



•Փորձարարական և տեսական հոդվածներ • Экспериментальные и теоретические статьи •
•Experimental and Theoretical articles•

Биолог. журн. Армении, 4 (61), 2009

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ, ВОЗНИКАЮЩИЕ В МОЗГЕ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ДИСФУНКЦИИ ДОФАМИНОВОЙ СИСТЕМЫ ДО И ПОСЛЕ ЛЕЧЕНИЯ

Г.С. КАЗАРЯН

Институт молекулярной биологии НАН РА

Изучали процесс перекисного окисления липидов и содержание фосфолипидов в головном мозге животных при экспериментально вызванном паркинсоническом синдроме в норме и при лечении препаратом, в структуру которого входят никотиновая кислота и литий. Обнаружено нормализующее действие указанного соединения, выражающееся в уменьшении свободно-радикальных реакций, а также в стабилизации мембран, приводящее к нормализации качественного и количественного содержания фосфолипидов в головном мозге животных. Антиоксидантное действие препарата обусловлено наличием в фармакологической структуре препарата никотиновой кислоты и лития.

*Болезнь Паркинсона – перекиси липидов – фосфолипиды – антиоксиданты
– никотиновая кислота – литий*

Ուսումնասիրվել է առնետի գլխուղեղում լիպիդների գերօքսիդացման գործընթացը և ֆոսֆոլիպիդների պարունակությունը նորմայում, փորձարարական պարկինսոնիզմի ժամանակ և նիկոտինաթթվի ու լիթիումական աղի հիմքի վրա սինթեզված պատրաստուկների ազդեցության դեպքում: Հայտնաբերվել է այդ պատրաստուկների կարգավորող ազդեցությունը ազատ ռադիկալային ռեակցիաների գործընթացում, ինչպես նաև թաղանթների կայունացման վրա, կարգավորելով ֆոսֆոլիպիդների քանակական և որակական պարունակությունը կենդանիների գլխուղեղում: Պատրաստուկի հակաօքսիդանտային ազդեցությունը պայմանավորված է նրա դեղաբանական կառուցվածքում նիկոտինաթթվի և լիթիումի առկայությամբ:

*Պարկինսոնի հիվանդություն – լիպիդների գերօքսիդներ – ֆոսֆոլիպիդներ –
հակաօքսիդանտներ – նիկոտինաթթու – լիթիում*

The process of lipid peroxidation and the content of phospholipids in the brain have been studied during experimentally induced Parkinson's syndrome, in the norm and during treatment by preparation, which include nicotinic acid and lithium. The normalizing effect of this compound has been detected, which is expressed by reduction of free radical reactions, as well as by membrane stabilization leading to normalization of qualitative and quantitative content of phospholipids in the brain of animals with experimentally induced Parkinson's syndrome. Antioxidative effect of preparation is conditioned by availability of nicotinic acid and lithium in the pharmacological structure of preparation.

Болезнь Паркинсона (БП) – нейродегенеративное заболевание людей старшего возраста, сопровождающееся нарушением координации движений, ригидностью и тремором. Биохимическим признаком БП является отложение белка α -синуклеина в тельцах Леви и нарушение дофамин-эргической системы окисления. При БП в результате окисления дофамина при участии моноаминоксидазы В образуется супероксидный радикал, обуславливающий развитие окислительного стресса [2,10], при этом наблюдается понижение активности ферментов антирадикальной защиты – глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы [3,12]. Согласно литературным данным, среди наиболее значимых механизмов, приводящих к гибели нейронов при БП, является окислительный стресс [13,15].

Лечение БП препаратами, влияющими на дофаминовую систему, сопровождается возникновением серьезных побочных эффектов. Поэтому в настоящее время большое внимание уделяется поискам препаратов, механизм действия которых непосредственно не связан с влиянием на дофаминергическую систему, в частности антиоксидантам. Однако следует отметить, что без использования препаратов, оказывающих воздействие на дофаминергическую систему, достичь существенного противопаркинсонического эффекта затруднительно. Данные литературы свидетельствуют о том, что одним из перспективных направлений в лечении БП является антиоксидантная терапия [1, 9], которая частично уменьшает неблагоприятное действие противопаркинсонических препаратов.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния нового синтезированного препарата, в структуру которого входят литий и никотиновая кислота, на процесс образования перекисей липидов (ПЛ) и количество фосфолипидов при экспериментально вызванной БП. Препараты лития применяют при различных нейродегенеративных заболеваниях, положительное влияние его связано с участием в процессах энергообмена [7]. Литий конкурирует с ионами натрия, участвуя в регуляции работы кальциевых каналов в митохондриях, а также снижает активацию апоптозного каскада [11]. Указанный препарат в силу своей низкой токсичности и близостью к веществам, синтезируемым в организме, может представлять определенный научно-практический интерес.

Материал и методика. Объектом исследования служили беспородные старые крысы (возраст 2-3 года), содержащиеся в условиях вивария. Моделирование дисфункции дофаминовой системы осуществляли ежедневным внутрибрюшинным введением препарата мадопар (L-3,4 –дигидроксифенилаланин – L-ДОФА) в дозе 50 мг/кг [1,8]. Животные были разделены на 3 группы, в каждой группе было по 10: 1 - интактные; 2 - животные с воспроизведенной БП; 3 – животные с воспроизведенной БП, получавшие исследуемый препарат ежедневно в дозе 10 мг/кг массы животного внутрибрюшинно. Поведенческие характеристики (координация движений, тремор, ригидность мышц, олигокинезия) служили критерием развития болезни.

Об активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) судили по количеству образования гидроперекисей (ГП) и малонового диальдегида (МДА). ГП определяли по цветной реакции с тиоцианатом аммония при максимуме поглощения

480 нм [6]. МДА определяли по реакции с тиобарбитуровой кислотой [4]. Количество белка определяли по Лоури [14]. Статистическую значимость различий оценивали по критерию Стьюдента.

Экстракцию фосфолипидов осуществляли методом Фолча. Фракционирование индивидуальных фосфолипидов проводили методом одномерной хроматографии в тонком слое силикагеля (фирма Мерк, Германия). Минерализацию липидного фосфора проводили в среде серной и азотной кислот с последующим расчетом количества неорганического фосфора в мкг сухой массы [5]. Статистическую значимость различий оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты и обсуждение. В головном мозге интактных животных нами обнаружен определенный стационарный уровень интенсивности свободнорадикальных реакций. Развитие БП сопровождается активированием процесса ПОЛ, что выражается в увеличении содержания гидроперекисей и малонового диальдегида. Увеличению содержания перекисей в головном мозге способствует высокое содержание в нем легкоокисляемых субстратов, таких как полиненасыщенные жирные кислоты, катехоламины, сравнительно низкий уровень антиоксидантов – глутатиона и витамина Е, а также фермента супероксиддисмутазы. Из литературных данных известно, что при БП количество и активность указанных ферментов уменьшается [2], в результате чего увеличивается чувствительность к оксидативному стрессу, приводящему к нарушению баланса антиоксидантов и прооксидантов в сторону последних [3].

В следующей серии исследований нами изучалось влияние препарата на процесс образования ПЛ в головном мозге животных с экспериментально вызванной БП. Поскольку развитие БП может заканчиваться летальным исходом, критерий выживаемости является показателем динамики развития заболевания. В группе животных, получавших исследуемый препарат, погибших особей было значительно меньше, что свидетельствует об эффективности использованного нами вещества.

Как показали результаты исследования, внутрибрюшинное введение препарата в дозе 10 мг/кг приводило к уменьшению образования ГП и ПЛ в головном мозге животных с БП (табл. 1).

Таблица 1. Содержание продуктов перекисного окисления липидов в норме, при развитии паркинсонического синдрома и при лечении

Показатели, нмоль/мг белка	Контроль	Паркинсонический синдром-1	Лечение-2
Гидроперекиси Е	0.51±0,02	0.85±0,03***	0.43±0,025***
МДА	4.94±0,45	7.8±0,35***	5.2±0,1*

1. достоверность отличий по сравнению с контролем
2. достоверность отличий от данных, полученных при исследовании животных с СП, не получавших препарат; *- p<0,05, ***- p<0,001.

Мишенью повреждающего действия свободных радикалов являются липиды, белки, нуклеиновые кислоты; ингибирующее действие радикалов связано с окислительной модификацией мембраны, приводящей к нарушению функций клетки.

Принимая во внимание, что активирование процесса ПОЛ связано с нарушением липидного состава мембран, в следующей серии мы провели исследование качественного и количественного содержания фосфолипидов при БП, а также при введении исследуемого препарата. Согласно результатам исследований, фосфолипидный спектр головного мозга интактных животных представлен следующими фосфолипидами: лизофосфатидилхолином (ЛФХ), монофосфоинозитидом (МФИ), сфингомиелином (СФМ), фосфатидилхолином (ФХ), фосфатидилэтаноламином (ФЭ), фосфатидилсеринем (ФС), кардиолипином (КЛ).

Изучение спектра фосфолипидов в мозговой ткани опытных животных обнаружило увеличение содержания ЛФХ (табл. 2).

Таблица 2. Количественное содержание фосфолипидов при экспериментально вызванном паркинсоническом синдроме и при лечении (мкг/г ткани), n = 10

	Контроль	Паркинсонический синдром-1	Лечение-2
ЛФХ	81,0±6,2	123,4±8,5***	95,3 ±7,8*
СФМ	137,42±12,1	81,36± 7,6**	112,6 ±8,2**
ФХ	616,54 ± 20,3	398,8±15,4***	506,7 ±17,5***
МФИ	128,5 ± 9,3	182,4±12,5**	168,8±13,4
ФС	215,5 ±14,5	161,7±10,5**	193,7±9,2*
ФЭ	461,5 ± 21,3	314,1 ±17,8***	392,0±14,4**
КЛ	128,6 ± 10,5	90,2 ± 9,6**	113,8±8,8

1 - достоверность отличий по сравнению с контролем

2 – достоверность отличий от данных, полученных при исследовании животных с СП, не получавших препарат; * - $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Существует несколько путей метаболизма ЛФХ, нарушение которых может привести к накоплению этого фосфолипида. Первой ферментативной реакцией является гидролиз ФХ при участии фосфолипаз А1, А2, увеличение активности которых может привести к накоплению ЛФХ. Второй причиной накопления ЛФХ в головном мозге при БП является ингибирование активности лизофосфолипазы, участвующей в превращении ЛФХ в глицерофосфохолин и жирную кислоту.

Заслуживает внимания факт уменьшения содержания КЛ в мозговой ткани. Известно, что АТФ-АДФ- синтетаза находится в окружении КЛ. Уменьшение содержания КЛ в головном мозге способствует уменьшению активности указанного фермента и связанному с этим нарушению катионообменных процессов в клетке.

Обнаруженное нами уменьшение ФХ, ФС и ФЭ связано с высокой степенью их окисления в головном мозге, а также способностью взаимопревращаться друг в друга при развитии патологических процессов.

Таким образом, введение животным с моделированной дисфункцией дофаминовой системы исследуемого препарата приводит к частичной нормализации изученных процессов. Анализ полученных данных позволил сделать вывод о том, что использованный нами препарат обладает антиоксидантным действием, уменьшая образование перекисей липидов и нормализуя содержание фосфолипидов в головном мозге животных с паркинсоническим синдромом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боголепов Н.Н., Доведова Е.Л., Герштейн Л.М. *Нейрохимия*, 21, 2, 147-151, 2004.
2. Голубев В.Л., Левин Я.И., Вейн А.М. *Болезнь Паркинсона и синдром паркинсонизма* М., Медпресс, 1999.
3. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. *Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС*. М., 1995.
4. Каган, Б.Н. Орлов, Л.Л. Приштенко, *Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов*. М., ВИНТИ, 136, 1986.
5. *Методы биохимических исследований*, (под ред. Прохоровой), Ленинград, ЛГУ, 1982.
6. Романова Л.А., Стальная И.Д. В кн.: *Современные методы в биохимии*. М., Наука, 1977.
7. Сухоруков Б.С., *Журн. невропат. и психиат.* 108, 6, 63-90, 2008.
8. Худореков П.М., Доведова Е.Л., Воронков Д.Н., *Бюлл. экспер. биол. и мед.* 144, 7, 39-41, 1997.
9. Шток Б.Н., Федорова Н.В. *Рус.мед. журн.*, 6, 13, 837-844, 1998.
10. Cohen G. In *Oxygen radicals and injuru*, 130-135, 1988.
11. Chribi O, Herman M, Spaulding N. J. *Neurochem.*, 82, 1, 137-145, 2002.
12. Damier P., Hirsch E.C., Zhang P., *Neuroscience* 52, 1-6, 1993.
13. Kidd P.M. *Altern Med.Rev.*, 5, 6, 502-529, 2000.
14. O. Lowry, N.J. Rosenbogh, A.J. Farr et al, *J.Biol. Chem.*, 153, 1, 265-275, 1951.
15. Olanow C.W., *Neurology*, 40, 32-37, 1990.

Поступила 22.05.2009.