

Корекція окремих ланок обміну серотоніну за експериментального цукрового діабету 2 типу

Ю.Т. Сергійчук¹,
В.В. Конопельнюк¹,
Т.М. Тихоненко²,
Т.М. Кучмеровська^{1,2*}

¹Київський національний університет імені Тараса Шевченка;

²Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України

Резюме. Досліджено сумісний вплив нікотинаміду, ацетил-L-карнітину та α-ліпоєвої кислоти на стан окремих ланок обміну серотоніну та рівень NAD у головному мозку щурів з експериментальним цукровим діабетом 2 типу. На тлі розвитку інсулінорезистентності за цукрового діабету спостерігалось зростання вмісту глюкози та глікозильованого гемоглобіну в крові в 1,8 та 2 рази відповідно. При цьому вміст NAD у мозку щурів знижувався на 44% порівняно з контролем. За умов цукрового діабету вміст триптофану та серотоніну в крові знижувався на 40% та 45%, а в мозку – на 62% та 53% відповідно. Сумісне введення досліджуваних сполук викликало зниження вмісту глюкози та глікозильованого гемоглобіну відповідно в 1,4 та 1,7 рази порівняно з показниками щурів із ЦД 2 типу. Також встановлено нормалізацію вмісту серотоніну в крові та підвищення його вмісту в мозку на 46%, зростання вмісту триптофану в крові та мозку відповідно на 51% та 47% порівняно з показниками щурів з експериментальним цукровим діабетом 2 типу. Активність триптофан-гідроксилази за цукрового діабету підвищувалася на 20% порівняно з контролем та частково знижувалася при сумісному введенні нікотинаміду, ацетил-L-карнітину та α-ліпоєвої кислоти. Таким чином, сумісне введення цих сполук може знайти застосування для корекції порушень функціонування ключових ланок обміну серотоніну в мозку за цукрового діабету 2 типу.

Ключові слова: цукровий діабет 2-го типу, серотонін, нікотинамід, ацетил-L-карнітин, α-ліпоєва кислота.

Цукровий діабет (ЦД) є одним із найпоширеніших ендокринних захворювань в усьому світі, що становить глобальну медико-соціальну проблему XXI століття. На ЦД хворіє понад 366 млн осіб, а до 2030 року, за прогнозом Міжнародної діабетичної асоціації, їх число може збільшитися до 552 млн [1].

* адреса для листування (Correspondence): Інститут біохімії ім. О.В. Палладіна НАН України, вул. Леонтовича, 9, м. Київ, 01601, Україна.
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

© Ю.Т. Сергійчук, В.В. Конопельнюк, Т.М. Тихоненко, Т.М. Кучмеровська

Найбільш поширеним є ЦД 2 типу – складне гетерогенне захворювання, характерною ознакою якого є підвищення рівня глюкози в крові в результаті розвитку резистентності до інсуліну, що супроводжується порушенням її засвоєння периферичними тканинами [2].

Серед пізніх ускладнень ЦД, особливе місце належить периферичній діабетичній нейропатії (ПДН), яка розвивається майже в 50% хворих на ЦД та супроводжується дегенерацією пери-

феричних нервів, структурними uszkodженнями аксонів, мієлінової оболонки та сполучної тканини, що оточує нервові волокна. Вважають, що до розвитку ПДН призводить інтенсифікація окислювального стресу, викликаного гіперглікемією, яка може спричинити модифікації різних білків, зокрема, ензимів та рецепторів у результаті глікозилювання, що змінює їх функції [3].

Не дивлячись на те, що існують відомості щодо механізмів, які лежать в основі розвитку ПДН, на даний час механізми, які залучені до розвитку структурних, метаболічних та функціональних порушень у мозку, досліджені недостатньо.

Наші попередні дослідження продемонстрували, що в мозку за експериментального ЦД 1 типу відбуваються суттєві порушення, пов'язані з активацією процесів полі-ADP-рибозилування ядерних протеїнів, екзоцитозу та функціонального стану медіаторних систем, зокрема серотонінергічної [4-6].

Незважаючи на те, що всі зміни, як вважають деякі дослідники, що відбуваються в центральній нервовій системі за умов розвитку ЦД, є вторинними відносно метаболічних порушень, проте специфічні зміни у функціонуванні нейротрансмітерних систем можуть бути первинними у розвитку таких порушень, як маніакально-депресивний синдром, когнітивні зміни, тощо. Оскільки відомо, що при таких нейродегенеративних захворюваннях як хвороби Паркінсона та Альцгеймера відбуваються суттєві зміни у функціонуванні серотонінергічної та дофамінергічної систем, то останнім часом значну увагу приділяють дослідженню функціонування саме цих систем моноамінів за ЦД 2 типу, особливо в контексті їх функціонального стану та рівня відповідних їм медіаторів [7,8].

За нормальних фізіологічних умов у регуляторній системі організму існує злагоженість у функціонуванні нейромедіаторних систем. Тому зміни вмісту будь-якого із медіаторів, можуть призводити до порушень функціонування медіаторних систем. Показано, що в деяких ділянках мозку підвищений вміст серотоніну знижує вивільнення глутамату і водночас стимулює вивільнення гамма-аміномасляної кислоти (ГАМК) у гіпокампі, лобовій частині мозку та мозочку, тим самим модулюючи глутамат- та ГАМК-опосередковані ефекти в нервових структурах, які відповідають за когнітивні функції та сприйняття болю [9]. Тому не виключено, що зміни вмісту серотоніну та порушення процесів його екзоцитозу можуть не тільки призводити до порушень функціонування інших нейромедіаторних систем, але і до розвитку енцефалопатій за діабету [10,11].

Відсутність чітких уявлень щодо патогенетичних механізмів, що лежать в основі розвитку дисфункцій мозку за ЦД, таких як когнітивні зміни, депресивні стани тощо, на даний час потребує з'ясування цих механізмів, що сприятиме лікуванню діабетичної нейропатії. Серед найбільш вживаних цукрознижувальних засобів, які застосовують при лікуванні ЦД, є препарати групи сульфанілсечовини, меглітиніди, бігуаніди та тiazолідиндіони [12]. Останнім часом найчастіше застосовують метформін, що належить до бігуанідів, основний механізм дії якого полягає у запобіганні розвитку резистентності периферичних тканин до інсуліну, особливо м'язової та печінки, шляхом впливу на експресію інсулінових рецепторів на поверхні клітин та активність тирозинкінази [13].

На даний час увага дослідників зосереджена на пошуку антидіабетичних препаратів природного походження. Більше того, у лікуванні ЦД почали використовувати комплексну терапію із застосуванням одного чи двох компонентів з натуральних джерел. Оскільки інтенсивна гіпоглікемічна терапія не спроможна повністю запобігти розвитку полінейропатій, виправданим є пошук нових, натуральних, препаратів, які б без побічних наслідків могли б корегувати біохімічні процеси, залучені до їх розвитку.

На нашу думку, такі біологічно активні сполуки, як нікотинамід (NAm), ацетил-L-карнітин (AK) та α -ліпоева кислота (α -ЛК), у поєднанні можуть більш ефективно впливати на метаболічні процеси в мозку за ЦД 2 типу.

Так NAm, біологічно активна форма вітаміну B₃, є попередником біосинтезу нікотинаміддинуклеотиду (NAD), який, у свою чергу, залучений до важливих ланок клітинного метаболізму. NAD є коферментом численних дегідрогеназ, які беруть участь в енергетичному обміні клітин. ADP-рибоза, що утворюється з NAD, є субстратом процесів моно- та полі-ADP-рибозилування протеїнів, які надаються при одноланцюгових розривах молекул ДНК за апоптичної загибелі нейронів [14].

Другою сполукою є ацетил-L-карнітин. Однією із основних його функцій є перенесення залишків жирних кислот через внутрішню мітохондріальну мембрану, що забезпечує нормальне протікання процесів β -окислення жирних кислот та синтезу АТР. Окрім важливої ролі в метаболізмі ліпідів, АК є потужним антиоксидантом. Враховуючи його здатність легко проникати через гематоенцефалічний бар'єр, використання АК в якості коригуючого засобу попереджуватиме розвиток окислювальних процесів у нервових клітинах за ЦД [15,16].

α -ЛК є коферментом ензимів групи кокар-

Оригінальні дослідження

боксілаз, ензимів обміну вуглеводів та жирів, особливо при окисному декарбоксілюванні кетокислот (піровиноградної та кетоглутарової). Крім того, α -ЛК володіє антиоксидантною, гіпоглікемічною, імунотропною, нейропротекторною та енергетичною дією [17,18].

Вищезазначене свідчить про можливість поєднання цих біологічно активних сполук природного походження для корекції біохімічних процесів, які порушуються за ЦД.

Метою нашої роботи було з'ясування сумісного впливу NAm, АК та α -ЛК на стан окремих ланок обміну серотоніну в крові та головному мозку й рівень NAD у мозку щурів за експериментального ЦД 2 типу.

Матеріали та методи

Експериментальний ЦД 2 типу викликали одноразовим внутрішньочеревним введенням новонародженим 1-2-добовим щурят розчину стрептозоцину з розрахунку 80 мг на 1 кг маси тіла [19].

Тварин утримували в стандартних умовах при вільному доступі до їжі та води. Дослідження проводились згідно з правилами Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.) [20]. У дослідах використовували самців щурів лінії Wistar масою 180-200 г через 3 місяці після індукції діабету.

Тварини були розділені на 3 групи – контрольна група щурів, група щурів з ЦД 2 типу та щури з ЦД 2 типу, яким протягом 14 діб вводили NAm у дозі 100 мг/кг, α -ЛК – 50 мг/кг та АК – 100 мг/кг маси тіла тварин.

Для контролю розвитку захворювання визначали основні показники ЦД 2 типу. Концентрацію глюкози вимірювали за допомогою приладу «ГЛЮКОФОТ-II» (Україна) згідно з інструкцією. Вміст глікозильованого гемоглобіну вимірювали спектрофотометричним методом за допомогою набору реактивів фірми Lachema (Чехія).

Пероральний тест на толерантність до глюкози проводили відповідно до методу [21] з власними модифікаціями. Перед проведенням тесту тварини натщесерце були анестезовані за допомогою інтраперитонеальної ін'єкції тіопенталу натрію в дозі 40 мг/кг маси тіла тварини. Після визначення концентрації глюкози в крові щурам *per os* за допомогою зонду вводили розчин глюкози в загальному об'ємі 2 мл із розрахунку 2 г/кг маси тварини. Із хвостової вени за допомогою внутрішньовенного катетера через 15, 30 та 60 хв відбирали проби крові, в яких визначали концен-

трацію глюкози. Результати тесту представляли у вигляді глікемічних кривих, які відображають наскільки швидко відбувається нормалізація рівня цукру в крові щурів.

Фракції серотоніну та триптофану з крові та мозку щурів отримували, використовуючи іонно-обмінну хроматографію (Bio Rad, Biologic LP, Richmond, USA). Вміст серотоніну та триптофану визначали спектрофлуориметрично (Shimadzu RF-1501, Японія) при довжині хвилі збудження ($\lambda_{\text{збудж}}$) – 295 нм та випромінювання ($\lambda_{\text{випр}}$) – 550 нм та $\lambda_{\text{збудж/випр}} = 295/550$ нм відповідно [22,23]. Триптофан-гідроксилазну активність (К.Ф.1.14.16.4) визначали спектрофлуориметрично за накопиченням кінцевого продукту реакції 5-гідрокситриптофану при $\lambda_{\text{збудж/випр}} = 295/540$ нм [24]. Визначення триптофан-декарбоксілазної (К.Ф. 4.1.1.28) активності в мозку проводили за методом, який оснований на флуориметричному визначенні накопичення продукту реакції триптаміну ($\lambda_{\text{збудж/випр}} = 280/350$ нм) [25].

Рівень NAD визначали ферментативно з використанням алкогольдегідрогенази (К.Ф. 1.1.1.1) у депротейнізованих та деіонізованих кислотних екстрактах ($\lambda = 340$ нм) [26]. Статистичний аналіз здійснювали за допомогою прикладних програм статистичного аналізу Microsoft Excel. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний критерій Стьюдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

На першому етапі наших досліджень важливо було з'ясувати чи розвивається інсулінорезистентність як характерна ознака ЦД 2 типу в експериментальних щурів та чи здатні досліджувані сполуки (ДС) її запобігати.

На **рис.1** представлені глікемічні криві, які відображають, наскільки швидко нормалізується рівень глюкози в крові у відповідь на введення екзогенної глюкози в групі контрольних тварин, щурів з експериментальним ЦД та в діабетичних щурів за умов сумісного введення NAm, АК та α -ЛК. Виявлено, що швидкість засвоєння глюкози периферичними тканинами знизилась в 1,3 рази в щурів із ЦД 2 типу порівняно з показниками контрольної групи тварин, що узгоджується з літературними даними та відповідає загальній картині розвитку та перебігу ЦД 2 типу [27].

За введення ДС встановлено, що швидкість засвоєння глюкози периферичними тканинами практично повертається до показників контролю. Не виключено, що така сумісна дія цих

сполук на резистентність клітин до інсуліну може здійснюватися завдяки присутності АК, який, як показано в деяких дослідженнях, здатен підвищувати чутливість клітин до інсуліну, тим самим сприяючи засвоєнню глюкози клітинами периферичних тканин організму [28].

Безперечно, що важливими критеріями розвитку ЦД 2 типу є рівень глюкози та глікозильованого гемоглобіну в крові. Так, у щурів з експериментальним ЦД 2 типу спостерігалось підвищення рівня глюкози натще та глікозильованого гемоглобіну в 1,8 та 2 рази (рис. 2, 3) порівняно з показниками контролю. Введення ДС призводило до зниження вмісту глюкози та

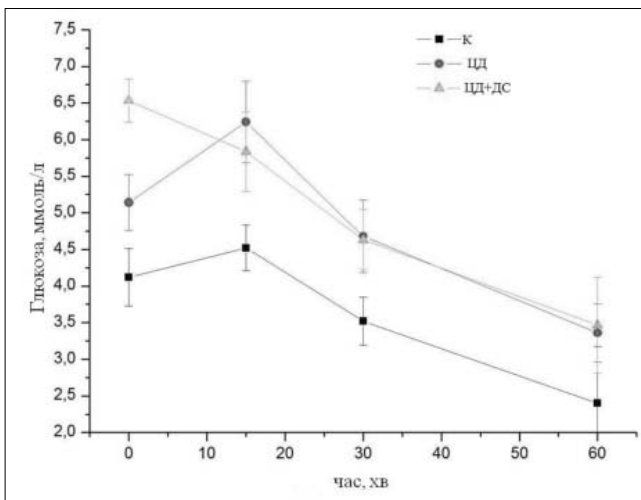


Рисунок 1. Глікемічні криві контрольних щурів (К), щурів з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та за введення на його тлі досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=8$).

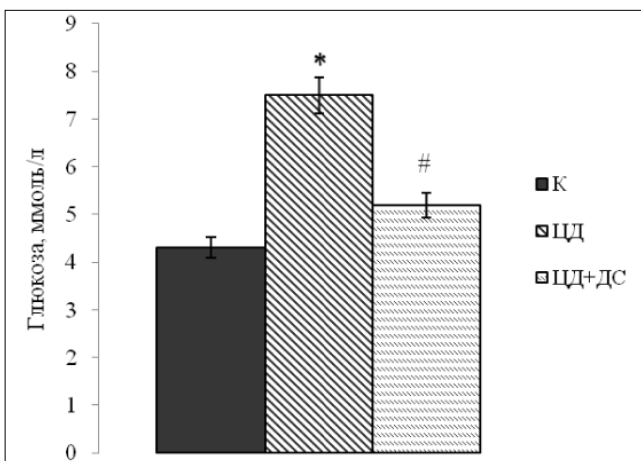


Рисунок 2. Концентрація глюкози в крові контрольних щурів (К), щурів з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та за введення на його тлі досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=8$).

Тут і на рис. 3-7: * - вірогідність різниці порівняно з показниками контрольної групи ($p < 0,05$); # - вірогідність різниці порівняно з показниками групи тварин із ЦД 2 типу ($p < 0,05$).

глікозильованого гемоглобіну в 1,4 та 1,7 рази відповідно порівняно з показниками щурів із ЦД 2 типу. Разом із тим, рівень цих показників залишався достовірно вищим порівняно з відповідними їм у контрольних щурів. Виявлений коригуючий вплив ДС на рівень глюкози та глікозильованого гемоглобіну може здійснюватися за рахунок сумісної дії цих сполук [15-18].

Для з'ясування ролі серотонінергічної медіаторної системи в розвитку енцефалопатії на тлі ЦД 2 типу важливо було визначити вміст NAD та серотоніну, оскільки вони, особливо за патологічних умов, конкурують за спільний попередник їх біосинтезу триптофан. Це є доцільним ще й тому, що нами встановлена здатність NAD модулювати серотонінергічну медіаторну систему, а також були виявлені суттєві зміни вмісту NAD у головному мозку щурів за ЦД 1 типу, що впливало на функціонування цієї нейромедіаторної системи [5]. Більше того, рівень NAD у мозку діабетичних щурів може також відображати функціональну активність численних дегідрогеназ у головному мозку. Як свідчать дані, представлені на рис. 4, вміст NAD у головному мозку щурів з експериментальним ЦД 2 типу знижувався на 44% порівняно з контрольними показниками, що може свідчити як про порушення його біосинтезу в результаті недостатності попередників його синтезу, так і про використання його пулу на реалізацію процесів рибозилування, які активовані за діабету [14]. Відомо, що за дефіциту NAD знижується продукція АТР в гліколітичному шляху.

Введення ДС діабетичним щурам призводило до суттєвого підвищення вмісту NAD у мозку, що може здійснюватися переважно за рахунок NAm, як попередника його біосинтезу. Ці дані також можуть свідчити про те, що на тлі зниження

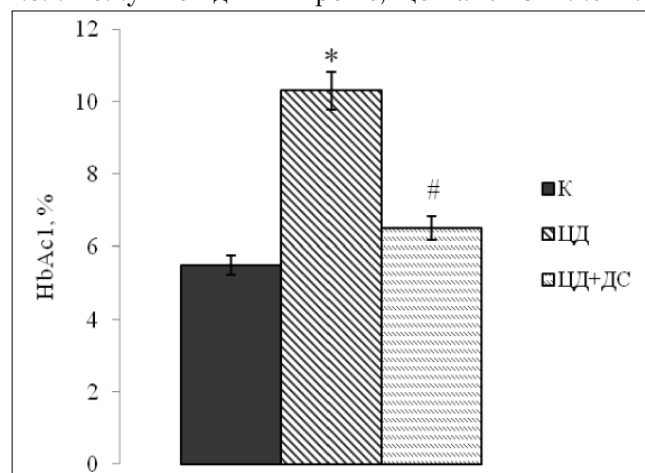


Рисунок 3. Вміст глікозильованого гемоглобіну в крові контрольних щурів (К), щурів з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та за введення на його тлі досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=8$).

Оригінальні дослідження

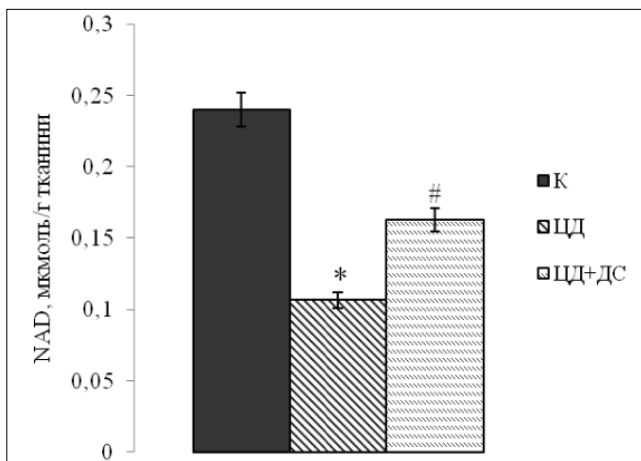


Рисунок 4. Вміст NAD у мозку контрольних щурів (К), щурів з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та за введення на його тлі досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=8$).

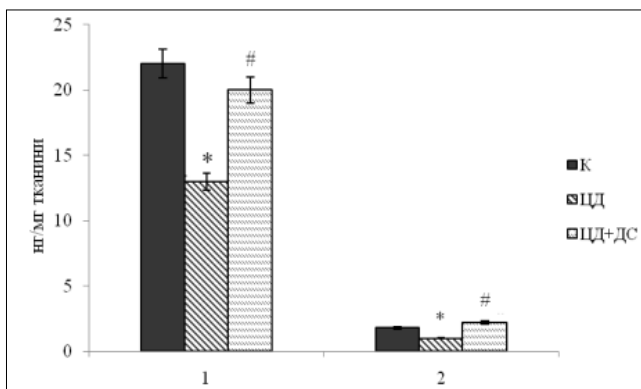


Рисунок 5. Вміст триптофану (1) та серотоніну (2) в сироватці крові контрольних щурів (К), щурів з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та за введення на його тлі досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=8$).

рівня NAD за ЦД буде зазнавати змін функціонування медіаторних систем, зокрема серотонінергічної. Тому важливо було визначити концентрації триптофану та серотоніну в сироватці крові щурів, оскільки триптофан є спільним джерелом біосинтезу серотоніну та NAD.

Як свідчать дані, представлені на **рис. 5**, розвиток ЦД 2 типу супроводжувався зниженням вмісту триптофану на 40%, серотоніну – на 45% у сироватці крові щурів з експериментальним ЦД 2 типу порівняно з контролем.

Зниження вмісту триптофану, з одного боку, може свідчити про порушення співвідношення амінокислот, які конкурують із ним за проходження гематоенцефалічного бар'єру, а з іншого – конкуренцією за нього між NAD та серотоніном. Знижений рівень серотоніну в сироватці крові можна також пояснити порушенням його біосинтезу в клітинах шлунково-кишкового тракту внаслідок недостатності сполук, які за-

лучені до його синтезу, зокрема триптофану. За введення ДС встановлено нормалізацію вмісту серотоніну та підвищення вмісту триптофану на 51% у сироватці крові порівняно з показниками щурів з експериментальним ЦД 2 типу.

Так як було виявлено зниження вмісту триптофану та серотоніну в сироватці крові діабетичних щурів, доцільним було оцінити їх вміст та активність основних ензимів біосинтезу серотоніну в головному мозку контрольних щурів, щурів із стрептозотоцин-індукованим ЦД 2 типу та за умови введення діабетичним щурам NAm, α -ЛК та АК.

Було виявлено зниження вмісту триптофану на 62% в головному мозку щурів із ЦД 2 типу (**рис. 6;1**). При введенні NAm, АК та α -ЛК вміст триптофану в головному мозку щурів збільшився на 47% порівняно з показниками групи щурів із ЦД 2 типу. Підвищення вмісту триптофану в мозку при сумісному застосуванні ДС можна пояснити тим, що завдяки достатній наявності NAm для біосинтезу NAD триптофан не використовується. Не виключено також, що ДС впливають на мембранний транспортер, оскільки припускають, що триптофан із позаклітинної рідини надходить до серотонінергічних нейронів за участі неспецифічного мембранного транспортера, який також залучений до транспорту інших нейтральних амінокислот (валіну, лейцину, ізолейцину) [29,30]. Саме тому вміст триптофану в нейронах та інтенсивність його транспорту з позаклітинного середовища залежать не лише від його концентрації, але й від співвідношення концентрацій конкуруючих із ним нейтральних амінокислот.

Встановлено, що за ЦД 2 типу спостерігається зниження вмісту серотоніну в головному мозку щурів на 53% порівняно з показниками контрольної групи щурів, що пояснюється порушеннями біосинтезу серотоніну внаслідок змін у метабо-

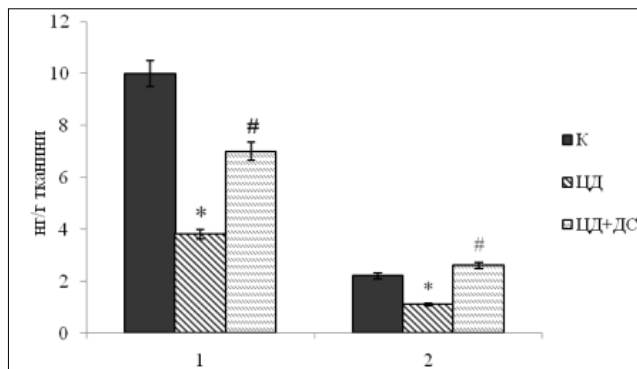


Рисунок 6. Вміст триптофану (1) та серотоніну (2) в головному мозку контрольних щурів (К), щурів з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та за введення на його тлі досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=8$).

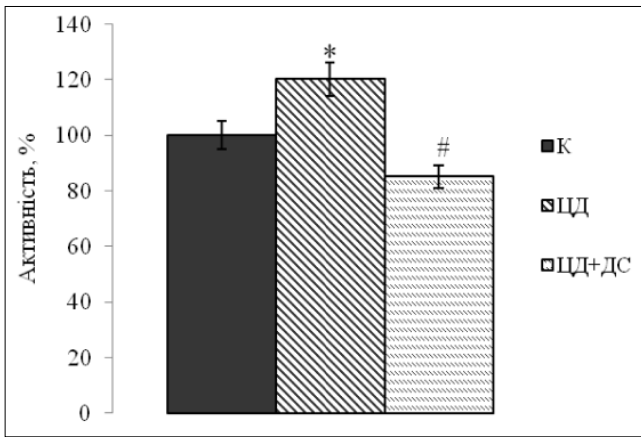


Рисунок 7. Активність триптофан-гідроксилази в мозку контрольних щурів (К), щурів з експериментальним ЦД 2 типу (ЦД) та за введення на його тлі досліджуваних сполук (ЦД+ДС) ($M \pm m$, $n=8$).

лічних процесах, які спрямовані на підтримання фізіологічного рівня серотоніну в організмі [31]. При введенні NAm, α -ЛК та АК спостерігалось зростання вмісту серотоніну на 54% порівняно з групою тварин із ЦД 2 типу (рис. 6;2). Отримані нами дані узгоджуються з даними, які показують, що корегуючий ефект ДС може досягатися за рахунок здатності АК модулювати допамінергічну систему, інтенсифікуючи продукування серотоніну та посилюючи його дію, а також захищаючи клітини мозку від нейротоксичної дії аміаку [32].

Відомо, що ключовим ферментом біосинтезу серотоніну є триптофан-гідроксилаза, активність якої була на 20% вище порівняно з контролем (рис. 7). Введення ДС знижувало активність досліджуваного ферменту на 33% порівняно з показниками щурів діабетичної групи. Оскільки вміст субстрату триптофан-гідроксилази, триптофану, у мозку та сироватці крові, навпаки підвищився за введення ДС, то зниження активності триптофан-гідроксилази може відбуватися за рахунок змін експресії цього ферменту [33].

Оскільки достовірних змін триптофан-декарбоксілазної активності в головному мозку щурів виявлено не було, дані не наведені.

Грунтуючись на отриманих нами даних, можна зробити висновок, що зниження вмісту триптофану і серотоніну в крові та мозку і рівня NAD у мозку відбувається за рахунок конкуренції між ферментами, які використовують їх спільний попередник, триптофан, а підвищення активності триптофан-гідроксилази в мозку свідчить про те, що за цієї патології відбуваються суттєві порушення у функціонуванні серотонінергічної медіаторної системи. Це, у свою чергу, може призводити до змін функціонування інших медіаторних систем, і не лише збудливих, але й гальмівних.

Всі виявлені нами порушення лежать в основі патогенетичних механізмів, які призводять до виникнення та прогресування діабетичної енцефалопатії. Сумісне введення NAm, α -ЛК та АК сприяло нормалізації досліджуваних показників обміну серотоніну та рівня NAD, які відіграють важливу роль у функціонуванні мозку.

Список використаної літератури

1. Shaw J.E., Sicree R.A., Zimmet P.Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030 // *Diab. Res. Clin. Pr.* 2010, N 87, 4-14.
2. Lin Y. and Sun Z. Current views on type 2 diabetes // *J. Endocrin.* 2010, N 204, 1-11.
3. Tesfaye S., Selvarajah D. Advances in the epidemiology, pathogenesis and management of diabetic peripheral neuropathy // *Diab. Metab. Res. Rev.* 2012, N 28, 8-14.
4. Drel V.R., Pacher P., Stavniichuk R., Xu W., Zhang J., Kuchmerovska T.M., Slusher B., Obrosova I.G. Poly(ADP-ribose) polymerase inhibition counteracts renal hypertrophy and multiple manifestations of peripheral neuropathy in diabetic Akita mice // *Int. J. Mol. Med.* 2011, 4, N 28, 629-635.
5. Kuchmerovska T., Shymanskyi I., Donchenko G., Pakirbaeva L., Klimenko A. Poly-ADP-ribosylation enhancement in brain cells nuclei is associated with diabetic neuropathy // *J. Diab. Complicat.* 2004, 18, N 4, 198-204.
6. Kuchmerovska T.M., Shymanskyi I.O., Donchenko G.V., Yanitska L.V., Kopelevich V.M., Klimenko A.P. The effect of acetyl-L-carnitine on mitochondrial function and release of serotonin under diabetes // *Dop. NAS Ukraine.* 2008, N 6, 168-172.
7. Cereda E., Barichella M., Pedrolli C., Klersy C., Cassani E., Caccialanza R. and Pezzoli G. Diabetes and risk of Parkinson's disease: a systematic review and meta-analysis // *Diabetes Care.* 2011, N 12, 2614-2623.
8. Gallego M., Setien R., Izoquierdio M.J. Casis O., Casis E. Diabetes-induced biochemical changes in central and peripheral catecholaminergic systems // *Physiol. Res.* 2003, N 52, 735-741.
9. Fallon S., Shearman E., Sershen H., Lajtha A. The effects of glutamate and GABA receptor antagonists on nicotine-induced neurotransmitter changes in cognitive areas // *Neurochem. Res.* 2007, 32, N 4-5, 535-553.
10. Ciranna L. Serotonin as a modulator of glutamate- and GABA-mediated neurotransmission: implications in physiological functions and in pathology // *Cur. Neuropharmacol.* 2006, N 4, 101-114.
11. Viguieri F., Michota B., Hamona M., Bourgoina S. Multiple roles of serotonin in pain control mechanism - implications of 5-HT7 and other 5-HT receptor types // *Europ. J. Pharmacol.* 2013, N 716, 8-16.
12. Bailey C.J., Campbell I.W., Chan J.C.N., Davidson J.A., Howlett H.C.S., Ritz P. Metformin. The Gold Standard. A Scientific Handbook // Wiley & Sons Incorporated, 2007, 272 p.
13. Viollet B., Guigas B., Sanz Garcia N., Leclerc J., Foretz M., Andreelli F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview // *Clin. Sci.* 2012, 6, N 122, 253-270.
14. Kewal K.J. The handbook of neuroprotection // New York: Humana, 2011. 547 p.
15. Ribas G.S., Vargas C.R., Wajner M. L-carnitine supplementation as a potential antioxidant therapy for inherited neurometabolic disorders // *Gene.* 2014, 2, N 533, 469-476.
16. Onofri M., Ciccocioppo E., Varanese S., di Muzio A., Calvani M., Chiechio S., Osio M., Thomas A. Acetyl-L-carnitine: from a biological curiosity to a drug for the peripheral nervous system and beyond // *Expert Rev. Neurother.* 2013, 8, N 13, 925-936.
17. Ziegler D., Nowak H., Kempler P., Vargha P., Low P.A. Treatment of symptomatic diabetic polyneuropathy with the antioxidant alpha-lipoic acid: a meta-analysis // *Diabetic Med.* 2004, N 21, 114-121.
18. Udupa A., Nahar P., Shah S., Kshirsagar M., Ghongane B. A comparative study of effects of omega-3 fatty acids, alpha lipoic acid and vitamin E in type 2 diabetes mellitus // *Ann. Med. Health Sci. Res.* 2013, 3, N 3, 442-446.

Оригінальні дослідження

19. Hemmings S.J., Spafford D. Neonatal STZ model of type II diabetes mellitus in the Fischer 344 rat: characteristics and assessment of the status of the hepatic adrenergic receptors // *Int. J. Biochem. Cell B.* 2000, N 32, 905-919.
20. Murzin O.B. European Convention for the protection of animals used for experimental and other scientific purposes // *Handbook for practical training in human physiology.* Dnepropetrovsk: Publishing Dnipropetrovsk University, 2004. 148 p.
21. Islam M.A., Akhtar M.A., Khan M.R., Hossain M.S., Alam A.H., Ibne-Wahed M.I., Amran M.S., Rahman B.M., Ahmed M. Oral glucose tolerance test (OGTT) in normal control and glucose induced hyperglycemic rats with *Coccinia cordifolia* L. and *Catharanthus roseus* L. // *Pak. J. Pharm. Sci.* 2009, N 4, 402-404.
22. Gaitonde M.K. A fluorimetric method for the determination of tryptophan in animal tissues // *Biochem. J.* 1974, N 139, 625-631;
23. Weissbach H., Waalkes T.P., Udenfriend S. A simplified method for measuring serotonin in tissue; simultaneous assay of both serotonin and histamine // *J. Biol. Chem.* 1958, 230, N 2, 865-871.
24. Kuhn D.M., O' Callaghan J.P., Juskevich J., Lovenberg W. Activation of brain tryptophan hydroxylase by ATP-Mg²⁺: dependence on calmodulin // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1980, N 77, 4688-4691.
25. Enbaek F, Magnussen I. Determination of 5-hydroxytryptophan in plasma by high-performance liquid chromatography and fluorometric detection after phthalaldehyde reaction // *Clin. Chem.* 1978, N 24(2), 376-378.
26. *Methods of Enzymatic Analysis.* Bergmeyer H.-U. (ed). New York, London: Verlag Chemie, 1963. 1064 p.
27. Arulmozhi D.K., Veeranjanyulu A., Bodnakar S.L. Neonatal streptozotocin-induced rat model of Type 2 diabetes mellitus: A glance // *Indian J. Pharmacol.* 2004, 4, N 36, 217-221.
28. Ringseis R., Keller J. Role of carnitine in the regulation of glucose homeostasis and insulin sensitivity: evidence from in vivo and in vitro studies with carnitine supplementation and carnitine deficiency // *Eur. J. Nutr.* 2012, 1, N 51, 1-18.
29. Walther D.J. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform // *Science.* 2003, 299, 76-82.
30. Sima A.A. Acetyl-L-carnitine in diabetic polyneuropathy: experimental and clinical data // *CNS Drugs.* 2007, N 21, suppl.1, 13-23.
31. Lam D.D. and Heisler L.K. Serotonin and energy balance: molecular mechanisms and implications for type 2 diabetes // *Expert Rev. Mol. Med.* 2007, 22, N 9, 1-24.
32. Zhang R., Zhang H., Zhang Z., Wang T., Niu J, Cui D., Xu S. Neuroprotective effects of pre-treatment with L-carnitine and acetyl-L-carnitine on ischemic injury in vivo and in vitro // *Int. J. Mol. Sci.* 2012, 2, N 13, 2078-2090.
33. Herrera R., Manjarrez G., Hernandez J. Inhibition and kinetic changes of brain tryptophan-5-hydroxylase during insulin-dependent diabetes mellitus in the rat // *Nutr. Neurosc.* 2005, 1, N 8, 57-62.

(Надійшла до редакції 10.04.2014)

Коррекция отдельных звеньев обмена серотонина при экспериментальном сахарном диабете 2 типа

Ю.Т. Сергейчук¹, В.В. Конопельнюк¹, Т.М. Тихоненко², Т.М. Кучмеровская^{1,2}

¹Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко

²Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины

Резюме. Исследовано совместное влияние никотинамида, ацетил-L-карнитина и α-липовой кислоты на состояние отдельных звеньев обмена серотонина и уровень NAD в мозге крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа. На фоне развития инсулинорезистентности при сахарном диабете наблюдалось повышение уровня глюкозы и гликозилированного гемоглобина в крови в 1,8 и 2 раза соответственно. При этом уровень NAD в мозге крыс снижался на 44% по сравнению с контролем.

При сахарном диабете содержание триптофана и серотонина в крови снижалось на 40% и 45%, а в мозге на 62% и 53% соответственно. Совместное введение исследуемых веществ привело к снижению содержания глюкозы и гликозилированного гемоглобина в 1,4 и 1,7 раза соответственно по сравнению с показателями крыс с сахарным диабетом. Также установлены нормализация уровня серотонина в крови и повышение его содержания в мозге на 46%, увеличение уровня триптофана в крови и мозге на 51% и 47% соответственно по сравнению с показателями крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа. Активность триптофан-гидроксилазы при сахарном диабете повышалась на 20% по сравнению с контролем и частично снижалась после совместного введения никотинамида, ацетил-L-карнитина и α-липовой кислоты. Таким образом, совместное введение этих соединений может найти применение для коррекции нарушений функционирования ключевых звеньев обмена серотонина в мозге при сахарном диабете 2 типа.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, серотонин, никотинамид, ацетил-L-карнитин, α-липовая кислота.

CORRECTION OF SEPARATE LINKS OF SEROTONIN METABOLISM UNDER EXPERIMENTAL TYPE 2 DIABETES

Iu.T. Sergiichuk¹, V.V. Konopelnuk¹, T.M. Tyhonenko², T.M. Kuchmerovska^{1,2}

¹Kyiv Taras Shevchenko National University

²A.V. Palladin Institute of Biochemistry, Natl Acad. Sci. of Ukraine

Summary. It was investigated the joint effect of nicotinamide, acetyl-L-carnitine and α-lipoic acid on the separate links of serotonin metabolism and NAD levels in the brain of rats with experimental type 2 diabetes mellitus. The development of diabetes lead to insulin resistance, increased blood glucose and glycosylated haemoglobin levels at 1.8 and 2 times respectively. The content of NAD in brain of rats was decreased by 44% as compared to control. Diabetes evoked the decrease of tryptophan and serotonin levels in the blood by 40% and 45%, and in the brain by 62% and 53% respectively. The joint administration of these compounds caused reduction of glucose and glycosylated haemoglobin levels at 1.4 and 1.7 times respectively compared to rats under type 2 diabetes. Normalization of serotonin level in blood and its increase in brain by 46%, elevation of tryptophan content in blood and brain by 51% and 47% respectively compared to rats under type 2 diabetes were also established. Tryptophan hydroxylase activity in diabetic brain was increased by 20% and was partially decreased after the joint administration nicotinamide, acetyl-L-carnitine and α-lipoic acid. Thus, the joint administration of these compounds may be useful for correction of functional alterations of key links of serotonin metabolism in brain under type 2 diabetes mellitus.

Keywords: type 2 diabetes mellitus, serotonin, nicotinamide, acetyl-L-carnitine, α-lipoic acid.