

УДК 616.45-001.1/3-085.214

**ИЗМЕНЕНИЯ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ СПЕЦИФИЧНОСТИ  
МОНОАМИНОКСИДАЗ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ  
МОДЕЛИРОВАНИИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО  
СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА**

**Деев Р.В., Телешева И.Б., Синицкий А.И., Аглетдинов Э.Ф., Нургалева Е.А.**  
*ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ,  
Челябинск, e-mail: Sinitskiyai@yandex.ru*

Посттравматическое стрессовое расстройство сопровождается чрезвычайно высокой частотой сопутствующих заболеваний, среди которых весьма распространена патология печени. Главными факторами, ведущими к формированию соматической патологии при посттравматическом стрессовом расстройстве, в настоящее время считаются изменения нейроэндокринного статуса, неизбежно сопровождающиеся активацией свободнорадикального окисления. Моноаминоксидазы, чувствительные к изменениям нейроэндокринного статуса и являющиеся объектом глюкокортикоидной регуляции, активно вовлечены в процессы свободнорадикального окисления как прооксидантные ферменты. Можно предположить, что изменения активности моноаминоксидаз в печени при посттравматическом стрессовом расстройстве могут привести к развитию окислительного стресса в органе, а также существенным изменениям биотрансформации некоторых ксенобиотиков – моноаминов, метаболизируемых при участии моноаминоксидаз. В представленной работе обсуждается возможный вклад изменений каталитической активности моноаминоксидаз в развитие дисфункции печени при посттравматическом стрессовом расстройстве. Исследование выполнено на 40 белых беспородных лабораторных крысах. На различных сроках экспериментального моделирования посттравматического стрессового расстройства исследовано содержание основных категорий продуктов свободнорадикального окисления и активность дезаминирования моноаминов в суспензии митохондрий печени. Показано, что увеличение активности MAO-B может быть причиной прооксидантных сдвигов, что в свою очередь приводит к изменениям субстратной специфичности MAO-A.

**Ключевые слова:** посттравматическое стрессовое расстройство, печень, моноаминоксидаза

**CHANGES IN THE CATALYTIC SPECIFICITY OF MONOAMINE OXIDASES  
OF THE LIVER IN EXPERIMENTAL MODELING  
OF POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER**

**Deev R.V., Telesheva I.B., Sinitskiy A.I., Agletdinov E.F., Nurgaleeva E.A.**  
*South Ural State Medical University, Chelyabinsk, e-mail: Sinitskiyai@yandex.ru*

Posttraumatic stress disorder is accompanied by an extremely high frequency of comorbidities, including liver disease is very common. The main factors leading to the formation of somatic pathology in posttraumatic stress disorder, is now considered a neuroendocrine status changes, inevitably accompanied by the activation of free radical oxidation. Monoamine oxidase sensitive to changes in neuroendocrine status, and are the subject of glucocorticoid regulation, actively involved in the processes of free radical oxidation as a pro-oxidant enzymes. We can assume that changes in the liver monoamine oxidase activity in posttraumatic stress disorder may lead to the development of oxidative stress in the body, as well as significant changes in the biotransformation of xenobiotics some – monoamine metabolized with the participation of monoamine oxidases. In the present paper we discuss the possible contribution of changes in the catalytic activity of monoamine oxidases in the development of liver dysfunction in posttraumatic stress disorder. The study was performed on 40 albino laboratory rats. At different periods of experimental modeling of posttraumatic stress disorder studied the content of the main categories of products of free radical oxidation and deamination activity of monoamines in the suspension of liver mitochondria. It has been shown that increasing the activity of Monoamine oxidase – B may be the cause of prooxidant shifts, which in turn leads to changes in the substrate specificity of Monoamine oxidase – A.

**Keywords:** posttraumatic stress disorder, liver, Monoamine oxidase

Моноаминоксидазы (MAO) – оксидоредуктазы, дезаминирующие моноамины, обладают широкой субстратной специфичностью. Основная функция MAO – поддержание физиологических концентраций эндогенных моноаминов в тканях. Наибольшую активность MAO проявляют в печени, желудке и кишечнике, почках, а также в нервной системе. В нервной системе MAO являются ключевым ферментом метаболизма моноаминов – нейротрансмиттеров, и во многом обеспечивают нейрохимический

контроль поведения. В желудочно-кишечном тракте MAO ограничивают избыточное поступление моноаминов с пищей [2]. В печени и почках MAO активно участвуют в метаболизме эндо- и экзогенных моноаминов, что дает основания относить их к ферментам первой фазы биотрансформации ксенобиотиков [4].

Копродуктом окислительного дезаминирования биогенных аминов под действием MAO является пероксид водорода (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), который участвует в генерации

других активных форм кислорода. По этой причине MAO сегодня считаются не только ключевыми ферментами обмена биогенных аминов, но и активными участниками свободнорадикальных процессов, в определенных ситуациях ответственных за проявления оксидативного стресса [2]. Чрезмерная активация и/или трансформация каталитических свойств MAO может привести к повреждениям печени [5] за счет активации свободнорадикального окисления.

Существенное влияние на функционирование генов, кодирующих изоформы MAO и определяющих их количество и активность, а также некоторые каталитические свойства ферментов в клетке, оказывают глюкокортикоидные гормоны [8]. По этой причине патологические состояния, сопровождающиеся стойкой дисфункцией гипоталамо-гипофизарно-адренортикальной системы, с высокой степенью вероятности могут привести к изменениям активности MAO и трансформации их каталитических свойств. Одним из наиболее распространенных и социально значимых заболеваний такого рода является посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР), тяжёлое психическое состояние, которое сопровождается сохранением высокого уровня тревожности на протяжении длительного времени после психологической травмы. К настоящему моменту является бесспорным факт наличия при ПТСР нарушений функционирования гипоталамо-гипофизарно-адренортикальной системы. Причем в подавляющем большинстве случаев сообщается о стойкой гипокортизолемии у данной категории лиц [10]. Эти расстройства сопровождаются изменениями обмена и биогенных аминов и активности церебральных MAO, а также чрезвычайно высокой частотой сопутствующих заболеваний, среди которых весьма распространена патология печени [7, 10].

Учитывая обозначенные выше особенности функционирования MAO, можно предположить, что изменения их каталитической активности в печени при ПТСР могут привести к развитию окислительного стресса в органе, а также существенным изменениям биотрансформации некоторых ксенобиотиков-моноаминов, метаболизируемых при участии MAO. К ним относят лекарственные препараты – производные фенилэтиламина (ибопамин, докарпамин); некоторые агонисты и антагонисты  $\beta$ -адренорецепторов (фенилэфрин, пропранолол, метопролол, и др.); агонисты серотониновых рецепторов (суматриптан, золмитриптан и др.). При активном участии моноаминоксидаз метаболизируются и не-

которые ингибиторы MAO (алмоксатон, лазабемид) [4], которые в настоящее время широко применяются в лечении ПТСР.

Цель исследования: характеристика каталитических свойств моноаминоксидаз печени при экспериментальном моделировании ПТСР.

### Материалы и методы исследования

Исследование выполнено на 40 белых беспородных лабораторных крысах. Посттравматические стрессовые расстройства моделировали путем содержания животных в условиях постоянного и неизбежного воздействия сильного безусловного раздражителя [6]. Контрольную группу составили интактные животные, не подвергавшиеся стрессорным воздействиям ( $n = 16$ ). Для оценки динамики изменений активности ферментов и содержания продуктов свободнорадикального окисления сформировано четыре опытных группы. Продолжительность воздействия для всех групп составляла 10 суток. Первая опытная группа после десятисуточного воздействия стрессора содержалась в обычных условиях еще в течение 3 суток, вторая – 7 суток, третья – 14 суток ( $n = 8$ ). В суспензии митохондрий, выделенных из гомогенатов печени, определяли активность MAO (в качестве субстратов использовали бензиламин, серотонин и глюкозамин) [2, 3], содержание молекулярных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), уровень спонтанной и металл-катализируемой окислительной модификации белков (ОМБ) по уровню карбонилированных белков и битирозина [1]. Использованный в работе методический подход, подразумевающий параллельное применение нескольких субстратов – моноаминов и внесение индукторов окислительного стресса ( $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$ ) в инкубационную смесь с последующей регистрацией ферментативной активности по выделению аммиака, позволяет оценить изменение каталитических свойств MAO-A [2]. Все исследования проведены одномоментно.

Результаты обработаны методами вариационной статистики и выражены в виде средней арифметической и ее стандартной ошибки ( $M \pm m$ ). Оценка статистической значимости различий осуществлялась с помощью непараметрических критериев. Статистические взаимосвязи изучали при помощи непараметрического корреляционного анализа, выполняя расчёт коэффициентов корреляции рангов по Спирмену ( $R_s$ ).

### Результаты исследования и их обсуждение

На третьи сутки после завершения стрессорных воздействий в суспензии митохондрий печени были выявлены признаки активации перекисного окисления липидов (таблица). На фоне уменьшения содержания вторичных изопропанол-растворимых продуктов в ответ на индукцию ПОЛ  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат (что свидетельствует о снижении антиоксидантного резерва фосфолипидов) увеличивалось содержание изопропанол-растворимых шиффовых оснований.

Статистически значимых изменений активности MAO при этом не наблюдалось.

Тем не менее возможной причиной активации липопероксидации фосфолипидов в данном случае может быть усиление про-

дукции пероксида водорода MAO-B, активность которой имела статистически незначимую тенденцию к увеличению (рисунок).

Содержание продуктов свободнорадикального окисления в суспензии митохондрий печени на различных сроках экспериментального моделирования ПТСП

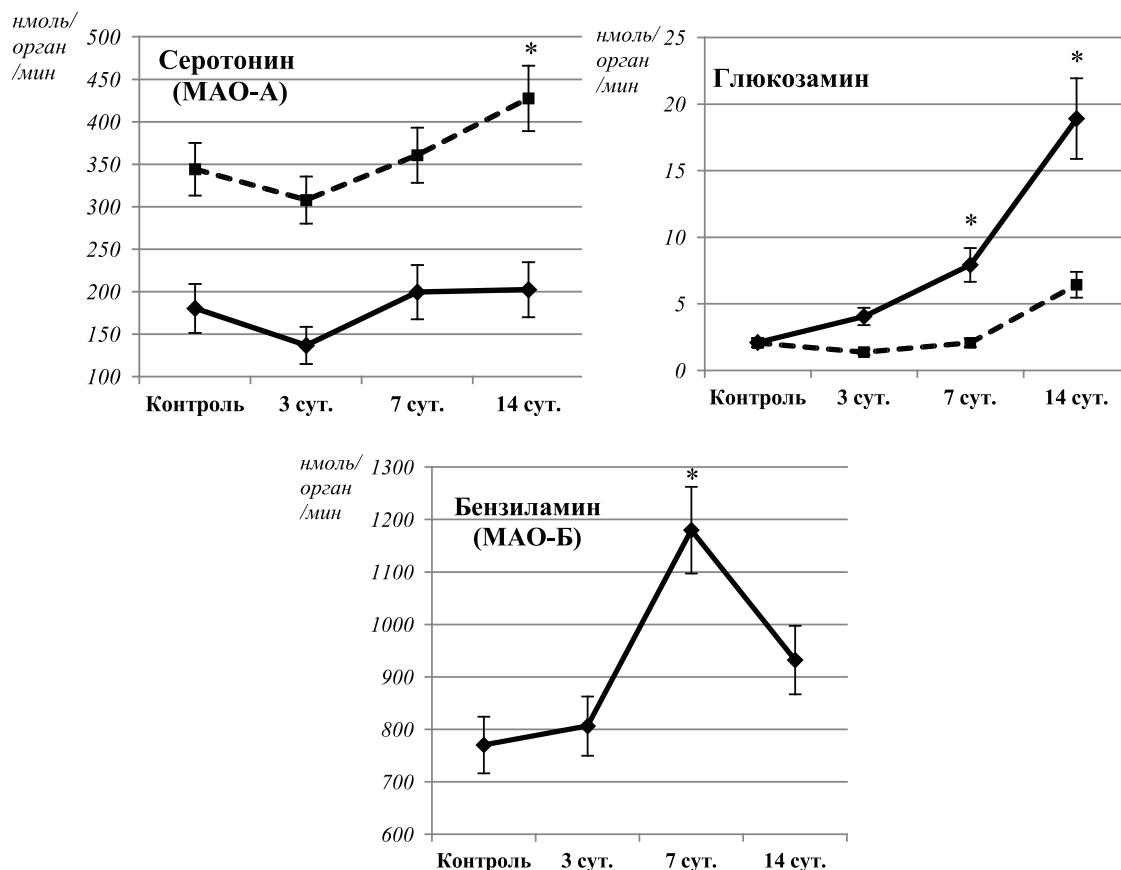
Показатель	Контроль (n = 16)	3 суток (n = 8)	7 суток (n = 8)	14 суток (ПТСП) (n = 8)
Диеновые конъюгаты (гептановая фаза), е.о.и.	0,99 ± 0,01	* 0,96 ± 0,01	0,97 ± 0,01	1,01 ± 0,01
Шиффовы основания (гептановая фаза), е.о.и.	0,01 ± 0,002	0,02 ± 0,001	0,02 ± 0,001	0,01 ± 0,002
Диеновые конъюгаты (изопропанольная фаза), е.о.и.	0,45 ± 0,01	0,48 ± 0,01	0,45 ± 0,01	* 0,38 ± 0,01
Кетодиены и сопряжённые триены (изопропанольная фаза), е.о.и.	0,20 ± 0,01	0,22 ± 0,01	0,20 ± 0,01	* 0,15 ± 0,01
Шиффовы основания (изопропанольная фаза), е.о.и.	0,01 ± 0,003	* 0,03 ± 0,003	0,02 ± 0,001	* 0,00 ± 0,00
Диеновые конъюгаты (изопропанольная фаза, индукция Fe <sup>2+</sup> /аскорбат), е.о.и.	2,24 ± 0,23	1,93 ± 0,29	2,03 ± 0,35	* 2,87 ± 0,18
Кетодиены и сопряжённые триены (изопропанольная фаза, индукция Fe <sup>2+</sup> /аскорбат), е.о.и.	3,54 ± 0,26	* 2,65 ± 0,42	3,97 ± 0,42	4,01 ± 0,37
Окислительная модификация белков, мкмоль/г белка	12,87 ± 3,26	12,55 ± 2,56	9,56 ± 1,98	* 7,51 ± 0,45
Окислительная модификация белков (индукция Fe <sup>2+</sup> /H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), мкмоль/ г белка	32,39 ± 1,34	37,72 ± 2,42	* 39,21 ± 2,98	34,27 ± 2,27
Битирозин, ЕД/ г белка	6,08 ± 0,71	6,12 ± 0,53	6,00 ± 0,44	5,66 ± 0,98

Примечание. \* – статистически значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы; е.о.и. – единицы окислительного индекса.

Данное предположение также подтверждается наличием корреляционных взаимосвязей между активностью MAO-B и содержанием вторичных гептан-растворимых продуктов ПОЛ и уровнем ОМБ ( $R_s = 0,76$ ,  $P = 0,03$  и  $R_s = 0,9$ ,  $P = 0,002$  соответственно). В свою очередь, активация свободнорадикального окисления может быть причиной изменения субстратной специфичности MAO-A. Выявлены корреляционные взаимосвязи между активностью дезаминирования глюкозамина и содержанием первичных ( $R_s = 0,73$ ,  $P = 0,04$ ), вторичных ( $R_s = 0,86$ ,  $P = 0,006$ ) и конечных ( $R_s = 0,73$ ,  $P = 0,04$ ) гептан-растворимых продуктов ПОЛ, а также уровнем ОМБ ( $R_s = 0,73$ ,  $P = 0,04$ ) в суспензии митохондрий печени. При этом активность дезаминирования серотонина (MAO-A) имела прямую взаимосвязь с уровнем вторичных гептан-растворимых продуктов ПОЛ ( $R_s = 0,81$ ,  $P = 0,01$ ) и обратную ( $R_s = -0,88$ ,  $P = 0,004$ ) с уровнем ОМБ, а также наблюдались статистически незначимые тенденции к уменьшению активности дезаминирования серотонина

и увеличению активности дезаминирования глюкозамина.

На седьмые сутки после завершения воздействия стрессора обозначенные выше тенденции реализовались в виде статистически значимого увеличения активности MAO-B и активации окислительного дезаминирования глюкозамина (рисунок), что сопровождалось усилением металл-катализируемого окисления белков (таблица). Выявлены корреляционные взаимосвязи между активностью MAO-B и уровнем вторичных ( $R_s = 0,89$ ,  $P = 0,007$ ) и конечных ( $R_s = 0,92$ ,  $P = 0,003$ ) гептан-растворимых продуктов ПОЛ. Содержание продуктов ПОЛ соответствовало контрольному уровню, а зависимости между активностью окислительного дезаминирования глюкозамина и уровнем продуктов липопероксидации изменили свою направленность: выявлены корреляционные взаимосвязи между активностью дезаминирования глюкозамина и уровнем первичных гептан- ( $R_s = -0,78$ ,  $P = 0,04$ ) и изопропанол-растворимых ( $R_s = -0,96$ ,  $P = 0,0004$ ) первичных продуктов ПОЛ.



Изменения активности окислительного дезаминирования моноаминов в суспензии митохондрий печени крыс на различных сроках экспериментального моделирования ПТСП. Примечания:

\* – статистически значимые отличия от соответствующего показателя контрольной группы. Сплошная линия – спонтанная активность. Пунктирная линия – активность дезаминирования в ответ на введение в инкубационную смесь индуктора окислительного стресса ( $Fe^{2+}/H_2O_2$ )

Через 14 суток после окончания стрессорных воздействий наблюдалось одновременное угнетение процессов ПОЛ и ОМБ (таблица), а также снижение активности MAO-B до уровня контрольных значений (рисунок). Подобного рода дисбаланс между функционированием про- и антиоксидантных систем достаточно широко обсуждается в настоящее время. Считается, что так называемый «восстановительный стресс», в противоположность окислительному, связан с угнетением нормальных процессов свободнорадикального окисления и может иметь еще более негативные последствия [9]. Очевидно, возникший дисбаланс повлиял и на каталитическую специфичность MAO: наблюдалась одновременная активация спонтанного дезаминирования глюкозамина и дезаминирования серотонина в ответ на введение в инкубационную смесь индуктора окислительного стресса. При этом интенсивность дезаминирования серотонина имела прямую взаимосвязь с уровнем ОМБ ( $R_s = 0,95$ ,  $P = 0,0002$ ) (рисунок).

Таким образом, на фоне выраженного дисбаланса между про- и антиоксидантными системами наблюдается трансформация каталитических свойств MAO-A.

### Заключение

Поскольку моноаминоксидазы являются интегральными белками внешней мембраны митохондрий, их функционирование зависит от состояния липидного микроокружения. Частичное окисление сульфгидрильных групп моноаминоксидазы типа А (но не В) сопровождается изменением субстратной специфичности (трансформацией каталитических свойств) и появлением качественно новых реакций дезаминирования соединений, которые обычно являются субстратами диаминоксидаз, и даже соединений, не принадлежащих к числу субстратов аминоксидаз [2]. В ходе нашего исследования выявлены как качественные, так и количественные изменения активности моноаминоксидаз печени при экспериментальном моделировании ПТСП. Окислительный

стресс, также меняющий качественные и количественные характеристики на различных сроках наблюдения, может являться как причиной изменений в дезаминировании аминов, так и его следствием. Увеличение активности MAO-B могло быть причиной прооксидантных сдвигов на 3 и 7 сутки после завершения воздействия стрессора, что в свою очередь привело к изменениям субстратной специфичности MAO-A на 7 и 14 сутки.

#### Список литературы

1. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // Методические рекомендации. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 104 с.
2. Горкин В.З. Аминоксидазы и их значение в медицине. – М.: Медицина, 1981. – 335 с.
3. Москвитина Т.А., Соловьева Н.И. Физиологическое значение аминоксидаз и методы определения их активности // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 1. – С. 3–7.
4. Benedetti M.S. Biotransformation of xenobiotics by amine oxidases // *Fundamental & clinical pharmacology*. – 2001. – Vol. 15. – № 2. – P. 75–84.
5. Chen, S. The protective effect of glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced chronic liver fibrosis in mice via upregulation of Nrf2 / S. Chen, L. Zou, L. Li, T. Wu // *PLoS one*. – 2013. – T. 8. – № 1. – P. e53662.
6. Cohen, H. Setting apart the affected: the use of behavioral criteria in animal models of post traumatic stress disorder / H. Cohen, J. Zohar, M. Matar, A. Michael, K. Zeev // *Neuropsychopharmacology*. – 2004. – Vol. 29. – № 11. – P. 1962–1970.
7. McMillan K.A. Social Anxiety Disorder Is Associated With PTSD Symptom Presentation: An Exploratory Study Within A Nationally Representative Sample / McMillan K.A., Sareen J., Asmundson G. J. G. // *Journal of traumatic stress*. – 2014. – Vol. 27. – № 5. – P. 602–609.
8. Shih J.C. Transcriptional regulation and multiple functions of MAO genes / J.C. Shih, J.B. Wu, K. Chen // *J. Neural. Transm.* – 2011. – Vol. 118. – № 7. – P. 979–986.
9. Sies H. Strategies of antioxidant defense // *European Journal of Biochemistry*. – 1993. – Vol. 215. – № 2. – P. 213–219.
10. Yehuda, R. Ten-year follow-up study of cortisol levels in aging holocaust survivors with and without PTSD / R. Yehuda, A. Morris, E. Labinsky, S. Zelman, J. Schmeidler // *J. Trauma Stress*. – 2007. – Vol. 20. – № 5. – P. 757–761.

#### References

1. Arutyunyan A.V., Dubina E.E., Zybina N.N. Metody ocenki svobodnoradikalnogo okisleniya i antioksidantnoy zaschity [Methods of evaluation of free radical oxidation and antioxidant system]. Saint Petersburg, Foliant, 2000. 104 p.
2. Gorkin V.Z. Aminoksidazyii khznacheniev medicine [Amino oxidase and their importance in medicine]. Moscow, Medicine, 1981. 335p.
3. Moskvitina T.A., Solov'eva N.I. *Klinicheskaja laboratornaia diagnostika*, 2011, no.1, pp. 3–7.
4. Benedetti M.S. Biotransformation of xenobiotics by amine oxidases. *Fundamental & clinical pharmacology*. 2001, Vol. 15, no. 2, pp. 75–84.
5. Chen S., Zou L., Li L., Wu T. The protective effect of glycyrrhetic acid on carbon tetrachloride-induced chronic liver fibrosis in mice via upregulation of Nrf2. *PLoS one*. 2013. Vol. 8, no.1, p. e53662.
6. Cohen H., Zohar J., Matar M., Michael A., Zeev K. Setting apart the affected: the use of behavioral criteria in animal models of post traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2004, Vol. 29, no 11, pp. 1962–1970.
7. McMillan K.A., Sareen J., Asmundson G.J.G. Social Anxiety Disorder Is Associated With PTSD Symptom Presentation: An Exploratory Study Within A Nationally Representative Sample. *Journal of traumatic stress*. 2014, Vol. 27, no. 5, pp. 602–609.
8. Shih J.C., Wu J.B., Chen K. Transcriptional regulation and multiple functions of MAO genes. *J. Neural. Transm.* 2011, Vol.118, no.7, pp. 979–986.
9. Sies H. Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*. 1993, Vol. 215, no. 2, pp. 213–219.
10. Yehuda R., Morris A., Labinsky S., Zelman J. Schmeidler Ten-year follow-up study of cortisol levels in aging holocaust survivors with and without PTSD. *J. Trauma Stress*. 2007, Vol. 20, no 5, pp. 757–761.

#### Рецензенты:

Волчегорский И.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии, ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Челябинск;

Рябинин В.Е., д.б.н., профессор кафедры биологической химии, ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, г. Челябинск.

Работа поступила в редакцию 19.12.2014.