

Исследование содержания ганглиозидов и продукта их гидролитического распада — сфингозина — при экспериментальном паркинсоническом синдроме

Овсепян Л.М., Казарян Г.С., Зангинян А.В., Захарян Г.В.

Институт Молекулярной биологии НАН РА, 0014, Армения, Ереван, ул.Асратяна, 7

Проведено исследование по определению содержания ганглиозидов и продукта гидролитического распада ганглиозидов — сфингозина при экспериментально вызванном синдроме болезни Паркинсона. Модель экспериментального синдрома болезни Паркинсона осуществляли ежедневным внутрибрюшинным введением МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрапиридин). Как показали результаты исследования, в головном мозге животных с синдромом болезни Паркинсона наблюдается уменьшение всех основных фракций ганглиозидов. Исследования содержания сфингозина позволило обнаружить увеличение его содержания в головном мозге, что, по всей видимости, объясняется гидролитическим распадом ганглиозидов. Полученные нами данные позволяют предположить, что дисрегуляция метаболизма ганглиозидов может являться ключевым механизмом в патогенезе развития болезни Паркинсона.

Ключевые слова: болезнь Паркинсона, ганглиозиды, сфингозин

Введение

В патогенезе нервных и психических расстройств большое значение придается дисбалансу нейромедиаторных систем. С нарушением дофаминергической системы связывают дискинезии, гиперкинезии, депрессию, патологическую агрессивность. Наиболее известными патологиями, связанными с дофамином, являются шизофрения и паркинсонизм.

Болезнь Паркинсона — хроническое нейродегенеративное заболевание, сопровождающееся прогрессирующим разрушением и гибелью дофаминовых нейронов в головном мозге, приводящее к резкому снижению концентрации нейромедиатора дофамина в полосатом теле, а также накоплению внутриклеточных включений в нейронах (тельца Леви), главным компонентом которых является белок альфа-синуклеин [4]. Известно, что любой патологический процесс связан с повреждением мембранных систем клетки, что имеет первостепенное значение в развитии дисфункции клетки. Динамические процессы, развивающиеся на поверхности мембран, их скорость и интенсивность влияют на проведение нервных импульсов, образование синаптических контактов, сортировку, передачу и хранение информации, нарушения клеточной сигнализации и усиление апоптоза.

Ганглиозиды (ГЗ) относятся к группе кислых гликолипидов, расположены повсеместно во внешнем слое плазматической мемbrane клеток млекопитающих. ГЗ являются маркерными липидами мембран нейронов и глияльных клеток, особенно, в синаптических участках. Большое количество данных литературы свидетельствует об участии ГЗ в иммунологических процессах, с ними связаны процессы трансмембранного переноса, межклеточных взаимодействий, активация и экспрессия лимфоцитов [8].

Целью настоящего исследования явилось исследование содержания ГЗ и продукта их гидролитического распада сфингозина в норме и при экспериментально вызванном паркинсоническим синдромом (ПС).

Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на беспородных белых старых крысах (возраст 2–2,5 года), содержащихся в условиях вивария. Моделирование экспериментального ПС осуществляли путем ежедневного внутрибрюшинного введения МФТП (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрапиридин) в дозе 25,0 мг/кг в течение 5 дней. Поведенческие характеристики (координация движений, тремор, ригидность мышц, олигокинезия) служили критерием развития болезни.

ГЗ определяли методом тонкослойной хроматографии (пластины компании Merck, Германия) в системе растворителей хлороформ : метанол : 2.5М аммиак (60:35:8) [3]. Количественное содержание сфингозина, полученного при гидролитическом распаде общей фракции ГЗ головного мозга проводили в смеси конц. HCl : вода : метанол (8,6:9,4:82) в течение 18 ч при 80°C. Сфингозин экстрагировали этилацетатом, окрашенный комплекс с метилоранжем фотометрировали на СФ при длине волны 415 нм [5]. Статистическую значимость результатов оценивали по критерию Стьюдента.

Результаты исследования и обсуждение

При изучении состава ГЗ в головном мозге (таблица) контрольных животных нами обнаружены 4 представителя этих соединений, отличающихся содержанием нейраминных кислот, характеризующихся высоким уровнем обменности.

В зависимости от содержания сиаловых кислот в ГЗ они подразделяются на моно-, ди-, три- и тетрациалГЗ. Для нормальной активности головного мозга необходим полный набор индивидуальных ГЗ. При изменении функционального состояния организма в первую очередь меняется метаболизм индивидуальных ГЗ [6].

Результаты наших исследований показали, что в головном мозге животных с ПС наблюдается уменьшение всех основных фракций ГЗ. Особый интерес вызывает изменение суммарного содержания ГЗ. Как показали результаты исследования, суммарное содержание ГЗ у конт-

Содержание ганглиозидов (мкг сиаловых кислот/г ткани) и сфингозина в мозговой ткани при ПС

ГЗ	Контроль		ПС	
	мкг/г	% от суммы	мкг/г	% от суммы
Моносиал ГЗ	112 ± 5,6	13,0	72,4 ± 6,1 p<0,001	12,11
Дисиал ГЗ-1	305 ± 7,0	35,49	212,9 ± 5,9	35,63
Дисиал ГЗ-2	119 ± 6,8	13,84	70,3 ± 6,4 p<0,002	11,76
ТрисиалоГЗ	286 ± 7,3	33,28	213,7 ± 6,5 p<0,005	35,76
Тетрасиал ГЗ	37,3 ± 5,3	4,34	28,2 ± 7,2 p<0,5	4,71
Сумма	859,3 ± 40		597,5 ± 33,5 p<0,002	
Сфингозин (мкмоль/г белка)	40,3 ± 3,4		20,2 ± 1,3 p<0,001	

рольных животных составляет 859,3 мкг/г ткани, а у животных с ПС уже 597,5 мкг/г ткани.

Возможно, что это снижение обусловлено уменьшением суммарного количества нейронов в динамике дегенеративного процесса. Это предположение косвенно подтверждается данными об уменьшении содержания ГЗ на инволюционных стадиях онтогенеза, при сенильных деменциях, сопровождающих прогрессирующие атрофии мозга, и при сосудистых поражениях мозга [7].

Указанные гликолипиды располагаются во внешнем монослое плазматических мембран таким образом, что их углеводная цепь, несущая суммарный отрицательный заряд, экспонирована во внешнюю среду. Регуляция состава гликофинголипидов в плазматической мембране влияет на возбудимость нейрона. В нейронах спинных ганглиев, у которых повреждены аксоны вследствие пережатия, изменяется метаболизм ГЗ, что сопровождается повышением количества молекул сиаловой кислоты на клеточной мембране. Считается, что повышение отрицательного заряда плазматической мембраны (за счет молекул сиаловой кислоты) приводит к гипервозбудимости нейрона [10].

Одним из продуктов гидролитического распада ГЗ является сфингозин. Исследования содержания сфингозина (таблица) позволило обнаружить увеличение его в головном мозге, что, по всей видимости, объясняется гидролитическим распадом ГЗ. В последнее время сфингозин привлекает внимание исследователей в связи с его участием в регуляции пролиферации и гибели клеток, что связано с его способностью ингибировать активность протеинкиназы С [2], которая участвует в ключевых событиях сигнальной трансдукции и клеточной регуляции.

Изменение содержания сфингозина в нейрональных мембранах может явиться причиной широкого ряда нейродегенеративных заболеваний. Церамиды и сфингозин являются медиаторами апоптоза и образуются внутриклеточно как продукты катаболизма гликофинголипидов (сфингомиелин/сфингомиелиназный механизм) и/или при расщеплении галактозил-глюкозилцерамида (галактозилцерамид/ глюкозидазный механизм) лизосомальными и цитоплазматическими гидролазами.

Результаты полученных нами данных позволяют заключить, что при ПС имеет место ферментативное расщепление кислых гликолипидов, что, по всей видимости, связано с повышением активности ферментов, приводящих к накоплению сфингозина. Свободный

сфингозин образуется из церамида в результате ферментативного расщепления церамидазой с образованием свободного сфингозина и жирной кислоты. По всей видимости, увеличение сфингозина, полученного от ГЗ, играет определенную роль в развитии патологического процесса в головном мозге животных с ПС.

Особую значимость представляют данные, в которых указываются, что экзогенные ГЗ при их системном введении животным, подвергнутым действию ишемии, гипоксии или с различными видами травм мозга, предохраняют от гибели практически все типы нейронов [1]. Имеются также данные улучшения состояния пациентов с болезнью Паркинсона и Альцгеймера при долгосрочном введении им моносиалганглиозида [9].

Таким образом, полученные нами данные позволяют заключить, что дисрегуляция метаболизма ГЗ может явиться ключевым механизмом в патогенезе развития ПС и, возможно, других форм патологии нервной системы.

Список литературы

1. Аврова Н.Ф., Тюрин Ю.Ю., Тюрина В.А., Иванова В.П. Протекторный эффект ганглиозидов при окислительном стрессе в тканях мозга, сердца и др. органах // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1994. — Т. 2. — С. 198—200.
2. Алесенко А.В. Функциональная роль сфингозина в индукции пролиферации и гибели клеток // Биохимия. — 1998. — Т. 63, №1. — С. 75—82.
3. Бергельсон Л.Д., Дятловская Э.В., Молотковский Ю.Г. Препаративная биохимия липидов. — М.: Наука, 1981. — 259 с.
4. Крыжановский Г.Н., Карабань И.Н., Магаева С.В. и др. Болезнь Паркинсона. — М.: Медицина, 2002. — 335 с.
5. Прохорова М.И. Методы биохимических исследований. — Л.: Ленинг. универ., 1982. — 272 с.
6. Mlnac K., Kalanj B. Role of gangliosides in brain aging and neurodegeneration // Translation Neuroscience. — 2010. — Vol. 1 (4). — P. 300—307.
7. Farooqui A.A., Horrocks L.A., Farooqui T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. // Chem. Phys. Lipids — 2000. — Vol. 106(1). — P. 1—29.
8. Pobert K. Yu, Yi-Tzang sai, Toshio Ariga Structures, Biosynthesis, and Functions of Gangliosides // J. Oleo Sci. — 2011. — Vol. 60. — P. 537—544.
9. Schneider J.S. GM1 ganglioside in the treatment of Parkinson's disease // Ann. NY Acad. Sci. — 1998. — Vol. 845. — P. 363—373.
10. Schnaar R.L. Brain gangliosides in axon -myelin stability and axon regeneration // FEBS Let. — 2010. — Vol. 584. — P. 1741—1747.

Поступила 20.02.2015

References

1. Avrova N.F., Tjurin Ju.Ju., Tjurina V.A., Ivanova V.P. Protek-tornyj jeffekt gangliozidov pri okislitel'nom stresse v tkanjah mozga, serdca i dr. organah // Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny. — 1994. — T. 2. — C. 198–200.
2. Alesenko A.V. Funkcional'naja rol' sfingozina v indukcii prolifera-cii i gibeli kletok // Biohimija. — 1998. — T. 63, №1. — C. 75–82.
3. Bergel'son L.D., Djabatlovickaja Je.V., Molotkovskij Ju.G. Prepa-rativnaja biohimija lipidov. — M.: Nauka, 1981. — 259 s.
4. Kryzhanovskij G.N., Karaban' I.N., Magaeva S.V. i dr. Bolezn' Parkinsona. — M.: Medicina, 2002. — 335 s.
5. Prohorova M.I. Metody biohimicheskikh issledovanij. — L.: Le-ning. univ., 1982. — 272 s.
6. Mlnac K., Kalanj B. Role of gangliosides in brain aging and ne-urodegeneration // Translation Neuroscience. — 2010. — Vol. 1 (4). — P. 300–307.
7. Farooqui A.A., Horrocks L.A., Farooqui T. Glycerophospholi-pids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functi-ons, and involvement in neurological disorders. // Chem. Phys. Lipids — 2000. — Vol. 106(1). — P. 1–29.
8. Pobert K. Yu, Yi-Tzang sai, Toshio Ariga Structures, Biosynthe-sis, and Functions of Gangliosides // J. Oleo Sci. — 2011. — Vol. 60. — P. 537–544.
9. Schneider J.S. GM1 ganglioside in the treatment of Parkinson's disease // Ann. NY Acad. Sci. — 1998. — Vol. 845. — P. 363–373.
10. Schnaar R.L. Brain gangliosides in axon -myelin stability and axon regeneration // FEBS Let. — 2010. — Vol. 584. — P. 1741–1747.

Received 20.02.2015

Study of gangliosides and their products hydrolytic decomposition — sphingosine — in the experimental parkinsonian syndrome

Hovsepyan L.M., Kazaryan G.S., Zanginyan H.V., Zakaryan G.V.

Institute of Molecular Biology, Armenian National Academy of Sciences, Hasratyan str. 7, Yerevan, 0014 Armenia

Study to determine the content of gangliosides and hydrolytic decomposition product of gangliosides — sphingosine with experimentally induced Parkinson's syndrome. Experimental model of Parkinson's syndrome is carried out daily by intraperitoneal injection of MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrapiridin). As the results of the study, in the brain of animals with the syndrome of Parkinson's disease, a decrease of all the main factions of gangliosides. Research has revealed the content of sphingosine increase of its content in the brain that appear to be explained by the hydrolytic decomposition of gangliosides. Our data suggest that dysregulation of the metabo-lism of gangliosides can will be a key mechanism in the pathogenesis of Parkinson's disease.

Key words: Parkinson's disease, gangliosides, sphingosine