

Вплив похідного бензодіазепіну – метрездіазенону на ліпідний метаболізм у щурів з паркінсонічним синдромом

Л.Я. Штанова^{1,2}, С.П. Весельський¹, П.І. Янчук¹, Р.А. Рожнова², О.В. Цимбалюк¹, В.С. Москвіна¹, О.В. Шабликіна¹, Є.М. Решетнік¹, О.В. Кравченко³, В.П. Хиля¹

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка;

² Інститут хімії високомолекулярних сполук, Київ;

³ Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ; e-mail: shtanova@ukr.net

Хвороба Паркінсона (ХП) пов'язана не лише із втратою дофамінергічних нейронів (ДА-нейронів) у ділянці чорної субстанції середнього мозку, але й із деякими змінами у периферичному метаболізмі, включаючи печінку. Вегетативна дисфункція є важливим немоторним фенотипом ХП. Метою нашої роботи було дослідити вплив нового похідного бензодіазепіну – метрездіазенону на вміст ліпідних компонентів жовчі щурів із ротеноновою моделлю паркінсонічного синдрому (ПС). Отримані результати свідчать, що порівняно з контролем у жовчі тварин з ПС знижувалася концентрація фосфоліпідів, холестерину, ефірів холестерину та тригліцеридів на 23,6, 24,5, 29,3 та 38,1% відповідно, а вміст вільних жирних кислот не змінився. Метрездіазенон у дозі 1 мг/кг відновлював вміст фосфоліпідів на 100%, холестерину на 82,2%, ефірів холестерину на 87,5%, тригліцеридів на 82,1% відносно контрольних значень; при дозах препарату 2 і 4 мг/кг концентрація фосфоліпідів перевищувала контрольні показники на 12,5 і 25,3%; холестерину – на 12,4 і 11,7%; ефірів холестерину – на 11,3 і 19,5%; тригліцеридів – на 20,7 і 31,2%; вільних жирних кислот – на 10,1 і 14,2% відповідно. Таким чином, метрездіазенон у дозі 1 мг/кг істотно покращує ліпідний обмін у печінці щурів із ротеноновою моделлю ПС, у дозах 2 та 4 мг/кг суттєво підвищує вміст тригліцеридів.

Ключові слова: ротенон; паркінсонічний синдром; метрездіазенон; жовч; ліпіди жовчі.

ВСТУП

Хвороба Паркінсона (ХП) є хронічним прогресуючим нейродегенеративним захворюванням, яке проявляється як моторними, так і низкою немоторних симптомів (НМС), пов'язаних із когнітивними та вегетативними порушеннями. Всі вони справляють негативний вплив на якість життя пацієнтів з ХП [1, 2]. Прогресуюче зниження моторних та немоторних реакцій спричинене вибірковою загибеллю дофамінергічних нейронів (ДА-нейронів) у *substantia nigra pars compacta* (SNpc), критичній для контролю рухової поведінки ділянці середнього мозку, та виснаженням дофаміну в смугастому тілі. Гістологічною ознакою ХП є наявність

фібрилярних агрегатів – тілець Леві, в складі фібрил яких основною складовою є аномальний α -синуклеїн [3]. Цей розчинний білок бере участь у низці взаємодій з фосфоліпідними мембранами та вільними жирними кислотами. Мутації генів (A30P, E46K та A53T), які викликають сімейну форму ХП, вказують на важливу роль цього білка в патогенезі. Геномні дефекти вважають причиною хвороби лише в 5–10% випадків, тоді як інші фактори ризику можуть включати токсини навколишнього середовища, а також вік [4]. Припускають, що ключовими механізмами, які спричиняють загибель ДА-нейронів, є мітохондріальна дисфункція, окисний стрес та нейрозапалення [5, 6]. З'являється все більше літературних даних,

що вказують на зв'язок між порушенням обміну ліпідів та ХП. Але доступна інформація є фрагментарною і не завжди відтворюваною. У зразках біологічних рідин та тканин мозку виявляли відмінності у вмісті холестерину, фосфоліпідів та інших ліпідів між здоровими людьми та пацієнтами з ХП. Ліпідзв'язувальні властивості α -синуклеїну забезпечують зв'язок між ліпідами, α -синуклеїном та нейродегенерацією [7].

На клітинних моделях і в дослідженнях на тваринах певні хімічні речовини можуть руйнувати ДА-нейрони. Однією з таких сполук є пестицид ротенон – інгібітор комплексу I дихального ланцюга мітохондрій, тому його часто використовують для моделювання паркінсонічного синдрому (ПС) у тварин [8]. Доступні процедури лікування дають змогу контролювати рухові й нерухові симптоми хвороби відновленням нейротрансмісії, але не зупиняють прогресування нейродегенерації та посилення інвалідизації хворих. Традиційними фармакологічними методами лікування ХП є використання попередників та агоністів дофаміну, що лише тимчасово полегшує симптоматику хвороби. Проте тривале застосування подібних препаратів може призвести до серйозних побічних ефектів [9]. Агоністи дофаміну полегшують стан хворого на ранніх стадіях ХП, а на пізніх вони часто є неефективними і надають обмежені переваги у полегшенні НМС [10]. Нещодавно було запропоновано застосування кількох медикаментозних терапій препаратами, створеними на основі бензодіазепіну. Їх ефективність вивчали на ротенонових моделях ПС *in vitro* та *in vivo*. Результати досліджень доводять наявність у новостворених сполук нейропротекторної активності, пов'язаної з підвищенням життєздатності мітохондрій та послабленням змін моторної й немоторної поведінки на тваринних моделях ПС, викликаного дією ротенону [11, 12]. Ми створили свою родину препаратів на основі бензодіазепіну, які добре себе показали в корекції енергетичного

та ліпідного обміну на щурах з експериментальним ПС [13, 14]. НМС, що включають шлунково-кишкову дисфункцію, нервово-психічні розлади, порушення сну і сенсорну дисфункцію (втрата нюху), вірогідно, є наслідком накопичення α -синуклеїну в інших ділянках мозку [15]. Проте його скупчення виявлено не лише в мозку, а й у периферичних органах, зокрема в печінці [16]. Тому можна припустити, що дисфункція печінки відіграватиме свою роль у розвитку ХП, хоча це питання досі залишається мало вивченим [17]. Оскільки патофізіологічні механізми, що лежать в основі вегетативної дисфункції при ХП, здебільшого невідомі, її об'єктивна оцінка має важливе значення для розуміння природи захворювання, його прогнозування, діагностики та лікування.

Метою нашої роботи було вивчити вплив нового похідного бензодіазепіну – метрездіазенону на вміст ліпідних компонентів жовчі у щурів із ротеноновою моделлю ПС.

МЕТОДИКА

Експерименти проводили згідно з чинними міжнародними вимогами та нормами гуманного ставлення до тварин з дотриманням правил Конвенції Ради Європи про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986 р.), Закону України від 21 лютого 2006 р. № 3447-IV та відповідно до рішення комісії з питань біоетики Навчально-наукового центру «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка (протокол № 1 від 04.02.2019). У роботі використано ротенон, диметилсульфоксид (ДМСО) виробництва фірми “Sigma” (США). Досліджуваний препарат – (Е)-4-(2,4-діметокси)-2Н-бензо[d][1,2]діазепін-1(5Н)-он–метрездіазенон був синтезований у нашій лабораторії. Елементарний аналіз метрездіазенону проводили в аналітичній

лабораторії Інституту біоорганічної хімії та нафтохімії НАН України (Київ, Україна) [18]. Для знечулення дослідних тварин при відборі біологічного матеріалу (жовчі) використовували тіопентал натрію («Київмедпрепарат, Україна») в дозі 60 мг/кг. Дослідження проводили в гострому експерименті на 60 самцях щурів материнської лінії Вістар, отриманих з Інституту фармакології і токсикології АМН України. Маса тварин була в межах 300–350 г, вік – 14 тиж. Протягом експериментального періоду тварини перебували в стандартних умовах: при вологості середовища 55–60%, з контрольованою температурою повітря $22 \pm 2^\circ\text{C}$, 12-годинним циклом світло/темрява, вільним доступом до водопровідної води та комерційних кормів. На початку експерименту тварин випадковим чином розподілили на шість груп по 10 у кожній: 1-ша – контрольна – тварини, які отримували рафіновану соняшникову олію (1 мл/кг); тваринам 2-ї – вводили лише ротенон (2 мг/кг); 3-ї – ротенон і 1%-й розчин диметилсульфоксиду (1 мл/кг); 4, 5 і 6-ї груп – метрездіазенон в дозі 1, 2 і 4 мг/кг відповідно після курсу введення ротенону [19]. Процедура введення тривала 4 тиж, проводили її в один і той самий час: з 10:00. Після завершення 28-денного терміну щурам припиняли вводити ротенон, натомість починали давати дослідний препарат метрездіазенон (доза вказані вище). Суспензію метрездіазенону в 1%-му розчині ДМСО готували в день експерименту, безпосередньо перед використанням і вводили одноразово внутрішньоочеревинно впродовж наступних 4 тиж. Доза препарату була визначена на основі найнижчої дози інших нейропротекторних препаратів, які виявились ефективними.

Біохімічні дослідження. У жовчі визначали концентрацію її ліпідних компонентів, зокрема, фосфоліпідів, холестерину, ефірів холестерину, вільних жирних кислот, тригліцеридів. Щурів анестезували, а потім здійснювали лапаротомію. У загальну жовчну

протоку вводили поліетиленову канюлю, до якої приєднували градуйовану мікропіпетку. Жовч, зібрану за перші 30 хв, до уваги не брали (період рівноваги для стабілізації швидкості відтоку жовчі). Далі її збирали кожні 10 хв протягом двох 30-хвилинних періодів часу і піддавали хімічній обробці. Вміст ліпідів визначали методом тонкошарової хроматографії [20]. Для цього до 2,4 мкл суміші хлороформ-метанол (2:1) додавали 0,1 мл жовчі та за 5 хв – 0,5 мл підкисленої води (0,5 мл концентрованої сірчаної кислоти на 1 л бідистиляту). Зразки витримували протягом ночі для повного поділу на дві фази. Нижня фаза містила ліпіди. Екстракт висушували при 70°C . Сухий залишок розчиняли в 40 мкл суміші хлороформ-метанол (3:1) і наносили на плату у вигляді тонкої смужки. Хроматографію проводили в камері, насиченій парами розчинника. Система елюентів включала петролейний ефір, діетиловий ефір, ефір, крижану оцтову кислоту (30: 10: 0,2). Фракції ліпідів фарбували 5%-ю фосфорною кислотою в 96%-му етанолі з наступним нагріванням при 100°C протягом 5 хв. Ідентифікували основні ліпідні фракції, використовуючи стандарти та колір плям, враховуючи відносну рухливість фракцій. Для кількісної оцінки окремих фракцій ліпідів готували розчини їх основних компонентів (1 мг речовини на 1 мл розчинника) як окремо, так і в суміші зі зразками інших фракцій. Ця суміш стандартів (кількісно від 1 мкл до 2; 5; 10; 15; 20; 25 і 30 мкл) адсорбується на хроматографічному папері. Після вилучення та концентрування жовчі на дні конусної трубки її розчиняли в 50 мкл розчинника і кілька разів капали мікропіпеткою (5 мкл) на поверхню підготовленої та позначеної хроматографічної пластини. Хроматографічне розділення ліпідних компонентів жовчі проводили на пластинках «Силуфол» (Чехословаччина). Після обробки водним розчином фосфорномолібденової кислоти кількісно оцінювали інтенсивність забарвлення кожної фракції за допомогою

денситометра ДО-1М, λ 620 нм («Shimadzu», Японія). Також вимірювали площу плями. Значення комбінованого тесту наносили на вісь Y на калібрувальному графіку, а вісь X позначали відомою кількістю відповідного стандарту – свідком наявності ліпідної фракції. Параметри оцінювали для фракцій ліпідів із зразків досліджуваної жовчі. На основі калібрувальної кривої кількості відповідного ліпиду визначали в мікрограмах. Беручи до уваги розведення та частину екстракту, визначали кількість ліпідів у міліграмах на 100 мл жовчі.

Експериментальні результати обробляли методами варіаційної статистики із використанням програми Statistica 12. Перевірку числових значень на їх приналежність до нормально розподілених генеральних сукупностей здійснювали за допомогою критерію Шапіро–Уїлка. Для визначення вірогідних відмінностей між середніми величинами вибірок, які відповідали нормальному розподілу і мали гомогенні дисперсії, використовували однофакторний дисперсійний аналіз із апостеріорним порівнянням середніх тестом Тьюкі; достовірними вважали результати при $P < 0,05$. Результати представлені як середнє арифметичне $\pm$ стандартна похибка середнього або медіана (нижній кuartиль; верхній кuartиль), n – кількість дослідів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

ДА-нейродегенерацію у щурів викликали введенням ротенону протягом 28 днів, після чого відбирали проби жовчі для подальшого біохімічного аналізу. З'ясувалося, що кількісні характеристики ліпідних компонентів жовчі у дослідних тварин зазнали змін після ін'єкцій ротенону, зокрема, вміст фосфоліпідів зменшився зі $104,7 \pm 2,5$ до $83 \pm 2,9$ мг% або на 20,7% ($P < 0,0001$). Відносно контролю у 3-й групі щурів вміст фосфоліпідів усе ще залишався меншим на 15% ($P < 0,0001$), а в 4-й – на 9,5% ($P < 0,05$), у 5-й і 6-й – спостерігали дозозалежне підвищення вмісту

цих сполук на 12,5% ($P < 0,001$) та 25,3% ($P < 0,0001$) відповідно (рис. 1).

Концентрація холестерину, яка в контрольній групі становила $29,0 \pm 0,9$ мг%, після ін'єкцій ротенону зменшилася до $21,9 \pm 1,2$ мг% або на 24,5% ($P < 0,0001$). Порівняно з показниками контрольної групи вміст холестерину був меншим у 3-й, 4-й, 5-й та 6-й групах щурів на 24,2% ($P < 0,0001$), 18,1% ($P < 0,0001$), 12,4% ($P < 0,01$) та 11,7% ($P < 0,01$) відповідно (рис. 2).

Одержані результати також показали, що порівняно з контролем під впливом ротенону, у жовчі щурів зменшилася концентрація ефірів холестерину – з $6,65 \pm 0,2$ до $4,7 \pm 0,3$ мг% або на 29,3% ($P < 0,0001$). У 3-й, 4-й, 5-й та 6-й групах тварин цей показник залишався меншим від контролю на 20,3% ($P < 0,0001$), 12,5% ($P < 0,01$), 12,5% ($P < 0,01$) та 11,3% ($P < 0,05$) відповідно (рис. 3).

Вміст вільних жирних кислот щодо контролю після введення ротенону не змінився в 3-й та 4-й групах щурів. А у 5-й та, особливо, в 6-й групах вміст цих сполук збільшувався понад норму на 10,1% ($P < 0,05$) та 14,2% ($P < 0,001$) відповідно (рис. 4).

Після застосування ротенону концентра-

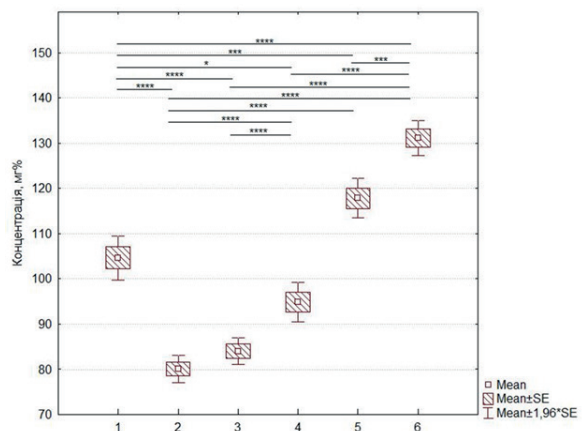


Рис. 1. Вплив різних доз метрездіазенону на вміст фосфоліпідів у жовчі щурів з паркінсонічним синдромом, викликаним ротеноном. 1 – контроль, 2 – ротенон, 3 – ротенон і 1% ДМСО, 4, 5, 6 – ротенон і метрездіазенон в концентрації 1, 2, 4 мг/кг відповідно. * $P < 0,05$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$. ($n = 10$); ($M \pm SE$)

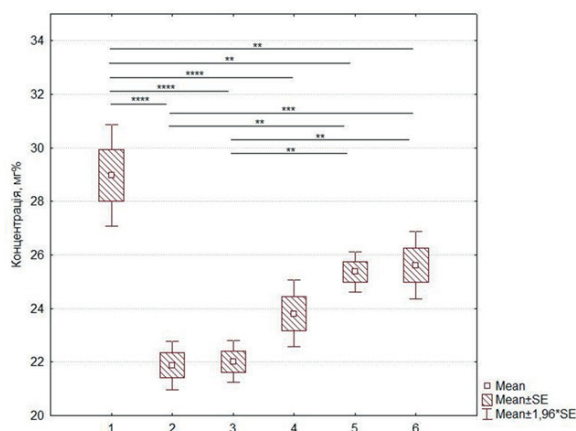


Рис. 2. Вміст холестерину в жовчі щурів з паркінсонічним синдромом, викликаним ротеноном, до та після введення метрездіазенону в різних дозах 1 – контроль, 2 – ротенон, 3 – ротенон і 1% ДМСО, 4, 5, 6 – ротенон і метрездіазенон в концентрації 1, 2, 4 мг/кг відповідно. ** $P < 0,01$, *** $P < 0,0001$, **** $P < 0,0001$ ($n = 10$)

ція тригліцеридів у жовчі зменшилася на 38% (з $2,9 \pm 0,1$ до $1,8 \pm 0,2$ мг%; $P < 0,0001$ щодо контролю). У групах 4, 5 і 6 цей показник не відрізнявся від контрольних значень або перевищував такі на 20,7% ($P < 0,05$) та 31% ($P < 0,0001$) відповідно (рис. 5).

Протягом тривалого часу ХП вважалась захворюванням головного мозку, що харак-

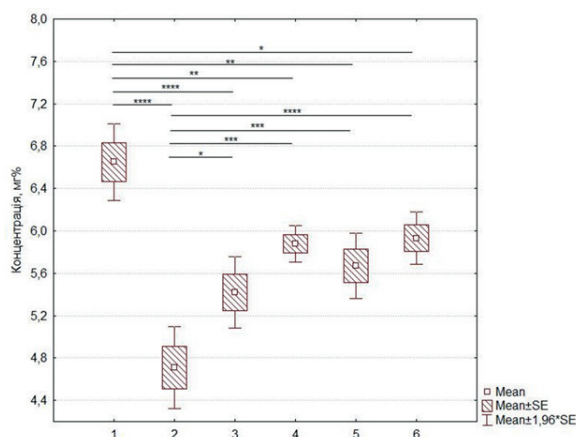


Рис. 3. Концентрація ефірів холестерину в жовчі щурів з паркінсонічним синдромом, викликаним ротеноном, при застосуванні різних доз метрездіазенону. 1 – контроль, 2 – ротенон, 3 – ротенон і 1% ДМСО, 4, 5, 6 – ротенон і метрездіазенон в концентрації 1, 2, 4 мг/кг відповідно. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$, **** $P < 0,0001$ ($n = 10$)

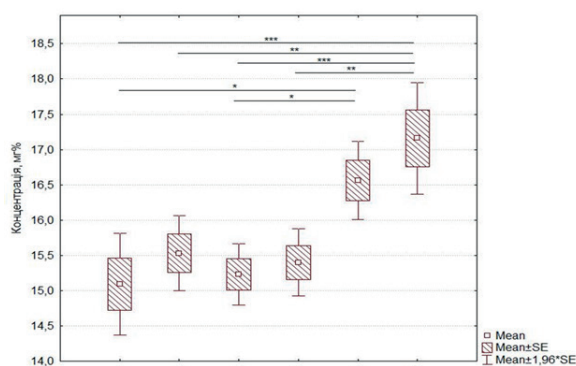


Рис. 4. Вміст вільних жирних кислот у жовчі щурів з паркінсонічним синдромом, викликаним ротеноном, після введення різних доз метрездіазенону. 1 – контроль, 2 – ротенон, 3 – ротенон і 1% ДМСО, 4, 5, 6 – ротенон і метрездіазенон в концентрації 1, 2, 4 мг/кг відповідно. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, *** $P < 0,001$

теризується руховими порушеннями. Наразі після визнання продромальних немоторних симптомів і патологічних процесів, що спричиняють їх розвиток, є підстави говорити про залучення інших систем органів у цю патологію. Тому ХП усе частіше розглядається як мультиорганна та multisystemна патологія, яка виникає внаслідок взаємодії чутливих генетичних факторів із проблемним середовищем та через погіршення загального стану орга-

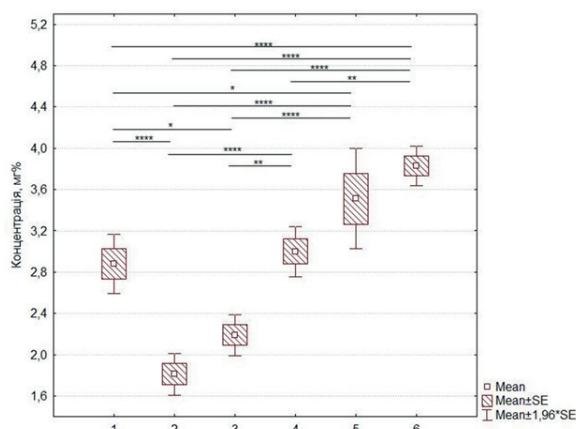


Рис. 5. Динаміка показників концентрації тригліцеридів у жовчі щурів з паркінсонічним синдромом, викликаним ротеноном, при застосуванні різних доз метрездіазенону. 1 – контроль, 2 – ротенон, 3 – ротенон і 1% ДМСО, 4, 5, 6 – ротенон і метрездіазенон в концентрації 1, 2, 4 мг/кг відповідно. * $P < 0,05$, ** $P < 0,01$, **** $P < 0,0001$

нізму, пов'язаного зі старінням [21]. Нещодавно в шлунково-кишковому тракті було виявлено білок α -синуклеїн – один із основних маркерів ХП. Знайшли його у всіх відділах травної системи пацієнтів з цією хворобою (з піднижньощелепної залози до апендикса та товстої кишки) [22]. Встановлено, що α -синуклеїн у нормальному стані модулює синаптичні функції (відіграє роль у пластичності та синаптичній передачі), взаємодіючи з мембранами синаптичних везикул, що складаються з фосфоліпідів та інших ліпідів, водночас дисбаланс у взаємодії α -синуклеїн – ліпіди викликає агрегацію білка і його патологічну конверсію [7]. Серед усіх тканин організму нервова тканина є однією з найбагатших за вмістом ліпідів, серед яких жирні кислоти, триацилгліцерини, фосфоліпіди, холестерин та гліколіпіди [23]. Усі вони потрібні для здійснення енергетичного обміну, модифікації білка, медіаторів сигналу та функцій біомембран органел. Розуміння патогенних механізмів у взаємодії α -синуклеїн – ліпіди має вирішальне значення для розробки ефективної терапії, що модифікує захворювання. У недавніх дослідженнях, проведених на моделях тварин з ПС, виявили відкладення α -синуклеїну в печінці [16]. Печінка є центральним органом контролю ліпідного гомеостазу, що здійснюється за допомогою складних, але чітко регульованих біохімічних, сигнальних та клітинних механізмів. Жовч – основний продукт зовнішньосекреторної діяльності печінки, містить велику кількість хімічних сполук, кількісне співвідношення яких відображає функціональний стан цього органа. Серед ліпідів жовчі переважають фосфоліпіди (майже виключно фосфатидилхолін) і холестерин. Інші, зокрема ефіри холестерину, вільні жирні кислоти та тригліцериди, наявні в незначній кількості. Фосфатидилхолін є найбільш поширеним фосфоліпідом клітинних мембран [24], тому жовч є чудовим біологічним матеріалом для вивчення його динаміки. Багато факторів ризику ХП пов'язані саме з

ліпідами, а шляхи та механізми, які при цій хворобі порушуються, зокрема й синаптична передача сигналів, значною мірою залежать від динаміки вмісту ліпідів [7]. Проте функціональні ліпідні шляхи, потенційно deregulовані при ідіопатичній формі ХП, залишаються недостатньо вивченими. Для кращого визначення ступеня порушення ліпідного обміну при ХП нами була проведена хроматографія на папері зразків жовчі, одержаних від щурів, яких після вироблення у них моделі ПС, лікували метрездіазеноном (протягом 28 днів). Значне зниження в жовчі вмісту фосфоліпідів, холестерину та його ефірів, а також тригліцеридів, супроводжувало ПС, викликаний у щурів ін'єкціями ротенону. Такі результати чітко вказують на те, що регуляція основних механізмів, пов'язаних з обміном ліпідів, при ПС порушується, що може бути зумовлено розладами функцій печінки як центрального органа ліпідного обміну. У наших попередніх дослідженнях показано, що у щурів з ПС, індукованим ротеноном, зменшується вміст ліпідів у плазмі крові, а також різко пригнічується синтез АТФ у печінці [12, 13]. Фосфоліпіди є основною складовою молекулою біомембран та мембранних структур всередині клітин і відіграють важливу роль у її функціях, включаючи апоптоз, захист від окисного ушкодження, генерацію вторинних месенджерів та регуляцію активності ферментів [23]. Незважаючи на значне поширення більшості класів фосфоліпідів у мембранних структурах, місце синтезу кожного з цих класів обмежується зазвичай ендоплазматичним ретикуломом. Топологія синтезу фосфоліпідів є важливим фактором при встановленні етіології захворювань, які виникають внаслідок дисфункції останнього. Доведено, що при нейродегенеративних хворобах, зокрема й при ХП, разом з мітохондріальною дисфункцією, спостерігається порушення роботи ендоплазматичної сітки [25], з чим можна пов'язати зменшення вмісту фосфоліпідів, яке ми спостерігали у нашій

роботі. Фосфоліпіди жовчі покращують її солюбілізуючі властивості та стабілізують колоїдну систему, запобігаючи утворенню жовчних каменів. Наші результати щодо зменшення вмісту фосфоліпідів у жовчі узгоджуються з даними, одержаними Nieto і співавт. [26], які спостерігали подібні зміни в тканині печінки мишей із модельованим ПС, де значно зменшився вміст мембранних фосфоліпідів, особливо фосфатидилхоліну та фосфатидилетаноламіну. Зменшення вмісту цих молекул у жовчі свідчить про їхній дефіцит у тканині печінки. Їх нестача змінює проникність мембран гепатоцитів, що може призвести до надмірного накопичення жиру в печінці [27]. Представлені результати показали, що різні дози метрездіазенону викликають неоднозначні ефекти. В дозі 1 мг/кг препарат повністю відновлював вміст фосфоліпідів, проте вищі його дози (2 мг/кг і 4 мг/кг) викликали дозозалежне підвищення концентрації понад норму.

Холестерин є незамінним компонентом клітинної мембрани і відіграє життєво важливу роль у найважливіших фізіологічних процесах. До 80% цієї сполуки утворюється в печінці. Дані про роль холестерину в збільшенні ризику ХП досі є суперечливими, оскільки в одних працях повідомлялося, що його високий вміст сприяє розвитку цієї патології, а в інших – навпаки, що низький підвищує ризик захворювання [28, 29]. Є ще одне бачення зв'язку між ХП і холестерином: вміст цієї сполуки не змінюється у плазмі пацієнтів з ХП [30]. Холестерин – гідрофобна сполука, наявна як у крові та в інших тканинах, так і в жовчі у вільній формі, у вигляді його ефірів чи жовчних кислот, котрі є продуктом його розщеплення. Видаляється з організму переважно через жовч. Як підвищений, так і знижений вміст холестерину є шкідливим для здоров'я, оскільки ця сполука відіграє не лише структурну, а й важливі функціональні ролі в загальному метаболізмі, а печінка є органом, який підтримує гомеостаз холестерину в організмі. Наші результати чітко вказують на те, що при модельованому

ротеноном ПС у жовчі зменшувався як вміст холестерину (на 24,5%), так і його ефірів (на 29,3%) щодо контролю. Ефіри холестерину мають кращу розчинність, аніж сам холестерин. Метрездіазенон, незалежно від дози, відновлював вміст ефірів холестерину, проте не на 100%. Концентрація цих молекул була близька до норми лише при дозі метрездіазенону 1 мг/кг. Зменшення вмісту ефірів холестерину в жовчі при ПС майже на третину, яке ми спостерігали, може бути пов'язане зі зниженням пулу самого холестерину в печінці.

Слід окремо звернути увагу на динаміку вмісту жирних кислот. Після ін'єкцій ротенону він не зменшувався так суттєво, як інших ліпідів. Натомість концентрація тригліцеридів була значно зменшена. Печінка є центральним органом метаболізму жирних кислот, які накопичуються в цьому органі за допомогою гепатоцелюлярного поглинання з плазми та біосинтезу *de novo*. Виводяться ці молекули окисненням усередині клітин або секреції в плазму в ліпопротеїнах дуже низької щільності, багатих на тригліцериди. Молекули тригліцеридів є основною формою зберігання і транспортування жирних кислот у клітинах і плазмі. Проте в умовах блокади мітохондріальної функції ліпіди не можуть використовуватися клітинами як внутрішнє, локальне джерело енергії, тому вони масово спрямовуються в жовч. Загалом відомо, що порушення ліпідного обміну в організмі може породжувати велику кількість вільних радикалів, що послаблює функцію антиоксидантної системи організму і призводить до помітного збільшення окисного стресу, який вважають однією з причин нейродегенерації.

ВИСНОВКИ

1. Метрездіазенон у всіх застосованих нами дозах (1, 2 та 4 мг/кг) поліпшує обмін фосфоліпідів у печінці, який значно погіршується при паркінсонічному синдромі, індукованому ротеноном.

2. Вплив метрездіазенону на синтез холестерину та його ефірів у печінці щурів з ПС менш ефективний, ніж на обмін інших ліпідів.

3. Метрездіазенон у дозах 2 та 4 мг/кг збільшує вміст тригліцеридів та вільних жирних кислот понад норму. Оскільки функція мітохондрій при ПС істотно знижена, то ліпіди не можуть використовуватися клітинами повною мірою як внутрішнє, локальне джерело енергії, тому вони масово надходять у жовч.

4. Вивчення ролі метаболітів, які є ключовими індикаторами клітинних процесів і фізіологічного стану як окремих органів, так і всього організму при ХП, допомагає глибше зрозуміти механізми розвитку захворювання та реакції організму на застосовані ліки.

Робота виконана в рамках НДР кафедри органічної хімії хімічного факультету Київського національного університету імені Тараса Шевченка на тему “Природні біомолекули та їх аналоги – основа для створення молекулярних ансамблів для вирішення проблем хімії, медицини та агрохімії” (2022-2024 pp).

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.

L.Ya. Shtanova¹, S.P. Veselsky¹, P.I. Yanchuk¹, R.A. Rozhnova², V.S. Moskvina¹, O.V. Shablykina¹, E.M. Reshetnik¹, O.V. Kravchenko³, V.P. Khilya¹

EFFECT OF A BENZODIAZEPINE DERIVATIVE, METRESDIAZENONE, ON LIPID METABOLISM IN RATS WITH PARKINSONIAN SYNDROME

¹Taras Shevchenko National University of Kyiv;

²Institute of the Macromolecular Chemistry of the NAS of Ukraine, Kyiv;

³O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv; e-mail: shtanova@ukr.net

Progress in understanding the extent and role of gastrointestinal dysfunction in Parkinson's disease (PD) has significantly

advanced over the past decade. PD is believed to be associated not only with the loss of dopaminergic neurons in the substantia nigra of the midbrain, but also with a range of peripheral metabolic changes, including those in the liver. Autonomic dysfunction is recognized as a key non-motor feature of PD. This study aimed to investigate the effect of a novel benzodiazepine derivative, metresdiazene, on the lipid composition of bile in a rotenone-induced rat model of Parkinsonian syndrome (PS). Compared to control animals, rotenone exposure led to a decrease in bile concentrations of phospholipids, cholesterol, cholesterol esters, and triglycerides by 23.6%, 24.5%, 29.3%, and 38.1%, respectively, with no significant change in free fatty acid content. Administration of metresdiazene at a dose of 1 mg/kg restored bile lipid levels nearly to baseline: phospholipids (100%), cholesterol (82.2%), cholesterol esters (87.5%), and triglycerides (82.1%). At higher doses (2 and 4 mg/kg), bile concentrations of phospholipids exceeded control values by 12.5% and 25.3%, cholesterol by 12.4% and 11.7%, cholesterol esters by 11.3% and 19.5%, triglycerides by 20.7% and 31.2%, and free fatty acids by 10.1% and 14.2%, respectively. These findings indicate that metresdiazene at 1 mg/kg effectively restores impaired lipid metabolism in the liver in the rotenone model of PS, while higher doses lead to a marked increase in triglyceride levels. Key words: rotenone; parkinsonian syndrome; metresdiazene; bile; bile lipids.

REFERENCES

1. Deliz JR, Tanner CM, Gonzalez-Latapi P. Epidemiology of Parkinson's disease: An update. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2024;24(6):163-79.
2. Chen Zh, Li G, Liu J. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease: Implications for pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Neurobiol Dis.* 2020. 134:104700.
3. Yang Y, Zhang Z. α -Synuclein pathology from the body to the brain: so many seeds so close to the central soil. *Neural Regen Res.* 2024;19(7):1463-72.
4. Ben-Shlomo Y, Darweesh S, Llibre-Guerra J, Marras C, San Luciano M, Tanner C. The epidemiology of Parkinson's disease. *Lancet.* 2024;403(10423):283-92.
5. Morris HR, Spillantini MG, Sue CM, Williams-Gray CH. The pathogenesis of Parkinson's disease. *Lancet.* 2024;403(10423):293-304.
6. Li HY, Liu DS, Zhang YB, Rong H, Zhang XJ. The interaction between α -synuclein and mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Biophys Chem.* 2023;303:107122.
7. Mori A, Imai Y, Hattori N. Lipids: Key players that modulate α -synuclein toxicity and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(9):3301.
8. Chia SJ, Tan E-K, Chao Y-X. Historical perspective: Models of Parkinson's disease. *Int J Mol Sci.* 2020;21(7):2464.
9. Vijaratnam N, Simuni T, Bandmann O, Morris HR, Foltynie T. Progress towards therapies for disease modification in Parkinson's disease. *Lancet Neurol.* 2021;20(7):559-72.

10. Caputi V, Giron MC. Microbiome-gut-brain axis and toll-like receptors in parkinson's disease. *Int J Mol Sci*. 2018; 19:1689.
11. Fonseca-Fonseca L, Wong-Guerra M, Ramírez-Sánchez J, Montano-Peguero Y, PadrónYaqis A, Rodríguez A, da Silva V, Costa S, Pardo-Andreu Y. JM-20, a novel hybrid molecule, protects against rotenone-induced neurotoxicity in experimental model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett*. 2019;690:29-35.
12. de Zárate AO, Pérez-Torrallba M, Isidro IB, López C, Claramunt RM, Martínez-Casanova D, Sánchez-Vera I, González JJ, Lavandera JL. 1,5-Benzodiazepin2(3H)-ones: *In vitro* evaluation as antiparkinsonian agents. *Antioxidants*. 2021;10,1584.
13. Shtanova LYa, Veselsky SP, Yanchuk PI, Tsymbalyuk OV, Moskvina VS, Shablykina OV, Moroz OF, Vovkun TV, Kravchenko OV, Khilya VP. Purine and lipid metabolism in rats with a rotenone model of Parkinson's disease under the influence of methanindiazene. *Fiziol Zh*. 2022;68(6):18-30.
14. Shtanova LY, Veselsky SP, Yanchuk PI, Tsymbalyuk OV, Moroz OF, ReshetnikEM, Moskvina VS, Shablykina OV, Kravchenko OV, Khilya VP. Benzodiazepine derivative methanindiazene modulates lipid metabolism in the liver of rats with rotenone-induced Parkinsonian syndrome. *Fiziol Zh*. 2023;69(6):77-87.
15. Bonaz B. The gut-brain axis in Parkinson's disease. *Rev Neurol (Paris)*. 2024;180(1-2):65-78.
16. Reyes JF, Ekmark-Lewen S, Perdiki M, Klingstedt T, Hoffmann A, Wiechec E, Nilsson P. Accumulation of alpha-synuclein within the liver, potential role in the clearance of brain pathology associated with Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun*. 2021;9(1):46.
17. Wang X, Liang T, Mao Y, Li Z, Li X, Zhu X, Cao F, Zhang J. Nervonic acid improves liver inflammation in a mouse model of Parkinson's disease by inhibiting proinflammatory signaling pathways and regulating metabolic pathways. *Phytomedicine*. 2023;117:154911.
18. Shablykina O, Krekhova O, Konovalenko A, Moskvina V, Khilya V. Interaction of 3-pyridyl and 3-(imidazo[1,2-a]pyridin-2-yl) isocoumarins with hydrazine. *Dop Natl Akad Nauk Ukr*. 2018;(12):71-8.
19. Zeng X, Geng W, Jia J. Neurotoxin induced animal models of Parkinson disease: Pathogenic mechanism and assessment. *ASN Neuro*. 2018;10:1759091418777438.
20. Moroz OF, Veselskiy SP, Lyashchenko TP, Nuryshchenko NE. Changes of lipid components ratio in the rat bile after applying bombesin neuropeptide. *Ukr Biochem J*. 2009;81:52-58.
21. Costa HN, Esteves AR, Empadinhas N, Cardoso SM. Parkinson's disease: A Multisystem disorder. *Neurosci Bull*. 2023;39(1):113-24.
22. Higinbotham AS, Kilbane CW. The gastrointestinal tract and Parkinson's disease. *Front Cell Infect Microbiol*. 2024;15;13:1158986.
23. Farooqui AA, Horrocks LA, Farooqui T. Glycerophospholipids in brain: their metabolism, incorporation into membranes, functions, and involvement in neurological disorders. *Chem Phys Lipid*. 2000;106(1):1-29.
24. vanMeer G, Voelker D R & Feigenson GW. Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2008;9:112-24.
25. Markovinovic A, Greig J, Martín-Guerrero SM, Salam S, Paillusson S. Endoplasmic reticulum-mitochondria signaling in neurons and neurodegenerative diseases. *J Cell Sci*. 2022;135(3):jcs248534.
26. Nieto CY, Yakhine-Diop SMS, Moreno-Cruz P, García ML, Pereira GA, Morales-García JA, Niso-Santano M. Changes in liver lipidomic profile in G2019S-LRRK2 mouse model of Parkinson's disease. *Cells*. 2023;12:806.
27. Rossmeisl M, Medrikova D, van Schothorst E, Pavlisova J, Kuda O, Hensler M, Bardova K, Flachs P. Omega-3 phospholipids from fish suppress hepatic steatosis by integrated inhibition of biosynthetic pathways in dietary obese mice. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1841(2):267-78.
28. Hong X, Guo W, Shanshan L. Lower blood lipid level is associated with the occurrence of Parkinson's disease: A meta-analysis and systematic review. *Int J Clin Pract*. 2022;9:2022:9773038.
29. Alrouji M, Al-Kuraishy HM, Abdu Ali Al-Mahammadawy A-K, Al-Gareeb AI, Saad HM, Batiha El-Saber G. The potential role of cholesterol in Parkinson's disease neuropathology: perpetrator or victim. *Neurol Sci*. 2023;44(11):3781-94.
30. Gudala K, Bansal D, Muthyala H. Role of serum cholesterol in Parkinson's disease: a meta-analysis of evidence. *J Parkinson Dis*. 2013;3(3):363-70.

*Матеріал надійшов
до редакції 09.09.2024*