

©Коллектив авторов

## ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ С ГИПЕРКАПНИЕЙ НА СОДЕРЖАНИЕ МОНОАМИНОВ В СИММЕТРИЧНЫХ СТРУКТУРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА У БЕЛЫХ БЕСПОРОДНЫХ МЫШЕЙ

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

<sup>1</sup>Институт экспериментальной медицины,  
197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, 12; эл. почта: inessa.karpova@gmail.com;

<sup>2</sup>Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова, Санкт-Петербург

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

В опытах на самцах белых беспородных мышей исследовано изменение активности моноаминергических систем левого и правого полушария головного мозга после острой гипоксии с гиперкапнией. Методом ВЭЖХ в коре больших полушарий, гиппокампе и стриатуме правой и левой сторон мозга определяли концентрации дофамина (ДА), серотонина (5-ГТ) и их метаболитов – диоксифенилуксусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-гидроксииндолуксусной (5-ГИУК) кислот. У мышей, не подвергавшихся гипоксии с гиперкапнией, обнаружена более высокая концентрация ДА только в коре левого полушария. Асимметрии по содержанию других веществ в исследованных структурах выявлено не было. Острая гипоксия с гиперкапнией приводила к правостороннему повышению уровня ДА и 5-ГТ при левостороннем снижении ДОФУК в коре больших полушарий головного мозга. В гиппокампе под воздействием гипоксии с гиперкапнией было выявлено левостороннее повышение содержания ДА. В стриатуме содержание моноаминов и их метаболитов достоверно не изменялось. Сделан вывод об асимметричной вовлечённости моноаминергических систем старой и новой коры в реакцию мозга на острую гипоксию с гиперкапнией.

**Ключевые слова:** гипоксия с гиперкапнией; дофамин; серотонин; стриатум; гиппокамп; кора головного мозга

**DOI:** 10.18097/PBMC20186403257

### ВВЕДЕНИЕ

Гипоксия с гиперкапнией является не только одним из существенных факторов нарушений функций головного мозга в результате различных заболеваний, но и обычным состоянием, возникающим в организме при высоких физических нагрузках и при длительном пребывании в замкнутых помещениях [1]. В связи с этим высокое практическое значение приобретает исследование механизмов устойчивости головного мозга к данному воздействию.

Одним из существенных показателей сохранности функций структур головного мозга после гипоксии считается состояние моноаминергических систем мозга [2]. Показана важная роль дофамина в регуляции респираторных реакций и выявлена асимметричная организация дыхательного центра, причём особо подчёркивается роль D<sub>1</sub> и D<sub>2</sub> рецепторов дофамина в формировании этих межполушарных различий [3, 4].

В экспериментах с применением методики функционального выключения одного из полушарий головного мозга было показано, что активность структур переднего мозга влияет на способность всего организма к переживанию в условиях острой гипоксии с гиперкапнией. Так, самцы беспородных мышей с активным левым полушарием более устойчивы к гипоксии, чем животные с активным правым полушарием, причём с повышением устойчивости к воздействию возрастает и степень выраженности межполушарных различий [5].

В исследованиях на мышах линии BALB/c было показано, что гипоксия с гиперкапнией вызывает преимущественно симметричное снижение уровня моноаминов и их метаболитов в стриатуме, гиппокампе и в коре больших полушарий головного мозга [6]. При этом лишь в коре больших полушарий снижение уровня метаболита дофамина – гомованилиновой кислоты – было исключительно правосторонним [6].

Поскольку некоторые сублинии мышей BALB/c характеризуются недоразвитием мозолистого тела [7], можно предположить, что у животных данной линии возможны проявления дефектов межполушарной коммуникации. Поэтому у представителей линии BALB/c межполушарные различия могут быть выражены слабее, чем свойственно популяции лабораторных мышей в целом.

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

### МЕТОДИКА

Эксперименты выполнены на 17 половозрелых самцах белых беспородных мышей, полученных из питомника Рапполово (Ленинградская область). Все эксперименты проводились с обязательным соблюдением правил “Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях”, Strasbourg (1986).

\* - адресат для переписки

До начала экспериментов животных не менее 2-х недель содержали в стандартных условиях вивария: в общих клетках при свободном доступе к пище и воде. Все опыты были 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 [8]. Перед началом экспериментов мыши были разделены на две группы: животные 1-ой группы служили контролем (11 мышей), 2-ой – подвергались гипоксическому и гиперкапническому воздействию (6 мышей).

Гипоксию с гиперкапнией моделировали помещением мышей в стеклянные банки объемом 200 мл с герметичными крышками [5, 9]. После закручивания 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 HCl: стриатум – в 50 мкл, гиппокамп – в 100 мкл, кору больших полушарий – в 150 мкл. Пробы гомогенизировали с помощью прибора УЗДН-2Т, центрифугировали в течение 15 мин при 15000 g. Надосадочную жидкость собирали в пробирки и хранили до анализа при -90°C. Концентрации дофамина (ДА), серотонина (5-ГТ) и их метаболитов – диоксифенилукусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-гидроксииндолукусной (5-ГИУК) кислот определяли методом обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с электрохимической детекцией на хроматографе Beckman Coulter (США) [10]. Хроматографическая система включала инжектор Rheodyne 7125 (“Sigma-Aldrich”, США) с петлей на 20 мкл для нанесения образцов, колонку

Phenomenex (США) (250,0×4,6 мм) с сорбентом Sphere Clone 5 и ODS(2) и амперометрический детектор LC-4C BAS (США). Определение концентраций исследуемых веществ проводили при потенциале +0,70 В. Подвижная фаза включала 5,5 мМ цитратно-фосфатный буфер с 0,7 мМ октансульфоновой кислотой, 0,5 мМ ЭДТА и 8% ацетонитрила (рН 3,0). Скорость элюции подвижной фазы составляла 1 мл/мин, время анализа одной пробы – около 20 мин.

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием стандартного пакета программ GraphPad PRISM 6.0, сравнивая данные по разным структурам мозга по t-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У контрольных животных единственным выявленным случаем асимметрии было преобладание ДА в левой коре ( $p < 0,05$ ). Других статистически значимых различий по содержанию моноаминов и их метаболитов в структурах правой и левой стороне мозга выявлено не было (табл. 1).

Под воздействием гипоксии с гиперкапнией в коре больших полушарий происходило правостороннее повышение ДА ( $p < 0,05$ ) (табл. 1), в результате чего асимметрия по содержанию ДА, характерная для интактных животных, исчезала (табл. 1). Содержание ДОФУК (метаболита ДА) достоверно снижалось только в левом полушарии ( $p < 0,05$ ), при этом индекс ДОФУК/ДА не изменялся (табл. 1).

У мышей, погибших от гипоксии с гиперкапнией, уровень 5-ГТ в коре правого полушария был выше, чем у контрольных животных ( $p < 0,05$ ). Содержание 5-ГИУК в коре у беспородных мышей под действием гипоксии с гиперкапнией не изменялось, и происходило правостороннее снижение показателя 5-ГИУК/5-ГТ ( $p < 0,05$ ) (табл. 2).

Таблица 1. Влияние острой гипоксии с гиперкапнией на содержание дофамина и его метаболитов в симметричных структурах головного мозга

Группа мышей	ДА (нмоль/г ткани)		ДОФУК (нмоль/г ткани)		ГВК (нмоль/г ткани)		ДОФУК/ДА		ГВК/ДА	
	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие
СТРИАТУМ										
Конт-роль	11,77±1,22	12,60±1,48	4,01±0,40	4,24±0,46	0,93±0,07	1,03±0,09	0,36±0,02	0,38±0,05	0,085±0,006	0,089±0,010
Гипоксия	12,70±0,72	15,01±1,84	4,10±0,28	4,14±0,39	1,07±0,10	1,14±0,07	0,38±0,05	0,29±0,03	0,085±0,008	0,080±0,008
ГИППОКАМП										
Конт-роль	0,30±0,04	0,43±0,04	0,75±0,07	0,66±0,20	0	0	2,67±0,41	1,82±0,57	0	0
Гипоксия	0,69±0,16*	0,53±0,06	0,97±0,16	0,86±0,15	0	0	1,53±0,39 <sup>#</sup>	1,79±0,45	0	0
КОРА БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ										
Конт-роль	0,81±0,18	0,44±0,10*	0,59±0,05	0,46±0,07	0,36±0,05	0,35±0,05	1,05±0,37	1,01±0,22	0,55±0,14	1,26±0,47
Гипоксия	1,12±0,42	0,85±0,16 <sup>#</sup>	0,12±0,10 <sup>#</sup>	0,20±0,15	0,26±0,09	0,16±0,03	0,10±0,08	0,40±0,34	0,46±0,29	0,17±0,03

Примечание. \* -  $p < 0,05$  - достоверные различия между аналогичными показателями правой и левой стороны мозга; <sup>#</sup> -  $p < 0,05$  - достоверные отличия эффекта гипоксии с гиперкапнией от контроля; 0 - содержание вещества в пробе ниже предела чувствительности детектора.

Таблица 2. Влияние острой гипоксии с гиперкапнией на содержание серотонина и его метаболита в симметричных структурах головного мозга

Группа мышей	5-ГТ (нмоль/г ткани)		5-ГИУК (нмоль/г ткани)		5-ГИУК/5-ГТ	
	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие	Левое полушарие	Правое полушарие
СТРИАТУМ						
Контроль	0,63±0,05	0,62±0,05	1,73±0,13	1,76±0,14	2,92±0,17	3,23±0,40
Гипоксия	0,67±0,07	0,62±0,10	2,11±0,20	1,96±0,18	3,22±0,18	3,42±0,41
ГИППОКАМП						
Контроль	1,13±0,07	1,21±0,09	1,82±0,14	1,83±0,20	1,60±0,05	1,55±0,16
Гипоксия	1,35±0,16	1,21±0,15	2,03±0,19	1,93±0,14	1,63±0,27	1,67±0,13
КОРА БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ						
Контроль	0,43±0,07	0,32±0,03	1,18±0,08	1,08±0,08	4,08±1,06	3,66±0,39
Гипоксия	0,47±0,05	0,44±0,03 <sup>#</sup>	1,07±0,12	0,81±0,15	2,28±0,21	1,87±0,37 <sup>#</sup>

Примечание. # -  $p < 0,05$  - достоверные отличия эффекта гипоксии с гиперкапнией от контроля; 0 - содержание вещества в пробе ниже предела чувствительности детектора.

В гиппокампе мышей, погибших от гипоксии с гиперкапнией, по сравнению с интактными животными, было отмечено левостороннее возрастание ДА ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Содержание метаболитов ДА, а также 5-ГТ и 5-ГИУК в результате гипоксического воздействия не изменялось (табл. 1, 2). При этом индекс ДОФУК/ДА в левом гиппокампе снижался ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

По исследованным показателям моноаминергических систем в стриатуме, мыши, подвергнутые действию острой гипоксии с гиперкапнией, не отличались от контрольных (табл. 1, 2).

Сравнение полученных данных с результатами аналогичной работы, выполненной нами на мышах линии BALB/c [6], показало, что реакции моноаминергических систем на гипоксию с гиперкапнией у двух линий животных существенно различаются.

Наиболее существенные различия касаются реакции на гипоксию с гиперкапнией серотонинергической системы, которая у белых беспородных мышей оказалась менее выраженной. Если у мышей линии BALB/c снижение показателей серотонинергической системы отмечались во всех исследованных нами структурах мозга [6], то у белых беспородных мышей было обнаружено единственное изменение: правостороннее повышение 5-ГТ в коре больших полушарий.

Кроме того, у белых беспородных мышей в коре больших полушарий в ответ на гипоксию происходило правостороннее повышение содержания ДА и левостороннее снижение уровня ДОФУК (табл. 1), в то время как у мышей BALB/c содержание ДА в коре после гипоксии с гиперкапнией не изменяется, а содержание его метаболитов билатерально снижается [6].

В гиппокампе белых беспородных мышей при действии нарастающей гипоксии с гиперкапнией было обнаружено только левостороннее повышение уровня ДА, при этом изменений содержания его метаболитов отмечено не было. Не изменялись и показатели серотонинергической системы гиппокампа. В отличие от беспородных животных,

у “гипоксических” мышей линии BALB/c нами ранее выявлено статистически значимое снижение уровня 5-ГТ в гиппокампе и в коре и уменьшение содержания 5-ГИУК во всех исследованных структурах мозга. Данная реакция на гипоксию с гиперкапнией была симметричной [6].

У двух линий мышей также различалось влияние гипоксии с гиперкапнией на моноаминергические системы стриатума. Так, в настоящей работе у белых беспородных мышей в стриатуме не выявлено никаких достоверных изменений показателей моноаминергических систем. Однако у мышей линии BALB/c в аналогичной ситуации содержание 5-ГТ, ДА и его метаболитов (ГБК и ДОФУК) билатерально снижалось [6].

Согласно литературным данным, как гипоксия [2, 11-13], так и гиперкапния [14, 15] вызывают повышение уровня ДА и 5-ГТ в некоторых структурах мозга, причем, повышение уровня моноаминов при гипоксии авторы объясняют подавлением активности ферментов, участвующих в метаболизме моноаминов, а аналогичный эффект при гиперкапнии – стимуляцией синтеза медиаторов. Вместе с тем, в литературе имеются данные о снижении активности ферментов синтеза моноаминов в мозге крыс под влиянием 30-минутного гипоксического воздействия [16]. Теоретически можно предположить, что межлинейные различия обусловлены различной устойчивостью к гипоксии и гиперкапнии ферментов метаболизма и синтеза моноаминов у мышей различных линий. Так, мозг мышей BALB/c, возможно, более чувствителен к гипоксическому и гиперкапническому воздействию, что приводило к снижению содержания ДА и 5-ГТ, обнаруженному в стриатуме и в коре животных этой линии [6]. Уменьшение содержания ДОФУК, ГБК и 5-ГИУК в коре и стриатуме у мышей линии BALB/c, в свою очередь, может быть результатом угнетения ферментов метаболизма моноаминов. Однако подобная трактовка результатов, полученных нами у белых беспородных мышей, вызывает сомнение. Маловероятно, чтобы реакция ферментов распада и синтеза моноаминов в правом и левом полушариях

головного мозга различалась столь существенно, что приводила бы к асимметричным изменениям. Отметим, что обнаруженное нами у беспородных мышей, подвергшихся гипоксии и гиперкапнией, снижение соотношений ДОФУК/ДА в левой коре и 5-ГИУК/5-ГТ в правом гиппокампе, возникали вследствие изменений содержания самих медиаторов, а не их метаболитов (табл. 1, 2). По-видимому, одностороннее увеличение уровня моноаминов либо является компонентом общей реакции мозга на стресс, либо вовлечено в регуляторный процесс, специфически направленный на оптимизацию внешнего дыхания.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Проведенные эксперименты показали значимое влияние острой гипоксии с гиперкапнией на функционирование моноаминергических систем головного мозга самцов белых беспородных мышей.

1. У мышей, не подвергавшихся гипоксии с гиперкапнией, обнаружена асимметрия, характеризующаяся более высокой концентрацией ДА в коре левого полушария. Асимметрии по содержанию других веществ в исследованных структурах выявлено не было.

2. Острая гипоксия с гиперкапнией приводила к правостороннему повышению уровня ДА и 5-ГТ при левостороннем снижении ДОФУК в коре больших полушарий головного мозга.

3. В гиппокампе под воздействием гипоксии с гиперкапнией было выявлено левостороннее повышение содержания ДА.

4. В стриатуме содержание моноаминов и их метаболитов достоверно не изменялось.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов В.М., Криворучко Б.И. (2001) Психофармакол. биол. наркол., **1**(1), 27-37.
2. Nakajima W., Ishida A., Takada G. (1999) Brain Res. Brain Res. Protoc., **3**(3), 252-256.
3. 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, 53-54.
4. Ведясова О.А. (2003) Вестник СамГУ - Естественнонаучная серия. Второй спецвыпуск, 174-181.
5. Михеев В.В., Марышева В.В., Шабанов П.Д. (2010) Асимметрия, **4**(1), 3-11.
6. Карпова И.В., Михеев В.В., Марышева В.В., Бычков Е.Р., Шабанов П.Д. (2014) Биомед. химия, **60**, 258-263. DOI: 10.18097/PBMC20146002258.
7. Livy D.J., Wahlsten D. (1991) J. Hered., **82**(6), 459-464.
8. Masukawa T., Tochino Y. (1993) Jap. J. Pharmacol., **61**(3), 197-201.
9. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (2000) ИИА Ремедиум, М., 398 с.
10. Krasnova I.N., Bychkov E.R., Lioudyno V.I., Zubareva O.E., Dambinova S.A. (2000) Neuroscience, **95**(1), 113-117.
11. Saligaut C., Chretien P., Daoust M., Moore N., Boismare F. (1986) Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol., **8**(6), 343-349.
12. Trouvin J.H., Prioux-Guyonneau M., Cohen Y., Jacquot C. (1986) Gen. Pharmacol., **17**(1), 69-73.
13. Горошинская И.А., Нескубина И.В. (1998) Вopr. мед. химии, **44**(3), 248-255.
14. Hedner T., Lundborg P. (1982) J. Neurochem., **39**(1), 86-91.
15. Sakabe T., Dahlgren N., Carlsson A., Siesjo B.K. (1982) Acta Physiol. Scand., **115**(1), 57-65.
16. Hedner T., Lundborg P., Engel J. (1978) Biol. Neonate., **34**(1-2), 55-60.

Поступила: 18. 12. 2017.  
Принята к печати: 22. 02. 2018.

## THE EFFECT OF ACUTE HYPOXIA WITH HYPERCAPNIA ON THE CONTENT OF MONOAMINES IN SYMMETRICAL AREAS OF THE BRAIN IN ALBINO MICE

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

<sup>1</sup>Institute of Experimental Medicine,

12 Acad. Pavlov str., St. Petersburg, 197376 Russia; e-mail: inessa.karpova@gmail.com

<sup>2</sup>Kirov Military Medical Academy, Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia,

<sup>3</sup>Saint-Petersburg state University, St. Petersburg, Russia

Changes in the activity of monoaminergic systems of the left and right hemispheres of the brain after acute hypoxia with hypercapnia were investigated in male albino mice. The concentrations of dopamine (DA), serotonin (5-HT) and their metabolites dihydroxyphenylacetic (DOPAC), homovanilic (HVA) and 5-hydroxyindolacetic (5-HIAA) acids were measured by HPLC in the brain cortex, hippocampus and striatum of the right and the left hemispheres. In the control mice not exposed to hypoxia with hypercapnia, a higher concentration of DA in the left cortex was detected. No asymmetry in the content of other substances has been identified in the investigated structures. Acute hypoxia with hypercapnia led to the right-sided increase of DA and 5-HT levels and to the left-sided reduction DOPAC in the cerebral cortex. Under the condition of hypoxia with hypercapnia, in the hippocampus, the left-sided increase of the DA content was revealed. In the striatum the contents of monoamines and their metabolites were insignificantly changed. It has been concluded that acute hypoxia with hypercapnia causes asymmetric changes in monoaminergic systems of the archicortex and the neocortex.

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