

EFFECT OF NICOTINAMIDE ON SEROTONIN CONTENT IN BRAIN OF RATS WITH EXPERIMENTAL PARKINSON'S DISEASE

A. Shtompel

National University of Food Technologies

T. Kuchmerovska

Palladin Institute of Biochemistry of the NAS of Ukraine

Key words:

Parkinson's disease
Serotonin
Synaptosomes
Nicotinamide

Article history:

Received 11.02.2012
Received in revised form
20.02.2013
Accepted 1.03.2013

Corresponding author:

E-mail:

sasha_sashenka@hotmail.com

ABSTRACT

The experimental model of Parkinson's disease was created on rats, by administration of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP). The effect of nicotinamide on serotonin content in the rat brain with experimental Parkinson's disease, was investigated. It was found that during Parkinson's disease, induced by MPTP-toxin, the concentration of serotonin in the synaptosomes was reducing compared to the control group of animals. Nicotinamide treatment allowed to normalize the serotonin level in synaptosomes, indicating its participation in the modulation of synaptic transmission of nerve impulses.

ВПЛИВ НІКОТИНАМІДУ НА ВМІСТ СЕРОТОНІНУ В ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ПАРКІНСОНІЗМОМ

О.І. Штомпель

Національний університет харчових технологій

Т.М. Кучмеровська

Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Створена експериментальна модель хвороби Паркінсона у щурів, шляхом введення 1-метил-4-феніл-1,2,3,6-тетрагідропіридину (МРТП). Досліджено вплив нікотинаміду на вміст серотоніну в головному мозку щурів за експериментального паркінсонізму. Встановлено, що при хворобі Паркінсона, індукованій МРТП-токсиком, вміст серотоніну в синаптосомах знижується порівняно з контрольною групою тварин. Введення хворим тваринам нікотинаміду дозволило нормалізувати вміст серотоніну у синаптосомах, що свідчить про участь НАм у модуляції синаптичної передачі нервового імпульсу.

Ключові слова: хвороба Паркінсона, серотонін, синаптосоми, нікотинамід.

Хвороба Паркінсона — нейродегенеративне захворювання, пов'язане з вибірковою ураженням нейронів чорної субстанції, що супроводжується формуванням у них патологічних агрегатів білка α -синуклеїну та утворенням внутрішньоклітинних включень — тілець Леві.

Хвороба Паркінсона становить 75 – 80 % випадків синдрому паркінсонізму. Захворювання зустрічається серед населення всіх континентів земної кулі. За даними різних

авторів, частота захворювання коливається від 60 до 140 на 100 000 населення, і значно збільшується з віком. У віковій групі старше 60 років хворі становлять 1 %, а в популяції старше 85 років — 2,6 % [1].

До розвитку цього нейродегенеративного захворювання, етіологія якого досі не з'ясована, залучені такі фактори, як генетична схильність, порушення мітохондріального дихання та функцій мітохондрій, енергетичний дефіцит нейронів, посилення вільнорадикального окислення з утворенням агресивних перекисів, надмірне накопичення вільних іонів Ca^{2+} , надмірне надходження ксенобіотиків в живі організми [2].

Відомо, що серотонін — нейромедіатор, що відноситься до групи моноамінів. У центральній нервовій системі серотонін синтезується в основному в нейронах, що знаходяться в ядрах шва [3]. Зниження вмісту серотоніну і його метаболізм при хворобі Паркінсона пов'язують з вторинними процесами медіаторної саморегуляції, компенсуючими зниження рівня дофаміну в нігростріарних нейронах. У зв'язку зі здатністю серотоніну гальмувати моторну активність шляхом обмеження ефектів дофаміну в чорній субстанції зниження його рівня може бути компенсаторним. Дефіцит моноамінів до яких належить серотонін, здатен призводити до порушень синаптичної передачі у нейронах лімбічної системи і формувати депресивні стани, що протікають у вигляді різнобічних клінічних синдромів. При усіх формах хвороби Паркінсона спостерігається зниження рівня серотоніну в сировотці крові в порівнянні з контрольною групою, при цьому спостерігається середній та високий рівень депресії, корелюючий зі ступенем рухового дефекту [4].

Метою даної роботи було дослідження впливу нікотинаміду на вміст серотоніну в головному мозку щурів з експериментальним паркінсонізмом. Попередні дані свідчать про те, що NAD^+ , реалізує свою нейромодуляторну дію шляхом залежної від його концентрації деполаризації мембрани та опосередкованої Ca^{2+} стимуляції процесів вивільнення деяких нейромедіаторів, зокрема серотоніну, дофаміну та ГАМК [5].

Моделювання хвороби Паркінсона проводилось на щурах-самцях лінії Вістар масою 280 – 320 г, які утримувались в стандартних умовах віварію. У тварин моделювали МРТР-індукований паркінсонізм шляхом внутрішньочеревинного введення нейротоксину в дозі 30 мг/кг одноразово (МРТР у дозі 20 – 40 мг / кг чинить токсичний вплив як на аксони, так і на тіла нейронів, імітуючи клінічну стадію хвороби Паркінсона).

Тварин поділяли на три групи: контрольну, паркінсонічну та паркінсонічну групу, яка отримувала NAm у дозі 200 мг/кг маси тіла щодобово, внутрішньочеревно, впродовж 14 діб. Спостереження за тваринами проводили кожної доби. Тварин з експериментальним паркінсонізмом декапітували через 20 діб.

На наступному етапі роботи було проведено виділення синаптосом головного мозку щурів за методом диференційного центрифугування в градієнті густини сахарози за методом Abita [6]. Метод представляє собою розподілення фракції синаптосом на ступінчастому градієнті сахарози на трис-НСІ буфері (рН 7,4), який містить шари по 9 мл 1,2 М, 1,0 М, 0,8 М сахарози, в інтерфазі 1 – 1,2 М розчину сахарози, з подальшим виділенням і центрифугуванням після чого отриманий препарат синаптосом ресуспендували у невеликій кількості розчину 0,32 М сахарози та використовували для визначення вмісту серотоніну в синаптичних мембранах.

Для визначення вмісту серотоніну [7] екстракт готували слідуєчим чином: до 2,5 г замороженої та подрібненої тканини додавали 5 мл 15 % HClO_4 . Осаджені хлорною кислотою білки відділяли центрифугуванням при 20000 об/хв протягом 30 хв на холоді. 100 мкл супернатанту вносили на колонку PerRPC C_2/C_{18} (5x50) (фірма «Pharmacia», Швеція). Стандартом служив серотонін-креатин сірчаноокислий, 0,15 мл якого розчиняли у 100 мкл 15 % HClO_4 та наносили на колонку.

Умови розділення:

– стартовий буфер — 0,14 М фосфатний буфер, рН 1,95 — етанол (8:2);

– буфер елюції — 0,05 М фосфатний буфер, рН 1,95 — етанол (8:2).

Фракції збирали по 1 мл/хв на протязі 10 хв на колекторі фракцій FRAC-100 (фірми «Pharmacia»), температура — 308 °К. Вміст серотоніну вимірювали на спектрофлуориметрі «Perkin Elmer» (США) при $I_{\text{будж.}}$ — 282 нм та $I_{\text{флуор.}}$ — 333 нм.

Результати дослідження показали, що вміст серотоніну в головному мозку щурів при експериментальному паркінсонізмі за цієї патології зменшувався на 25 %. Застосування NAm призводить до нормалізації вмісту цього біогенного аміну в корі головного мозку щурів. У порівнянні з вмістом серотоніну у хворих тварин які не отримували лікування, вміст серотоніну в головному мозку щурів які отримували лікування збільшився на 28 %, Рис. 1.

Виразну дію NAm на вміст серотоніну можна пояснити тим, що вони мають спільне джерело біосинтезу — триптофан, і в разі надлишку нікотинаміду більша частина триптофану може перетворюватись у серотонін.

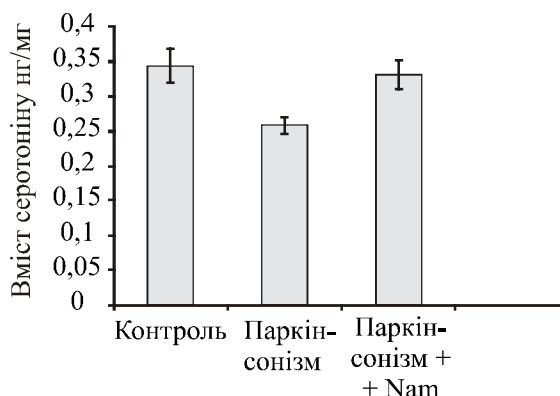


Рис. 1. Вміст серотоніну у корі головного мозку щурів, нг/мг тканини.

Висновок

Отже, в результаті проведеної роботи встановлено, що при експериментальному паркінсонізмі введення NAm, у дозі 200 мг/кг маси тіла щодобово, дозволило нормалізувати вміст серотоніну у синаптосомах на 28 %, що свідчить про участь NAm у модуляції синаптичної передачі нервового імпульсу.

Література

1. *Болезни нервной системы: Руководство для врачей: В 2-х т. — Т. 2 / Под ред. Н.Н. Яхно, Д.Р. Штульмана. — 2-е изд., перераб. и доп. — М.: Медицина, 2001. — с. 480.*
2. *Экстрапирамидные расстройства: Руководство по диагностике и лечению / Под ред. В.Н. Штока, И.А. Ивановой-Смоленской, О.С. Левина. — М.: МЕДпресс-информ, 2002. — 608 с.*
3. *Дубынин В.А. Регуляторные системы организма человека. Учебное пособие для студентов. — М.: Дрофа, 2003. — 368 с.*
4. *Иззати-Заде К.Ф., Баши А.В., Демчук Н.Д. Нарушение обмена серотонина в патогенезе заболеваний нервной системы // Журнал неврологии и психиатрии. — 2004. — № 9. — С. 62 – 70.*
5. *Кучмеровська Т.М., Шиманський І.О. Некоферментна функція вітаміну РР та його біологічно активних похідних: сучасний стан проблеми // Український біохімічний журнал. — 2007. — №5. — С. 59 – 71.*
6. *Abita J.P., Chicheportiche R., Schweitz H., Lazdunski M. Effects of neurotoxins (veratridine, sea anemone toxin, tetrodotoxin) on transmitter accumulation and release by nerve terminals in vitro // Biochemistry. — 1977. — V.16, № 9. — P. 1838 – 1844.*
7. *De Jong J., Tjaden U.R. Analysis of serotonin and derivatives by reversed-phase ion-pair partition chromatography with fluorometric and electrochemical detection // J. Chromatogr. — 1983. — V. 282, № 4. — P. 443 – 56.*

ВЛИЯНИЕ НИКОТИНАМИДА НА СОДЕРЖАНИЕ СЕРОТОНИНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПАРКИНСОНИЗМОМ

А.И. Штомпель

Национальный университет пищевых технологий

Т.М. Кучмеровская

Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины

Создана экспериментальная модель болезни Паркинсона у крыс путем введения 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридину (МРТР). Исследовано влияние никотинамида на содержание серотонина в головном мозге крыс при экспериментальном паркинсонизме. Установлено, что при болезни Паркинсона, индуцированной МРТР-токсином, содержание серотонина в синапсосомах снижается по сравнению с контрольной группой животных. Введение больным животным никотинамида позволило нормализовать содержание серотонина в синапсосомах, что свидетельствует об участии NAm в модуляции синаптической передачи нервного импульса.

Ключевые слова: *болезнь Паркинсона, серотонин, синапсосомы, никотинамид.*