

УДК 612.014.464:612.822.2:[612.825+612.826]

©Коллектив авторов

**ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ С ГИПЕРКАПНИЕЙ  
НА СОДЕРЖАНИЕ МОНОАМИНОВ В СИММЕТРИЧНЫХ  
СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА  
САМЦОВ МЫШЕЙ ЛИНИИ BALB/c**

*И.В. Карпова<sup>1\*</sup>, В.В. Михеев<sup>2</sup>, В.В. Марышева<sup>2</sup>, Е.Р. Бычков<sup>2,3</sup>, П.Д. Шабанов<sup>2,3</sup>*

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/84 тел.: +7(911)731-4898; эл. почта: inessa.karpova@gmail.com

<sup>2</sup>Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова

<sup>3</sup>НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, Санкт-Петербург

В опытах на самцах мышей линии BALB/c исследовано изменение уровня медиаторных моноаминов и их метаболитов в левом и правом полушариях головного мозга мышей после острой гипоксии с гиперкапнией. Данное состояние характеризуется одновременным снижением напряжения  $O_2$  (гипоксия) и повышением содержания  $CO_2$  (гиперкапния) в крови и/или других тканях. Методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в коре больших полушарий, гиппокампе и стриатуме правой и левой стороны мозга определяли концентрации дофамина, серотонина и их метаболитов – диоксифенилуксусной, гомованилиновой и 5-гидроксииндолуксусной кислот. У мышей, не подвергавшихся гипоксии с гиперкапнией, обнаружена более высокая концентрация серотонина только в коре левого полушария. Асимметрии по содержанию дофамина в исследованных структурах выявлено не было. Острая гипоксия с гиперкапнией приводила к снижению уровня дофамина в стриатуме и серотонина в гиппокампе и коре больших полушарий головного мозга. Содержание метаболитов дофамина под воздействием гипоксии с гиперкапнией снижается в стриатуме и коре больших полушарий, причём в коре правого полушария достоверно снижается уровень обоих метаболитов, а в коре левого – только содержание диоксифенилуксусной кислоты. Метаболизм серотонина при гипоксии с гиперкапнией снижается во всех исследованных структурах головного мозга мышей. Сделан вывод о том, что серотонинергическая система головного мозга более чувствительна к острой гипоксии с гиперкапнией, чем дофаминергическая.

**Ключевые слова:** гипоксия с гиперкапнией, дофамин, серотонин, стриатум, гиппокамп, кора мозга.

**ВВЕДЕНИЕ.** Острая и хроническая гипоксия в результате травм, несчастных случаев и общих заболеваний является одним из существенных факторов нарушений функций головного мозга. В связи с этим проблема устойчивости головного мозга к гипоксии имеет огромное клиническое значение [1].

\* - адресат для переписки

## ГИПОКСИЯ С ГИПЕРКАПНИЕЙ И МОНОАМИНЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Функциональная активность структур переднего мозга существенно влияет на способность всего организма к выживанию в условиях острой гипоксии с гиперкапнией. Причем это влияние асимметрично. Так, с применением методики функционального выключения одного из полушарий головного мозга было показано, что самцы беспородных мышей с активным левым полушарием более устойчивы к гипоксии, чем животные с активным правым полушарием. Дополнительный анализ показал, что у низкоустойчивых к гипоксии мышей межполушарные различия отсутствуют. С повышением устойчивости к гипоксии с гиперкапнией возрастает и степень выраженности межполушарных различий [2].

Одним из существенных показателей сохранности функций структур головного мозга после гипоксии считается состояние моноаминергических систем мозга [3]. Однако при исследовании влияния гипоксии и гиперкапнии на содержание моноаминов в мозге крыс не принималась во внимание нейрхимическая асимметрия моноаминергических систем [3-7]. Вместе с тем в литературе есть данные об асимметричном распределении медиаторов и рецепторов к моноаминам [8, 9], а также различной чувствительности полушарий к дофаминергическим препаратам [10, 11]. Кроме того, показана важная роль дофамина в регуляции респираторных реакций и выявлена асимметричная организация дыхательного центра, причём авторы особо подчёркивают роль  $D_1$  и  $D_2$  рецепторов дофамина в формировании этих межполушарных различий [12, 13].

Целью нашей работы было изучить изменение активности моноаминергических систем левого и правого полушария головного мозга мышей после острой гипоксии с гиперкапнией.

**МЕТОДИКА.** Эксперименты выполнены на 26 половозрелых самцах мышей линии BALB/c. В опытах использовали две группы животных: животные 1-ой группы служили контролем (16 мышей), 2-ой – подвергались гипоксическому и гиперкапническому воздействию (10 мышей). Все опыты выполнены в один и тот же период времени с 13.00 до 15.00, так как имеются указания на суточные колебания устойчивости к гипоксии белых крыс и мышей [14].

Гипоксию с гиперкапнией моделировали помещением мышей в стеклянные банки объёмом 200 мл с герметичными крышками [2, 15]. После завинчивания крышки банки переворачивали вверх дном и, чтобы избежать подсоса воздуха, опускали в кювету с водой. Через 20 с после остановки дыхания животных декапитировали. Контрольных животных не подвергали гипоксическому воздействию и декапитировали одновременно с “гипоксическими” мышами. Из правой и левой половины мозга на льду выделяли структуры головного мозга и помещали в 0,01 М раствор соляной кислоты: стриатум – в 35 мкл, гиппокамп – в 100 мкл, кору больших полушарий – в 150 мкл. Пробы гомогенизировали с помощью прибора УЗДН-2Т, центрифугировали в течение 10 мин при 15000 g. Надосадочную жидкость собирали в пробирки и хранили до анализа при  $-90^{\circ}\text{C}$ . Концентрации дофамина (ДА), серотонина (5-НТ) и их метаболитов – диоксифенилуксусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-гидроксииндолуксусной (5-ГИУК) кислот определяли методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией на хроматографе Beckman Coulter [16]. Хроматографическая система включала инжектор Rheodyne 7125 с петлей на 20 мкл для нанесения образцов, колонку Partisil 5ODS3 (4,6×250,0 мм) и амперометрический детектор LC-4C BAS.

Определение концентраций исследуемых веществ проводили при потенциале +0,70 В. Подвижная фаза включала 0,1 М цитратно-фосфатный буфер с 1,1 мМ октансульфоновой кислотой, 0,1 М ЭДТА и 6% ацетонитрила (рН 3,0). Скорость элюции подвижной фазы составляла 0,8 мл/мин, время анализа одной пробы – около 15 мин.

Полученные данные подвергали компьютерной обработке с использованием стандартного статпакета GraphPad PRISM, сравнивая данные по разным структурам мозга с использованием t-критерия Стьюдента при уровне статистической значимости различий  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** У контрольных животных статистически значимых различий по содержанию ДА и его метаболитов в структурах правой и левой стороне мозга выявлено не было (табл. 1). Содержание ДА и его метаболитов (ГВК и ДОФУК) в правом и левом стриатуме мышей, подвергавшихся острой гипоксии с гиперкапнией, было достоверно ниже, чем у контрольных животных (табл. 1). В гиппокампе содержание ДА и ДОФУК в результате воздействия гипоксии с гиперкапнией не менялось. Из-за низкой концентрации содержание ГВК в гиппокампе мышей, подвергавшихся действию гипоксии с гиперкапнией, определить не удалось. В коре больших полушарий, так же как и в гиппокампе, содержание ДА после гипоксии с гиперкапнией достоверно не отличалось от этого показателя у контрольных животных. Содержание ДОФУК у “гипоксических” мышей как в левой, так и в правой коре было ниже, чем у контрольных животных. Достоверное снижение уровня ГВК отмечалось только в правой коре (табл. 1). Вместе с тем, содержание ГВК в правой и левой коре мозга мышей, подвергнутых гипоксии с гиперкапнией, не различалось. Таким образом, можно говорить о более выраженной реакции коры правого полушария на гипоксическое и гиперкапническое воздействие, которое, однако, не приводит к появлению межполушарной асимметрии.

Таблица 1. Влияние острой гипоксии с гиперкапнией на содержание ДА, ДОФУК и ГВК в симметричных структурах головного мозга мышей линии BALB/c.

Группа мышей	ДА (нг/мг ткани)		ДОФУК (нг/мг ткани)		ГВК (нг/мг ткани)	
	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие
<b>Стриатум</b>						
Контроль	6,001±0,762	5,389±0,658	1,289±0,127	1,171±0,136	0,426±0,032	0,392±0,041
Гипоксия	3,556±0,571 <sup>#</sup>	3,089±0,497 <sup>#</sup>	0,471±0,045 <sup>#</sup>	0,539±0,085 <sup>#</sup>	0,059±0,022 <sup>#</sup>	0,091±0,026 <sup>#</sup>
<b>Гиппокамп</b>						
Контроль	0,162±0,034	0,259±0,049	0,061±0,005	0,067±0,006	0,020±0,005	0,030±0,005
Гипоксия	0,165±0,045	0,235±0,040	0,066±0,008	0,070±0,007	–	–
<b>Кора больших полушарий</b>						
Контроль	0,781±0,123	0,788±0,134	0,222±0,018	0,256±0,030	0,096±0,009	0,101±0,009
Гипоксия	0,784±0,144	0,526±0,095	0,132±0,015 <sup>#</sup>	0,135±0,015 <sup>#</sup>	0,079±0,008	0,068±0,007 <sup>#</sup>

Примечание. Здесь и в таблице 2: \* -  $p < 0,05$  - достоверные различия между аналогичными показателями правой и левой стороны мозга; # -  $p < 0,05$  - достоверные отличия эффекта гипоксии с гиперкапнией от контроля.

## ГИПОКСИЯ С ГИПЕРКАПНИЕЙ И МОНОАМИНЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

При анализе содержания 5-НТ у контрольных животных обнаружено статистически значимое преобладание содержания этого медиатора в левой коре. По содержанию метаболита 5-НТ – 5-ГИУК асимметрии не отмечено ни в одной из исследованных структур мозга (табл. 2). У “гипоксических” мышей выявлено статистически значимое снижение уровня 5-НТ в гиппокампе и в коре и уменьшение содержания 5-ГИУК во всех исследованных структурах мозга (табл. 2). Данная реакция на гипоксию с гиперкапнией была симметричной.

Таблица 2. Содержание серотонина и 5-гидроксииндолуксусной кислоты в стриатуме, гиппокампе и коре больших полушарий левой и правой половины мозга мышей линии BALB/c, погибших от гипоксии с гиперкапнией

Группа мышей	5-НТ (нг/мг ткани)		5-ГИУК (нг/мг ткани)	
	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие
<b>Стриатум</b>				
Контроль	0,378±0,052	0,432±0,049	0,698±0,069	0,773±0,080
Гипоксия	0,281±0,044	0,306±0,050	0,271±0,029 <sup>#</sup>	0,215±0,034 <sup>#</sup>
<b>Гиппокамп</b>				
Контроль	1,088±0,080	1,041±0,077	0,339±0,018	0,333±0,021
Гипоксия	0,718±0,047 <sup>#</sup>	0,786±0,054 <sup>#</sup>	0,245±0,023 <sup>#</sup>	0,226±0,019 <sup>#</sup>
<b>Кора больших полушарий</b>				
Контроль	0,584±0,052	0,471±0,037*	0,320±0,020	0,343±0,024
Гипоксия	0,418±0,051 <sup>#</sup>	0,350±0,038 <sup>#</sup>	0,209±0,014 <sup>#</sup>	0,207±0,021 <sup>#</sup>

Необходимо отметить, что в доступной литературе не было найдено одновременного изучения реакций медиаторных аминов на гипоксию и гиперкапнию в одном опыте. Во всех опытах изучали воздействие либо гипоксического, либо гиперкапнического фактора на содержание и обмен моноаминов. Согласно литературным данным, как гипоксия [3, 6, 7, 17], так и гиперкапния [4, 5] вызывают повышение уровня дофамина и серотонина в некоторых структурах мозга, причем, повышение уровня моноаминов при гипоксии авторы объясняют подавлением активности ферментов, участвующих в метаболизме дофамина и серотонина, а данный эффект при гиперкапнии связывают со стимуляцией синтеза моноаминов. Наши исследования показали не повышение, а снижение содержания ДА в стриатуме, а 5-НТ – в старой (гиппокампе) и новой коре. Особенность нашей экспериментальной ситуации состоит в том, что, во-первых, мы моделировали сочетанное воздействие гипоксии с гиперкапнией (что чаще всего встречается при авариях в замкнутых помещениях с автономной и/или принудительной вентиляцией). Кроме того, в качестве модели гипоксии авторы работ, представленных в литературе, использовали гипобарическую гипоксию, которая неизбежно сопровождается снижением напряжения CO<sub>2</sub> в крови [3, 6, 7], а некоторые исследования влияния гиперкапнии выполнены на новорожденных животных, чувствительность которых к гипоксии и гиперкапнии может значительно отличаться от таковой у взрослых животных [4]. Кроме того, в отличие

от моделей кратковременного или хронического воздействия гипоксических и гиперкапнических факторов, в наших условиях интенсивность гипоксии с гиперкапнией в течение опыта постоянно нарастала, и к моменту взятия проб “гипоксические” мыши находились в терминальном состоянии. В литературе имеются данные о снижении активности ферментов синтеза моноаминов в мозге крыс под влиянием 30-минутного гипоксического воздействия [18]. Можно предположить, что это приводило к снижению содержания ДА и 5-НТ, обнаруженному нами в стриатуме и в коре. Уменьшение содержания ДОФУК, ГВК и 5-ГИУК, в свою очередь, может быть результатом угнетения ферментов метаболизма моноаминов.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ.** Проведенные эксперименты показали значимое влияние острой гипоксии с гиперкапнией на уровень медиаторных моноаминов и их метаболитов головного мозга самцов мышей линии BALB/c. При этом происходит снижение уровня метаболизма моноаминов, в то время как содержание самих медиаторов реагирует на сочетанное гипоксическое и гиперкапническое воздействие только в тех структурах мозга, где этих медиаторов выделяется больше всего: отмечается снижение дофамина в стриатуме и серотонина - в старой и новой коре. В целом, реакция серотонинергической системы на гипоксию с гиперкапнией была более выраженной, так как отмечено снижение метаболизма серотонина во всех исследованных структурах мозга, в то время как дофаминергическая система гиппокампа оказалась нечувствительной к изучаемому воздействию.

1. У самцов мышей линии BALB/c, не подвергавшихся воздействию гипоксии с гиперкапнией, обнаружена более высокая концентрация серотонина только в коре левого полушария. Асимметрии по содержанию дофамина в исследованных структурах выявлено не было.

2. Острая гипоксия с гиперкапнией у самцов мышей линии BALB/c приводит к снижению уровня дофамина в стриатуме и серотонина в гиппокампе и коре больших полушарий головного мозга.

3. Содержание метаболитов дофамина под воздействием гипоксии с гиперкапнией снижается в стриатуме и коре больших полушарий, причём в коре правого полушария достоверно снижается уровень обоих метаболитов, а в коре левого – только содержание ДОФУК.

4. Метаболизм серотонина при гипоксии с гиперкапнией снижается во всех исследованных структурах головного мозга мышей.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Виноградов В.М., Криворучко Б.И.* (2001) Психофармакол. и биол. наркол., **1**(1), 27-37.
2. *Мухеев В.В., Марышева В.В., Шабанов П.Д.* (2010) Асимметрия, **4**(1), 3-11.
3. *Nakajima W., Ishida A., Takada G.* (1999) Brain Res. Brain Res. Protoc., **3**(3), 252-256.
4. *Hedner T., Lundborg P.* (1982) J. Neurochem., **39**(1), 86-91.
5. *Sakabe T., Dahlgren N., Carlsson A., Siesjo B.K.* (1982) Acta Physiol. Scand., **115** (1), 57-65.
6. *Saligaut C., Chretien P. Daoust M., Moore N., Boismare F.* (1986) Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., **8**(6), 343-349.
7. *Trouvin J.H., Prioux-Guyonneau M., Cohen Y., Jacquot C.* (1986) Gen. Pharmacol., **17**(1), 69-73.

## ГИПОКСИЯ С ГИПЕРКАПНИЕЙ И МОНОАМИНЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА

8. *Карпова И.В., Михеев В.В., Бычков Е.Р., Лебедев А.А., Шабанов П.Д.* (2012) в: Мат. IV съезда фармакологов России “Инновации в современной фармакологии”, Фолиум, М., с. 83.
9. *Glick S.D., Carlson J.N., Baird J.L., Maisonneuve I.M., Bullock A.E.* (1988) *Brain Res.*, **473**(1), 161-164.
10. *Михеев В.В., Шабанов П.Д.* (2007) Фармакологическая асимметрия мозга, Элби-СПб, СПб.
11. *Glick S.D., Lyon R.A., Hinds P.A.* (1988) *Brain Res.*, **455**(1), 43-48.
12. *Ведясова О.А.* (2003) в: Механизмы функционирования висцеральных систем: III Всерос. конф. с междунар. участием, посв. 175-летию со дня рождения Ф.В. Овсянникова, СПб, с. 53-54.
13. *Меркулова Н.А., Сергеева Л.И., Кузьмина В.Е., Ведясова О.А., Михайлова Н.Л.* (1992) в: Проблемы нейрокибернетики, Ростов-на-Дону, с. 71-72.
14. *Алликметс Л.Х., Оттер М.Я., Ээник Т.Э.* (1986) в: Тез. докл. Всес. конф., посв. 50-летию института физиологии им. И.С. Бериташвили, Мецниереба, Тбилиси, с. 18-19.
15. *Фисенко В.П.* (2000) Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ, ИИА Ремедиум, М.
16. *Krasnova I.N., Bychkov E.R., Lioudyno V.I., Zubareva O.E., Dambinova S.A.* (2000) *Neuroscience*, **95**(1), 113-117.
17. *Горошинская И.А., Нескубина И.В.* (1998) *Вопр. мед. химии*, **44**, 248-255.
18. *Hedner T. Lundborg P., Engel J.* (1978) *Biol. Neonate.*, **34**(1-2), 55-60.

Поступила: 14. 11. 2012.

## EFFECT OF ACUTE HYPOXIA WITH HYPERCAPNIA ON THE CONTENT OF MONOAMINES IN SYMMETRICAL BRAIN STRUCTURES OF THE BALB/c MALE MICE

*I.V. Karpova<sup>1</sup>, V.V. Mikheev<sup>2</sup>, V.V. Marysheva<sup>2</sup>, E.R. Bychkov<sup>2,3</sup>, P.D. Shabanov<sup>2,3</sup>*

<sup>1</sup>I.P. Pavlov State Medical University of Saint Petersburg, ul. Lva Tolstogo, 6/8, St.Petersburg, 197022 Russia; tel.: +7(911)731-4898; e-mail: inessa.karpova@gmail.com

<sup>2</sup>S.M.Kirov Military Medical Academy, Institute of Experimental Medicine, NWB RAMS, St. Petersburg, Russia

The changes in activity of monoaminergic systems of both the right and the left brain hemispheres of the BALB/c male mice after an acute hypoxia with hypercapnia were studied. The concentrations of dopamine, serotonin and their metabolites dihydroxyphenylacetic, homovanilic and 5-hydroxyindolacetic acids were measured by HPLC in the brain cortex, hippocampus and striatum of the right and the left hemispheres. The more high concentration of serotonin was revealed only in the cortex of the left hemisphere in control mice without hypoxia with hypercapnia. The asymmetry in dopamine level was not registered in all structures studied. Acute hypoxia with hypercapnia decreased the dopamine level in the striatum and the serotonin level both in the hippocampus and the brain cortex. The dopamine metabolites level was reduced in the striatum and in the brain cortex of hypoxed mice: both metabolites in the right brain cortex and only dihydroxyphenylacetic acid in the left brain cortex. Serotonin metabolism was decreased in all brain structures studied after hypoxia with hypercapnia in mice. Therefore, serotonergic system of the brain is more sensitive to acute hypoxia with hypercapnia than dopaminergic system.

**Key words:** hypoxia with hypercapnia, dopamine, serotonin, striatum, hippocampus, brain cortex.