

УДК 616.831-06:616-005.1]-053-08

С. С. Ткачук
Т. І. Бойчук

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ВПЛИВУ ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ- РЕПЕРFUЗІЇ НА СТАН ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У СТРУКТУРАХ МОЗКУ ДОРΟΣЛИХ ТА СТАРИХ ЩУРІВ

Ключові слова: мозок, ішемія-реперфузія, окиснювальна модифікація білків, старіння.

Резюме. Досліджено вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у структурах нової кори і полях гіпокампа дорослих і старих щурів. Встановлено, що старіння супроводжується накопиченням продуктів окиснювальної модифікації білків у досліджених відділах нової кори й полі гіпокампа CA1 і зниженням їх вмісту – у полях гіпокампа CA2 і CA3. У дорослих щурів за станом окиснювальної модифікації білків чутливими до ішемії-реперфузії головного мозку є кора лобової та потиличної часток, а в старих – усі досліджені ділянки мозку, за винятком поля гіпокампа CA3.

Вступ

Старіння супроводжується прогресуючими змінами ефективності фізіологічних функцій та підвищенням сприйнятливості до дії несприятливих чинників [1,5]. Серед найбільш поширених теорій механізмів старіння важливе місце належить «вільнорадикальній теорії», яка постулює, що старіння і пов'язані з ним хвороби є наслідком пошкоджень макромолекул вільними радикалами і неможливістю збалансувати ці зміни відповідною реакцією ендogenous антиоксидантного захисту [4,8,9]. Однією з найвразливіших мішеней дії вільних радикалів у процесі старіння є білки [5,6,9]. Вважають, що саме окисація протеїнів може лежати в основі неспинного зниження фізіологічних функцій, якими супроводжується старіння. Існують дослідження, які демонструють підвищення рівня протеїнових карбонільних груп у корі великих півкуль старих людей та тварин [6,7,10]. Підвищення карбонільних дериватів виявлено в гіпокампі старих щурів із порушеннями пам'яті [12]. Однак, є й інші дослідження, результати яких свідчать, що вміст окисдованих протеїнів у гомогенаті мозку старих тварин знижується [8]. Таким чином, немає сумнівів стосовно того, що старіння супроводжується порушеннями окисації білків, однак існуючі дані сповнені протиріч. Оскільки в основі пошкодження нервової тканини при ішемічно-реперфузійних впливах на мозок також лежить посилення вільнорадикальних процесів [5,6,9], нам вдалося доречним дослідити вплив ішемії-реперфузії головного мозку на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у структурах нової та древньої кори старих щурів.

Мета дослідження

Дослідити вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі лобової, потиличної часток та полях гіпокампа CA1, CA2, CA3 старих щурів після моделювання неповної глобальної ішемії-реперфузії мозку.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на білих нелінійних самцях щурів віком 22 міс. Контрольну групу склали щури віком п'ять міс. У частини тварин обох вікових груп під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла) моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом двобічного перетискання загальних сонних артерій упродовж 20 хв [2], після чого здійснювали реперфузію протягом години. У тварин контрольної групи препарували сонні артерії та подразнювали їх стінку, не припиняючи кровотоку. Евтаназію тварин виконували шляхом декапітації під каліпсоловим наркозом, на холоді забирали мозок і фіксували його в рідкому азоті. У подальшому робили мікротомні зрізи, з яких набирали відповідні структури мозку згідно координат стереотаксичного атласу [11].

Продукти окиснювальної модифікації білків (ОМБ) визначали за вмістом альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального й основного характеру [3]. Оптичну густину утворених динітрофенілгідрозонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 нм (альдегідо- й кетоніпохідні нейтрального характеру) і 430 нм (альдегідо- й кетоніпохідні основного характеру) проти контролю. Уміст продуктів окиснювальної модифікації білків виражали в одиницях оптичної густини.

Таблиця

Вплив ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у структурах мозку самців-щурів різного віку ($M \pm m$; $n=10$)

Група спостереження	Уміст альдегідо- та кетонпохідних ОМБ нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	Уміст альдегідо- та кетонпохідних ОМБ основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
Кора лобової частки		
Контроль 5 міс	8,06±0,203	3,78±0,131
Ішемія-реперфузія 5 міс	9,48±0,321 $p_1 < 0,025$	4,91±0,172 $p_1 < 0,05$
Контроль 22 міс	9,36±0,311 $p_1 < 0,05$	5,39±0,310 $p_1 < 0,05$
Ішемія-реперфузія 22 міс	8,11±0,107 $p_2 < 0,01$	6,72±0,112 $p_2 < 0,01$
Кора потиличної частки		
Контроль 5 міс	9,02±0,214	4,06±0,122
Ішемія-реперфузія 5 міс	10,7±0,202 $p_1 < 0,005$	5,87±0,202 $p_1 < 0,005$
Контроль 22 міс	12,6±0,322 $p_1 < 0,005$	6,33±0,289 $p_1 < 0,005$
Ішемія-реперфузія 22 міс	13,8±0,192 $p_2 < 0,05$	8,56±0,286 $p_2 < 0,01$
Поле СА1		
Контроль 5 міс	7,58±0,415	3,25±0,109
Ішемія-реперфузія 5 міс	8,03±0,309	3,62±0,203
Контроль 22 міс	9,30±0,278 $p_1 < 0,05$	3,32±0,321
Ішемія-реперфузія 22 міс	11,3±0,322 $p_2 < 0,05$	5,74±0,132 $p_2 < 0,05$
Поле СА2		
Контроль 5 міс	8,12±0,203	5,39±0,108
Ішемія-реперфузія 5 міс	8,17±0,194	5,79±0,261
Контроль 22 міс	7,09±0,172 $p_1 < 0,01$	3,41±0,348 $p_1 < 0,01$
Ішемія-реперфузія 22 міс	8,92±0,314 $p_2 < 0,01$	3,89±0,204
Поле СА3		
Контроль 5 міс	10,2±0,308	5,28±0,116
Ішемія-реперфузія 5 міс	8,31±0,278 $p_1 < 0,025$	5,08±0,131
Контроль 22 міс	9,50±0,501	3,08±0,276 $p_1 < 0,01$
Ішемія-реперфузія 22 міс	8,83±0,431	3,25±0,158

Примітка. Достовірність змін порівняно з показниками в щурів: p_1 - контрольної групи 5 міс.; p_2 - контрольної групи 22 міс

ни на 1 г білка. Паралельно проводили визначення в пробах вмісту білка.

Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані наведені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення.

Обговорення результатів дослідження

Числові значення отриманих результатів представлено в таблиці. Вони свідчать, що в корі лобової та потиличної часток старих щурів конститутивний уміст продуктів ОМБ нейтрального та

основного характеру вищий, ніж у дорослих тварин. У полі гіпокампа СА1 виявлено підвищений уміст продуктів ОМБ нейтрального характеру при незміненому вмісті продуктів основного, у полі СА2 – знижений уміст альдегідо- та кетонпохідних основного та нейтрального характеру, а в полі СА3 – лише основного. Отже, за нашими даними, старіння мозку супроводжується неоднозначними змінами вмісту продуктів ОМБ, однак у всіх структурах вони наявні. Слід зазначити, що як накопичення окисдованих протеїнів, так і зниження їх вмісту є явищами несприят-

ливими для мозку, оскільки відображають порушення фізіологічної збалансованості в системі «оксидатія-протеолітична деградація» білків. Неоднорозначність змін оксидатії білків при старінні у вивчених структурах мозку може бути відображенням їх морфологічної та функціональної неоднорідності.

У п'ятимісячних щурів ішемія-реперфузія головного мозку спричинила зростання вмісту продуктів ОМБ основного та нейтрального характеру в обох досліджених частках кори без будь-яких змін у полях гіпокампа. У старих щурів ефекти каротидної ішемії-реперфузії були неоднозначними в різних структурах і полягали в підвищенні вмісту продуктів ОМБ основного характеру та зниженні – продуктів нейтрального характеру в корі лобової частки, зростанні всіх альдегідо- та кетоніоходних у корі потиличної частки та полі гіпокампа СА1, зростанні вмісту продуктів ОМБ нейтрального характеру в полі СА2 при відсутності достовірних змін у полі гіпокампа СА3.

Таким чином, у старих щурів ми спостерігали мозаїчну картину порушень оксидатії протеїнів, що може відображати нерівномірність процесів старіння різних структур мозку.

Отримані дані свідчать, що в старих щурів найбільш чутливими серед вивчених ділянок мозку до ішемії-реперфузії є кора лобової та потиличної часток і поле гіпокампа СА1, менш чутливим – поле СА2 і нечутливим за даними параметрами – поле СА3.

Висновки

1. Старіння супроводжується накопиченням продуктів окиснювальної модифікації білків у структурах нової кори й полі гіпокампа СА1 і зниженням їх вмісту в полях гіпокампа СА2 і СА3.

2. У дорослих щурів за станом окиснювальної модифікації білків чутливими до ішемії-реперфузії головного мозку є кора лобової та потиличної часток, а в старих – усі досліджені ділянки мозку, за винятком поля гіпокампа СА3.

Перспективи подальших досліджень

Оцінка результатів даного дослідження свідчить про доцільність вивчення показників протеолітичної активності в даних структурах мозку щурів різного віку.

Література. 1. Асанов Э. О. Возрастные особенности обмена кислорода в тканях при гипоксическом стрессе / Э. О. Асанов // Проблемы старения и долголетия. – 2007. – Т. 16, №2. – С. 130-136. 2. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга Г.Н. Скибо // Патология. – 2004. – Т.1, №1. – С. 22-30. 3. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії/В.М. Магальяс, А.О. Міхєєв, Ю.С. Роговий [та ін.] – Чернівці, 2001. – 42 с. 4. Швидкість газообміну, терморегуляції та активність антиоксидантних ферментів при старінні мишей лінії C57Bl/6 / Н. О. Утко, І. М. Піпель, В. В. Безруков

[та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2008. – Т. 54, №2. – С. 75-81. 5. Age-related neuronal vulnerability to brain ischemia: A potential target of gene therapy / H. Ooboshi, S. Ibayashi, H. Yao [et al.] // Age. – 2006. – Vol. 24, №1. – P. 31-35. 6. Aging has a complex effect on a rat model of ischemic stroke/S. Shapira, M. Sapir, A. Wengier [et al.] // Brain Res. – 2002. – Vol. 925, № 2. – P. 148-158. 7. Carotid artery atherosclerosis, MRI indices of brain ischemia, aging, and cognitive impairment: the Framingham study / Romero J.R., Beiser A., Seshadri S. [et al.] // Stroke. – 2009 Vol. 40, №5. – P. 1590-1596. 8. Ischemia-induced neurogenesis is preserved but reduced in the aged rodent brain / K. Jin, M. Manabu, X. Lin [et al.] // Aging Cell. – 2004. – Vol. 3, № 6. – P. 373-377. 9. Kalaria R. N. Linking cerebrovascular defense mechanisms in brain ageing and Alzheimer's disease / R. N. Kalaria // Neurobiol. Aging. – 2009. – Vol. 30, № 9. – P. 1512-1514. 10. Keuker J.I. Preservation of hippocampal neuron numbers in aged rhesus monkeys / J.I. Keuker, P.G., Luiten, E. Fuchs // Neurobiol Aging. – 2003 – Vol. 24, N1. – P. 57-65. 11. Kimig J.F., Klippel P.A. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem. – Baltimore: The Williams and Wilkins Company, 1963. – 162 p. 12. Prolla T.A. Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: lessons from dietary restriction / T.A. Prolla, M. P. Mattson // Trends Neurosci. – 2001. – Vol. 24, № 11. – P. 1021-1031.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ НА СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В СТРУКТУРАХ МОЗГА ВЗРОСЛЫХ И СТАРЫХ КРЫС

С. С. Ткачук, Т. И. Бойчук

Резюме. Исследовано влияние двусторонней каротидной ишемии-реперфузии на содержание продуктов окислительной модификации белков в структурах новой коры и полях гиппокампа взрослых и старых крыс. Показано, что старение сопровождается накоплением продуктов окислительной модификации белков в исследованных отделах новой коры и поле гиппокампа СА1 и снижением их содержания – в полях гиппокампа СА2 и СА3. У взрослых крыс по показателям окислительной модификации белков чувствительными к ишемии-реперфузии являются кора лобной и затылочной долей, а у старых – все исследованные отделы мозга, кроме поля гиппокампа СА3.

Ключевые слова: мозг, ишемия-реперфузия, окислительная модификация белков, старение.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION EFFECT ON THE STATE OF PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION IN BRAIN STRUCTURES OF ADULT AND OLD RATS

S. S. Tkachuk, T. I. Bojchuk

Abstract. The effect of bilateral carotid ischemia-reperfusion on content of oxidative protein modification products in the neocortex structures and hippocampal zones of adult and old male rats has been investigated. It has been revealed that aging is accompanied by accumulation of protein oxidative modification products in the studied regions of the neocortex and CA1 hippocampal zone and a decrease in their content - in CA2 and CA3 hippocampal zones. By the protein oxidative modification the most susceptible structures to brain ischemia-reperfusion in adult rats are frontal and occipital lobe, and in old rats - all investigated brain structures except the CA3 hippocampal zone.

Key words: brain, ischemia-reperfusion, oxidative protein modification, aging.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2010. - Vol. 9, №4 (34). - P. 110-112.

Надійшла до редакції 25.10.2010

Рецензент – проф. В. М. Мислицький

© С. С. Ткачук, Т. І. Бойчук, 2010