yu. E. Razvodovskii, E. M. Doroshenko, and **M. I. Selevich**

Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Grodno, 230017 Belarus

The influence of tryptophan on the content of central neurotransmitters (free amino acids and biogenous amines) in various structures of the rat brain under the conditions of morphine withdrawal has been studied. It is established that the chronic morphine intoxication followed by withdrawal lead to activation of the dopaminergic system and to an increase in the content of exciting amino acids in the rat brain. The morphine withdrawal syndrome is accompanied by inhibition of the serotonergic activity in all rat brain structures studied. The administration of *L*-tryptophan (100 mg/kg, i.p.) on the morphine withdrawal syndrome activates the central serotonergic structures and prevents from further increase in the content of exciting amino acids in the brain.