

О.Д.Шимків

СИСТЕМНА ТА ЦЕРЕБРАЛЬНА РЕАКЦІЯ ЦИКЛІЧНИХ НУКЛЕОТИДІВ НА КАРОТИДНУ ІШЕМІЮ

Кафедра першових хвороб, психіатрії та медичної
психології ім. С.М. Савецка (зав. - проф. В.М.Пашковський)
Буковинської державної медичної академії

Резюме. Досліджено характер відстроченої системної та церебральної реакції циклічних нуклеотидів на каротидну ішемію. Встановлено, що конститутивний та індукбельний вміст циклічних нуклеотидів характеризується вираженими регіонарними відмінностями. Індуковані ішемією відставлені зміни вмісту циклічних нуклеотидів мають місце як на системному, так і на церебральному рівнях і найбільш виражені в зоні СА1 гіпокампа.

Ключові слова: каротидна ішемія, циклічні нуклеотиди, гіпокамп.

Вступ. Незважаючи на величезну кількість наукових досліджень, присвячених ішемії мозку, значна частина патогенетичних аспектів цієї розповсюдженої патології залишається невивченою. Тривалий час увага науковців була зосереджена на наслідках довготривалої ішемії мозку, яка має негайні й виражені патологічні прояви. Лише згодом було показано, що короткотривала ішемія, якій належить найбільша питома вага в структурі ішемічних пошкоджень мозку, через певний час також може призводити до загибелі нейронів [5,17]. Саме тому останнім часом почалося активне вивчення причин цієї так званої відставленої загибелі нейронів.

Відомо, що циклічні нуклеотиди (ЦН), як вторинні внутрішньоклітинні посередники гормонально-месенджерних впливів, є високочутливими показниками реакції тканини на дію несприятливих чинників [2,8,12], що й спонукало нас до проведення представлених у даній роботі досліджень.

Мета роботи. Дослідити відстрочену реакцію ЦН різних зон гіпокампа та плазми крові на короткотривалу двобічну каротидну ішемію.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на самцях білих лабораторних щурів віком 3 міс. Під внутрішньоочеревинним наркозом (калісол, 75 мг/кг маси тіла) переднім середнім шийним доступом розтинали шкіру й підшкірну клітковину, виділяли обидві загальні сонні артерії, на які накладали кліпси (затискачі). Кліпси знімали через 20 хв. Рану зашивали безперервним швом.

Контрольним тваринам проводили розтин шкіри, сепарацію м'язів і виділення судин без їх перетиснення.

Евтаназію тварин здійснювали на шосту добу шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Негайно на холоді виділяли головний мозок й одразу занурювали його в рідкий азот. Визначали конститутивний та індукований ішемією вміст ЦН (пмоль/г тканини) в СА1, СА2, СА3 зонах гіпокампа та в плазмі крові. Структури мозку забирали за методом [16], згідно з атласом стереотаксичних координат [15]. Визначення цАМФ та цГМФ проводилося на базі ЦНДЛ Донецького державного медичного університету ім. М. Горького наборами "cAMP" і "cGMP" ("Immunotech", Франція).

У момент декапітації кров збирали в центрифужні пробірки, попередньо покриті ЕДТА, центрифугували 20 хв при 600 g, плазму заливали в пластикові мікропробірки по 0,25 мл і заморожували при -20°C для проведення радіоімунних досліджень.

Статистичну обробку проводили за t-критерієм Стьюдента.

Автор висловлює щирю подяку зав. ЦНДЛ, д.мед.н. Зінковичу І.І. та колективу лабораторії радіоімунологічних досліджень за сприяння у виконанні досліджень.

Результати дослідження та їх обговорення. Аналіз отриманих результатів показав існування регіонарної різниці як конститутивних, так й індукбельних рівнів ЦН у межах досліджених відділів гіпокампа (рис. 1). Найвищий конститутивний вміст цАМФ та цГМФ мав місце в зоні гіпокампа СА1, а найнижчий - в СА3. Статистично вірогідної різниці між показниками в СА2 та СА3 не було.

Каротидна ішемія активізувала системи синтезу ЦН. Про це свідчить зростання рівня цАМФ у 1,5, 1,3, 1,45, 1,46 рази в зонах гіпокампа СА1, СА2, СА3 та плазмі крові відповідно й цГМФ у 3,0, 2,5, 1,5 рази в зонах гіпокампа СА1, СА2 та плазмі крові (рис. 1, 2). Вірогідних змін цГМФ у зоні СА3 не спостерігалось.

У цілому, відставлена реакція обох нуклеотидів на ішемічно-реперфузійні пошкодження носила однотипний характер.

Відомо, що для комплексної оцінки стану системи ЦН важливими є не лише їх абсолютні показники, але і баланс цАМФ/цГМФ (т.з. циклазний індекс) [1]. Він

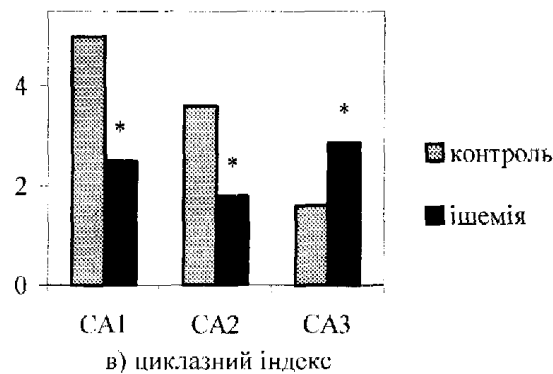
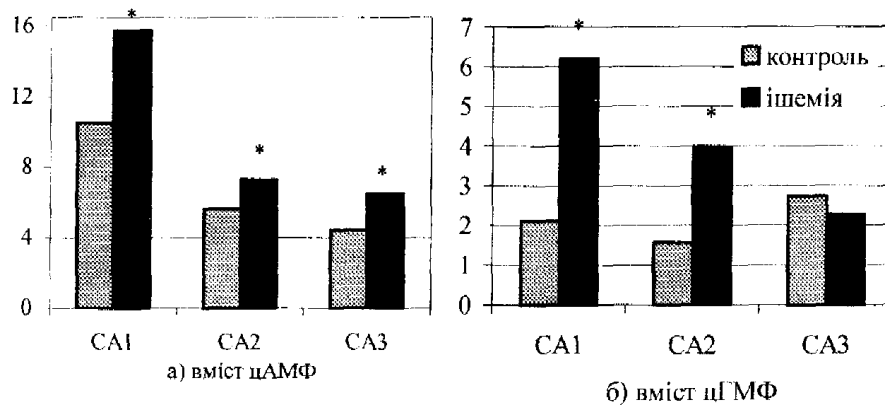


Рис. 1. Вміст циклічних нуклеотидів у різних відділах гіпокампа після каротидної ішемії

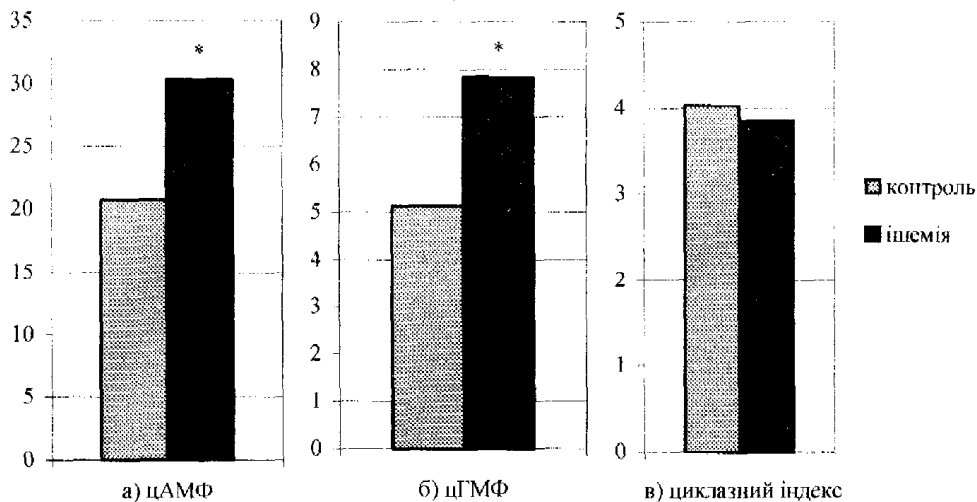


Рис. 2. Вміст циклічних нуклеотидів у плазмі крові після каротидної ішемії

Примітка. * зміни вірогідні відносно контролю

становив 5,0, 3,6, 1,6 у контрольних тварин та 2,5, 1,83, 2,86 у дослідних для зон гіпокампа CA1, CA2, CA3 відповідно. Щодо плазми, то цей показник становив 4,03 і 3,86 відповідно, тобто, не відрізнявся у тварин контрольної та дослідної груп.

Таким чином, індукована ішемією активація синтезу ЦН поєднувалася зі значним зниженням циклазного індексу в зонах гіпокампа CA1 та CA2, що свідчить про більш значну активацію в цих зонах гуанілатциклази.

За даними літератури, несприятливі впливи призводять до збільшення рівня ЦН у плазмі крові, структурах мозку [7], гіпофізі [11], а через характерні гормональні зрушення відіграють також певну роль у формуванні співвідношення цАМФ/цГМФ [10]. Останнє має значення для прогнозування наслідків ішемії щодо функціонального стану нейронів та структури мембран лізосом.

Таким чином, отримані нами дані узгоджуються з літературними щодо стану системи ЦН при екстремальних умовах.

Індукований ішемією приріст цГМФ, ймовірно, пояснюється підсиленням вільнорадикального окиснення, яке, згідно з даними літератури, має місце за умов ішемії [4,5,6]. Крім того, існують переконливі докази активації розчинної форми гуанілатциклази вільними радикалами й узагалі сильними прооксидантами [3,9]. Однак найбільший стимуловальний вплив на утворення цГМФ справляють оксид азоту (NO) та продукт його взаємодії з супероксиданіоном - пероксинітрит [13]. Основною мішенню для NO вважається розчинна гуанілатциклаза, гем якої відповідає за активацію ферменту при дії NO [14]. Таким чином, отриманий нами приріст цГМФ знаходиться в повній відповідності з відомим фактом посиленого утворення NO, як одного з провідних патогенетичних механізмів ішемічно-реперфузійних пошкоджень. Є всі підстави вважати, що саме цей механізм став причиною зниження величини циклазного індексу в зонах гіпокампа CA1 та CA2.

Висновки.

1. Конститутивний та індукбельний вміст циклічних нуклеотидів відрізняється вираженою регіонарною відмінністю.

2. Індуковані ішемією відставлені зміни вмісту циклічних нуклеотидів та їх балансу найбільш виражені в зоні CA1.

3. Відстрочені зміни рівня ЦН при ішемії мозку носять як місцевий (церебральний), так і системний характер.

Отримані результати свідчать про перспективність подальших досліджень ролі ЦН у механізмах ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку.

Література. 1.Васин М.В., Петрова Т.В., Королева Л.В. // Роль циклических нуклеотидов и вторичных посредников в регуляции ферментных процессов. - Петрозаводск, 1988. - С. 109-110. 2.Кунгурцева И.Б. Антистрессорное действие элеутерококка //Акт. пробл. внутр. мед.: СПб., 1996. - С. 69. 3.Пасечников В.Д., Вирганский А.О. Роль циклических нуклеотидов в адаптации к гипоксии слизистой оболочки желудка // Вопр.мед.химии. - 1991. - Т.37, вып.2. - С. 61-62. 4.Пинелли В.Г., Сорокина Е.Г., Реутов В.П. и др. Влияние токсического воздействия глутамата и нитрита на содержание циклического ГМФ в нейронах и их выживаемость // Докл. РАН. - 1997. - Т. 352, №2. - С. 259-261. 5.Скибо Г.Г., Коваленко Т.М., Осаоченко Ю.О., Гирник О.В. Залежність ступеня пошкодження нейронів гіпокампа від тривалості ішемії мозку та постішемічного періоду//Запорожский мед.ж. - 2002. - Т.13, № 3. - С.21-22. 6.Телушкин П.К. Глутамат и пероксидное окисление в патогенезе заболеваний ЦНС //Вопр.мед.химии - 1998. - Т.44, Вып.6. - С527-526. 7.Тигранян Р.А. Гормонально-метаболический статус организма при экстремальных воздействиях. - М.: Наука, 1990. - 288 с. 8.Федоров П.А., Радулованский М.Г., Чехович Г.Е. Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине. - М.: Медицина, 1990. - 176 С. 9.Уразаев А.Х., Зефирова А.Л. Физиологическая роль оксида азота // Успехи физиол. наук. - 1999. - Т.30, №1. - С. 54-72. 10.Якушев В.С., Куринка В.И., Белоконь Л.Е. и др. Изменение концентрации соматотропина, циклических нуклеотидов и состояние белкового обмена в мозге и сердце при стрессе, а также некрозе миокарда, воспроизведенном после перенесенного стресса // Вопр. мед. химии. - 1990. - Т.36, №1. - С. 19-22. 11.Antoni F.A., Palkovits M., Simpson J. et al. Ca2+/calcineurin-inhibited adenylyl cyclase, highly abundant in forebrain regions, is important for learning and memory // J.Neurosci. - 1998. - V.18, N23. - P. 9650-9661. 12.Bradley J., Zhang Y., Bakin R. et al. Functional expression of the heteromeric "Olfactory" cyclic nucleotide-gated channel in the hippocampus: A potential effector of synaptic plasticity in brain neurons // J. Neurosci. - 1997. - V. 16. - P. 1993-2005. 13.Chivagatto S., Scavone C., Canteras N.S. Nitric oxide synthase activity in the dorsal periaqueductal gray of rats expressing innate fear responses // NeuroReport. - 1998. - V.9, N4. - P. 571-576. 14.McDonald I.J., Murad F. Nitric oxide and cyclic GMP signaling // Proc.Soc.Exp.Biol.Med. - 1996. - V.211. - P. 1 - 6. 15.Konig J.H., 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. - 162p. 16.Palkovits M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat // Brain. Res. - 1973. - V.59, N1. - P. 449-450. 17. Peeling J.; Sutherland G.; Brown R. A.; Curry S. Protective effect of dichloroacetate in a rat model of forebrain ischemia // Neurosci. Lett. - 1996. - V.1. - P. 21-24.

THE SYSTEMIC AND CEREBRAL REACTION OF CYCLIC NUCLEOTIDES TO CAROTIC ISCHEMIA

O.D. Shymkiv

Abstract. The character of the delayed systemic and cerebral reaction of cyclic nucleotides to carotid ischemia has been studied. It has been ascertained that the constitutive and inducible content of cyclic nucleotides is characterized by marked regional differences. Ischemia-induced changes of the cyclic nucleotides content occur both at the systemic level and at the cerebral one and are most evident in the CA1 hippocampal region.

Key words: carotid ischemia, cyclic nucleotides, hippocampus.

Bukovinian State Medical Academy (Chernivtsi)

Надійшла до редакції 7.04.2003 року