

# Оригінальні експериментальні дослідження

УДК 612.821:577.1

*В.А.Дорошко*

## МОДИФІКАЦІЯ ПОСТІШЕМІЧНОГО РІВНЯ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ У СТРУКТУРАХ МОЗКУ ЩУРІВ ДЕФІЦИТОМ СТАТЕВИХ ГОРМОНІВ ТА ЇЇ ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ

Кафедра нормальної фізіології (зав. – проф. Г.І.Ходоровський)  
Буковинської державної медичної академії

**Резюме.** Досліджено вплив кастрації на постішемичний вміст продуктів окиснювальної модифікації білків в окремих структурах мозку щурів різних вікових груп. Встановлено, що ішемія, виконана після кастрації, незалежно від відділу кори та віку знижує рівень продуктів окиснювальної модифікації білків або не впливає на нього. У гіпокампі тварин обох вікових груп ішемія після кастрації викликає накопичення продуктів вільнорадикального окиснення білків, незважаючи на зниження їх вмісту або відсутність реакції після ішемічного впливу без кастрації.

**Ключові слова:** статеві гормони, гіпокамп, кора, окиснювальна модифікація білків.

**Вступ.** Посилення вільнорадикальних реакцій є невід'ємною складовою ішемічно-реперфузійних впливів [1,3,4]. Проте більшість досліджень цього аспекту ішемії зосереджено на процесах перексидного окиснення ліпідів, а окиснювальної модифікації білків (ОМБ), за даної патології, присвячено лише поодинокі роботи. Вони носять загальний характер, не враховуючи явище селективності, вікові аспекти та ефекти різноманітних модифікуючих чинників. Одним із таких чинників є стан гормональної регуляції, який справляє виражений вплив на перебіг ішемії [2,8]. Зокрема, ми не виявили в літературі даних про вплив на вільнорадикальні процеси статевих гормонів. Між тим, саме їх рівень може бути визначальним щодо вікової чутливості структур мозку до ішемії, адже відомо, що ці гормони мають виражений організуючий і програмуєчий вплив на нервову тканину та модулюють впливи на мозок гормонів стресу [7].

**Мета дослідження.** Вивчити вплив дефіциту статевих гормонів на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків в окремих структурах мозку щурів різного віку в пізньому постішемичному періоді.

**Матеріал і методи.** Враховуючи терміни дозрівання нейроендокринної системи в щурів експерименти виконано на тваринах віком один та три місяці. Контрольним тваринам проводили розтин шкіри та виділення сонних артерій без їх перетиснення. Щурам першої експериментальної групи моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом 20-хвилинного кліпсування обох загальних сонних артерій [6]. Другу експериментальну групу склали тварини, яким аналогічне втручання виконували через два тижні після кастрації. Реперфузійний період тривав п'ять діб. На шосту добу здійснювали евтаназію тварин під ефірним наркозом. Згідно з атласом стереотаксичних координат [9] забирали кору лобової, потиличної часток, поля гіпокампа СА1, СА2, СА3. У гомогенатах означених структур визначали вміст продуктів ОМБ [5].

Статистичну обробку проводили за t-критерієм Стьюдента.

Експериментальні дослідження та евтаназія тварин здійснювалися згідно з міжнародними принципами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

**Результати дослідження та їх обговорення.** Неповна глобальна ішемія мозку в одномісячних щурів призвела до вірогідного зростання вмісту продуктів ОМБ нейтрального та основного характеру в лобовій корі та нейтрального характеру – у потиличній (табл. 1,2). Кастрація мала значний вплив на наслідки ішемії. Він проявився зниженням вмісту всіх продуктів в обох зонах кори не лише в порівнянні з ішемією,

Таблиця 1

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у корі лобової частки тварин різного віку ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетонпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	43,5±0,89	17,1±0,88
	Ішемія	46,1±0,75 $p_k < 0,05$	19,0±0,45 $p_k < 0,05$
	Ішемія після кастрації	35,3±1,18 $p_k < 0,001$ $p_i < 0,001$	14,5±0,46 $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,001$
3 місяці	Контроль	39,2±0,92	15,8±0,68
	Ішемія	43,7±4,35	18,0±2,00
	Ішемія після кастрації	34,3±1,62 $p_k < 0,01$ $p_i < 0,05$	13,9±0,78 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,05$

**Примітка.** Тут та в наступних таблицях – вірогідність змін у порівнянні з:  $p_k$  – контролем;  $p_i$  – ішемією

Таблиця 2

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у корі потиличної частки тварин різного віку ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетонпохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	39,6±1,27	16,3 ± 0,97
	Ішемія	43,3 ± 0,75 $p_k < 0,05$	17,3 ± 0,34
	Ішемія після кастрації	33,7 ± 1,25 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,001$	13,5 ± 0,44 $p_k < 0,05$ $p_i < 0,001$
3 місяці	Контроль	37,7 ± 1,14	15,0 ± 0,79
	Ішемія	41,2 ± 1,09 $p_i < 0,05$	16,1 ± 0,66
	Ішемія після кастрації	38,8±0,67 $p_i < 0,05$	16,0±0,62

але й з контролем. У потиличній корі зменшення вмісту продуктів основного характеру відбулося незважаючи на те, що ішемія без кастрації ніяких змін не викликала.

У лобовій корі тварин тримісячного віку ішемія не мала впливу на досліджувані показники, а кастрація знову ж таки викликала їх зниження в порівнянні як із контролем, так і з ішемією. У потиличній корі тварин цієї вікової групи ішемія викликала зростання альдегідо- та кетонпохідних нейтрального характеру, а кастрація запобігала розвитку цих змін.

Вплив ішемії на вміст динітрофенілгідрозонів у полі СА1 тварин молодшої вікової групи полягав у зниженні вмісту продуктів основного характеру (табл.3). У той же час, за умов дефіциту статевих гормонів ішемичний вплив спричиняв виражений приріст цього показника до значень, навіть вищих, ніж у псевдооперованих тварин.

У дорослих шурів ішемія мала протилежний вплив – вміст всіх альдегідо- та кетонпохідних вірогідно перевищував контрольні показники. Кастрація не впливала на постішемичний вміст продуктів нейтрального характеру та значно поглиблювала постішемичні зміни продуктів основного характеру.

У полі СА2 одномісячних шурів вплив ішемії на вміст динітро-фенілгідрозонів нейтрального та основного характеру був пригнічувальним (табл.4). Дефіцит статевих гормонів запобігав розвитку постішемичних змін продуктів нейтрального характеру, проте викликав дуже виражений приріст продуктів основного характеру, який перевищував як контрольні, так і постішемичні величини.

Таблиця 3

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у полі гіпокампа CA1 тварин різного віку (M±m, n=8)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетопохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	40,3 ± 2,32	5,63 ± 0,38
	Ішемія	38,6 ± 1,96	4,05 ± 0,22
	Ішемія після кастрації	35,4 ± 1,47	15,1 ± 0,76 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005
3 місяці	Контроль	31,0 ± 0,94	3,0 ± 0,15
	Ішемія	38,9 ± 1,61 p <sub>k</sub> <0,005	4,2 ± 0,32 p <sub>k</sub> <0,01
	Ішемія після кастрації	38,2 ± 0,67 p <sub>k</sub> <0,005	16,6 ± 0,67 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005

Таблиця 4

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у полі гіпокампа CA2 тварин різного віку (M±m, n=8)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетопохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	34,8 ± 0,95	3,7 ± 0,33
	Ішемія	27,4 ± 1,81 p <sub>k</sub> <0,005	1,9 ± 0,37 p <sub>k</sub> <0,05
	Ішемія після кастрації	35,1 ± 1,23 p <sub>k</sub> <0,005	14,5 ± 0,69 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005
3 місяці	Контроль	19,2 ± 0,39	1,7 ± 0,22
	Ішемія	22,9 ± 0,49 p <sub>k</sub> <0,05	2,9 ± 0,22 p <sub>k</sub> <0,01
	Ішемія після кастрації	37,6 ± 1,26 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005	15,9 ± 0,56 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005

Таблиця 5

Вплив кастрації на постішемичні зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків у полі гіпокампа CA3 тварин різного віку (M±m, n=8)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетопохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
1 місяць	Контроль	22,9 ± 1,39	2,2 ± 0,22
	Ішемія	19,6 ± 1,96	1,9 ± 0,07
	Ішемія після кастрації	36,4 ± 0,96 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005	15,1 ± 0,68 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005
3 місяці	Контроль	15,8 ± 0,54	0,89 ± 0,10
	Ішемія	23,1 ± 1,70 p <sub>k</sub> <0,005	1,7 ± 0,29 p <sub>k</sub> <0,05
	Ішемія після кастрації	33,9 ± 1,60 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005	14,4 ± 0,63 p <sub>k</sub> <0,005 p <sub>t</sub> <0,005

У тримісячних тварин ішемія викликала приріст вмісту продуктів ОМБ, а кастрація значно посилювала цей вплив.

Вірогідних постішемичних змін вмісту продуктів ОМБ у полі САЗ тварин молодшої вікової групи не спостерігалося, а створення дефіциту статевих гормонів призвело до їх вираженого накопичення (табл.5). У даній структурі тримісячних тварин ішемія викликала зростання вмісту динітрофенілгідрозонів як нейтрального, так й основного характеру, а кастрація значно посилювала ці зміни.

Отримані дані демонструють деякі структурні та вікові особливості поєднаної дії ішемії й кастрації на вираженість ОМБ. Це свідчить, що рівень статевих гормонів в організмі впливає на перебіг ішемічно-реперфузійних процесів та відіграє важливу роль у механізмах селективної чутливості структур мозку до ішемії. До чинників, які визначають цей феномен, можна віднести кількість рецепторів до статевих гормонів в даній структурі.

#### **Висновки.**

1. У досліджених зонах кори не виявлено вікових особливостей конститутивного вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків.

2. Відстрочені постішемичні зміни окиснювальної модифікації білків у корі полягали в зростанні рівня її продуктів і не залежали від структури та віку.

3. Ішемія, виконана після кастрації, знижувала рівень продуктів окиснювальної модифікації білків, незалежно від відділу кори та віку.

4. Якісна реакція на ішемію в полях гіпокампа залежала від віку, зокрема, в одномісячних тварин ішемія підвищувала вміст продуктів окиснювальної модифікації білків, а в тримісячних – знижувала.

5. У гіпокампі тварин обох вікових груп ішемія після кастрації викликала накопичення продуктів окиснювальної модифікації білків, у деяких випадках навіть тоді, коли сама ішемія не мала впливу або знижувала їх вміст. Вираженої вікової різниці в реагуванні на кастрацію не було.

**Перспективи подальших досліджень.** Подальші дослідження механізмів участі статевих гормонів в ішемічно-реперфузійних пошкодженнях мозку можуть суттєво доповнити існуючі знання механізмів селективної чутливості структур мозку до даної патології.

**Література.** 1. *Викторов В.И.* Роль оксида азота и других свободных радикалов в ишемической патологии мозга // *Вестн. РАМН.* – 2000. – №4. – С. 5-10. 2. *Гусев Е.И., Скворцова В.И.* Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с. 3. *Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А.* Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Знание, 2002. – 344 с. 4. *Магура І.С.* Мозкова ішемія-гіпоксія та біофізичні механізми нейродегенераційних і нейропротекторних впливів // *Фізіол. ж.* – 2003. – Т.49, №2. – С. 7-12. 5. *Мецишен І.Ф.* Метод визначення окиснювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові // *Бук. мед. вісник.* – 1998. – Т. 2, №2. – С. 156-158. 6. *Скибо І.Г., Коваленко Т.М., Осадченко І.О., Гірник О.В.* Залежність ступеня пошкодження нейронів гіпокампа від тривалості ішемії мозку та постішемичного періоду // *Запорозький мед.ж.* – 2002. – Т.13, № 3. – С.21-22. 7. *Handa R.J., Burgess L.H., Keer J.E., Okeefe J.A.* Gonadal hormone steroid receptors and sex differences in the hypothalamo-pituitary-adrenal axis // *Horm. and Behav.* – 1994. – V.28, N4. – P. 464-476. 8. *Heales S.J., Bolanos J.P.* Impairment of brain mitochondrial function by reactive nitrogen species: the role of glutathione in distanting subseptibility // *Neurochem. Intern.* – 2002. – V. 40, N 6. – P. 469-474. 9. *Sherwood N.M., Timiras P.S.* A stereotaxis atlas of the developing rat brain. – Berkely -Los Angeles – London: University of California Press, 1970. – 208 p.

### **A MODIFICATION OF THE POSTISCHEMIC LEVEL OF OXIDATIVE PROTEIN MODIFICATION IN THE RAT CEREBRAL STRUCTURES WITH A DEFICIENCY OF SEX HORMONES AND ITS AGE-RELATED PECULIARITIES**

*V.A.Doroshko*

**Abstract.** The author has investigated the effect of castration on the postischemic content of oxidative protein modification products in separate brain structures of rats of various age groups. It has been established that ischemia performed after castration, irrespective of the cortical portion, age, decreases the level of oxidative protein modification products or does not influence on it. Ischemia causes an accumulation of products of free radical protein oxidation after castration in the hippocampus of animals of both age groups, despite a decrease of their content or the absence of reaction following the ischemic effect without castration.

**Key words:** sex hormones, hippocampus, cortex, oxidative protein modification.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Buk. Med. Herald. – 2004. – Vol.8, №3-4. – P.272-276

Надійшла до редакції 12.07.2004 року