

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ НА СТАН ОКИСНЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ В ОКРЕМИХ СТРУКТУРАХ НЕО- ТА АРХІКОРТЕКСА СТАРИХ ЩУРІВ

С.С. Ткачук, О.В. Ткачук, В.Ф. Мислицький, М.А. Повар, В.І. Штефанюк

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Ключові слова:

мозок, ішемія-реперфузія, окиснювальна модифікація білків, старіння.

Клінічна та експериментальна патологія Т.17, №3 (65), Ч.2.-С.125-129.

DOI:10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.170

E-mail: physiology@bsmu.edu.ua

Мета роботи. Вивчити вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі лобової, потиличної часток і полях гіпокампа СА1, СА2, СА3 дорослих та старих щурів у ранньому періоді моделювання неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку.

Матеріал і методи. У гомогенатах кори лобової і потиличної часток і полів гіпокампа СА1-СА3 щурів п'яти- та 22-місячного віку визначали вміст продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) нейтрального й основного характеру після 20-хвилинної каротидної ішемії з одногодинною реперфузією.

Результати. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія в дорослих щурів підвищує вміст продуктів ОМБ основного і нейтрального характеру в корі лобової та потиличної часток і знижує вміст останніх у полі СА3; у старих щурів - підвищує вміст альдегідо- та кетонпохідних нейтрального й основного характеру в корі потиличної частки та полі гіпокампа СА1, основного характеру - в корі лобової частки, нейтрального характеру - в полі гіпокампа СА2, знижує вміст останніх у корі лобової частки та не впливає на вивчені показники в полі СА3.

Висновки. Старіння супроводжується накопиченням продуктів ОМБ у корі лобової і потиличної часток, полі гіпокампа СА1, зниженням їх вмісту - у полях гіпокампа СА2 і СА3. У дорослих щурів за станом ОМБ чутливими до ішемії-реперфузії головного мозку є кора лобової та потиличної часток і поле СА3 гіпокампа, у старих - усі досліджені ділянки мозку, за винятком поля СА3.

Ключевые слова:

мозг, ишемия-реперфузия, окислительная модификация белков, старение.

Клиническая и экспериментальная патология Т.17, №3 (65), Ч.2.-С.125-129.

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ МОЗГА НА СОСТОЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В ОТДЕЛЬНЫХ СТРУКТУРАХ НЕО- И АРХИКОРТЕКСА СТАРЫХ КРЫС

С.С. Ткачук, А.В. Ткачук, В.Ф. Мыслицкий, М.А. Повар, В.И. Штефанюк

Цель работы. Изучить содержание продуктов окислительной модификации белков в коре лобной, затылочной долей и полях гиппокампа СА1, СА2, СА3 взрослых и старых крыс в раннем периоде моделирования неполной глобальной ишемии-реперфузии головного мозга.

Материал и методы. В гомогенатах коры лобной и затылочной долей и полей гиппокампа СА1-СА3 крыс пяти- и 22-месячного возраста определяли содержание продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) нейтрального и основного характера после 20-минутной каротидной ишемии с одночасовой реперфузией.

Результаты. Двусторонняя каротидная ишемия-реперфузия у взрослых крыс повышает содержание продуктов ОМБ основного и нейтрального характера в коре лобной и затылочной долей и снижает содержание последних в поле СА3; у старых крыс - повышает содержание альдегидо- и кетонпроизводных нейтрального и основного характера в коре затылочной доли и поле гиппокампа СА1, основного характера - в коре лобной доли, нейтрального характера - в поле гиппокампа СА2, снижает содержание последних в коре лобной доли и не влияет на изученные показатели в поле СА3.

Выводы. Старение сопровождается накоплением продуктов ОМБ в коре лобной и затылочной долей, поле гиппокампа СА1, снижением их содержания - в полях гиппокампа СА2 и СА3. У взрослых крыс по состоянию ОМБ чувствительными к ишемии-реперфузии головного мозга является кора лобной и затылочной долей и поле СА3 гиппокампа, у старых - все исследованные участки мозга, за исключением поля СА3.

PECULIARITIES OF INCOMPLETE GLOBAL CEREBRAL ISCHEMIA-REPERUSION EFFECT ON THE STATE OF PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION IN CERTAIN STRUCTURES OF NEO- AND ARCHICORTEX OF OLD RATS

S.S. Tkachuk, O.V. Tkachuk, V.F. Myslytskiy, M.A. Povar, V.I. Shtefaniuk

The aim of the study. The objective is to investigate the content of protein oxidative modification products in the cortex of the frontal, occipital lobes and CA1, CA2, CA3 hippocampus fields in adult and old rats at the early period of modeling incomplete global cerebral ischemia-reperfusion.

Materials and methods. The content of protein oxidative modification (POM) products of a neutral and basic character was determined in the cortex homogenates of the frontal and occipital lobes and CA1-CA3 hippocampus fields in five and 22-month old rats after 20 minute carotid ischemia with one hour reperfusion.

Results. Bilateral carotid ischemia-reperfusion in adult rats increases the content of POM products of a neutral and basic character in the cortex of the frontal and occipital lobes and decreases the content of the latter ones in CA3 field; in old rats it increases the content of aldehyde- and ketone derivatives of a neutral and basic character in the cortex of the occipital lobe and hippocampus CA1 field, of a basic character - in the cortex of the frontal lobe, of a neutral character - in the hippocampus CA2 field; it decreases the content of the latter ones in the cortex of the frontal lobe and does not influence on these indices in CA3 field.

Conclusion. Aging is associated with accumulation of POM products in the cortex of the frontal and occipital lobes, hippocampus CA1 field, decrease of their content - in CA2 and CA3 fields. In adult rats the cortex of the frontal and occipital lobes and hippocampus CA3 field are susceptible to cerebral ischemia-reperfusion by POM state, and in old ones - all the examined cerebral lobes except CA3 field.

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

Clinical and experimental pathology. Vol.17, №3 (65), P.2.-. P.125-129.

Вступ

Старіння супроводжується прогресуючими змінами ефективності фізіологічних функцій та підвищенням сприйнятливості до дії гіпоксичних стресів [1, 2]. Більше 80 % випадків інсультів стаються в людей похилого віку (≥65 років), а вік, у свою чергу, сильно впливає на наслідки інсульту [3, 4]. Підвищена вразливість людей похилого віку до ішемічного інсульту пов'язана з багатьма змінами, які виникають у мозку з віком. Зокрема, серед найбільш поширених теорій механізмів старіння загальною і мозку зокрема, важливе місце належить вільнорадикальній, 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 [2, 5-7]. Однією з найвразливіших мішеней вільних радикалів у процесі старіння є білки [8, 9]. Вважають, що саме оксидация 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 [10]. Підвищення карбонільних дериватів виявлено в гіпокампі старих щурів із порушеннями пам'яті [11]. Однак, є й інші дослідження, результати яких свідчать, що вміст окисдованих протеїнів у гомогенаті мозку старих тварин знижується [12]. Таким чином, немає сумнівів стосовно того, що старіння супроводжується порушеннями оксидативної модифікації білків, однак існуючі дані сповнені протиріч. Оскільки в основі пошкодження нервової тканини при ішемічно-реперфузійних впливах на мозок також лежить посилення вільнорадикальних процесів [13-15], нам видалося доречним дослідити вплив ішемії-реперфузії головного мозку на вміст про-

дуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) у структурах нової та древньої кори старих щурів.

Мета роботи

Вивчити вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі лобової, потиличної часток та полях гіпокампа CA1, CA2, CA3 дорослих та старих щурів у ранньому періоді моделювання неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку.

Матеріал і методи дослідження

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 [16], після чого здійснювали реперфузію протягом години. 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 [17].

Продукти ОМБ визначали за вмістом альдегідо- та кетонпохідних нейтрального й основного характеру [18]. Оптичну густину утворених динітрофенілгідрозонів реєстрували на фотоелектроколориметрі КФК-3 при 370 нм (альдегідо- й кетонпохідні нейтрального характеру) і 430 нм (альдегідо- й кетонпохідні основного характеру) проти контролю. Уміст продуктів ОМБ виражали в одиницях оптичної густини 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.

Результати та їх обговорення

Числові значення отриманих результатів представлені в таблиці. Вони свідчать, що в корі лобової та потиличної часток старих щурів конститутивний вміст про-

дуктів ОМБ нейтрального та основного характеру вищий, ніж у дорослих тварин. У полі гіпокампа СА1 виявлено підвищений вміст продуктів ОМБ нейтрального характеру при незміненому вмісті продуктів основного, у полі СА2 - знижений вміст альдегідо- та кетонопохідних 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

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 кетонопохідних ОМБ нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	Уміст альдегідо- та кетонопохідних 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

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

наявні.

Слід зазначити, що як накопичення окисдованих протеїнів, так і зниження їх вмісту є явищами несприятливими для мозку, оскільки відображають порушення фізіологічної збалансованості в системі "оксидативно-протеолітична деградація" білків [14]. Неоднозначність змін оксидативних 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 кетонпохідних 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 окисації протеїнів, що може відображати нерівномірність процесів старіння різних структур мозку.

Отримані дані свідчать, що за показниками ОМБ у 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 - поле СА3.

Висновки

1. Старіння супроводжується накопиченням продуктів окиснювальної модифікації білків у структурах нової кори й полів 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.

References

1. Asanov Je O. Vozrastnye osobennosti obmena kisloroda v tkanjah pri gipoksicheskom stresse. Problemy starenija i dolgoletija. 2007;16(2):130-36.
2. Utko NO, Pishel' IM, Bezrukov VV, Muradjan HK. Shvidkist' gazoobminu, termoregulacija ta aktivnist' antioksidantnih fermentiv pri starinni mishej linii S57V1/6 /. Fiziologichnij zhurnal. 2008;54(2):75-81.
3. Deb P, Sharma S, Hassan KM. Pathophysiologic mechanisms of acute ischemic stroke: An overview with emphasis on therapeutic significance beyond thrombolysis. Pathophysiology. 2010;17:197-218.

Відомості про авторів:

Ткачук С. С. - д. мед. н., професор, завідувач кафедри фізіології ім. Я.Д. Кіршенблата, ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Ткачук О.В. - д. мед. н., доцент кафедри анестезіології та реаніматології ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Мислицький В.Ф. - д. біол. н., професор кафедри патологічної фізіології ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Повар М.А. - асистент кафедри фізіології ім. Я.Д. Кіршенблата ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Штефанюк В.І. - асистент кафедри фізіології ім. Я.Д. Кіршенблата ВДНЗ України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Сведения об авторе:

Ткачук С. С. - д. мед. н., профессор, зав. кафедры физиологии им. Я.Д. Киршенблата, ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет". г. Черновцы

Ткачук А.В. - д. мед. н., доцент кафедры анестезиологии и реаниматологии ВГУЗ Украины "Буковинский

4. Knoflach M, Matosevic B, R?cker M, Furtner M, Mair A, Wille G, et al. Austrian Stroke Unit Registry Collaborators. Functional recovery after ischemic stroke - a matter of age: data from the Austrian Stroke Unit Registry. Neurology. 2012;78:279-285.

5. Patel P, Lockey RF, Kolliputi N. Can inflammation regulate systemic aging? Exp. Gerontol. 2015; 67:1-2. doi: 10.1016/j.exger.2015.04.011.

6. Regulski M. J. Cellular senescence: What, Why, and How. Wounds. 2017 Jun;29(6):168-174.

7. Santiago JA, Bottero V, Potashkin JA. Dissecting the Molecular Mechanisms of Neurodegenerative Diseases through Network Biology Front. Aging Neurosci. 29 May 2017 | <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00166>

8. Grimm S, Hoehn A, Davies KJ, Grune T. Protein oxidative modifications in the aging brain: consequence for the onset of neurodegenerative disease. Free Radic Res. 2011 Jan; 45(1): 73-88.

9. Borza LR. A review on the cause-effect relationship between oxidative stress and toxic proteins in the pathogenesis of neurodegenerative diseases. Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi. 2014 Jan-Mar;118(1):19-27.

10. Ghika J. Paleoneurology: neurodegenerative diseases are age-related diseases of specific brain regions recently developed by Homo sapiens. Med. Hypotheses. 2008;71:788-801. 10.1016/j.mehy.2008.05.034

11. Bettio LE. B, Rajendran L, Gil-Mohapel J. The effects of aging in the hippocampus and cognitive decline. Neurosci. Biobehav. Rev. 2017; 79:66-86. 10.1016/j.neubiorev.2017.04.030

12. Wang J, Li Q, Kong Y, Zhou F, Li J, Li W, et al. Biosystems Study of the Molecular Networks Underlying Hippocampal Aging Progression and Anti-aging Treatment in Mice. Front Aging Neurosci. 2017 Dec 6;9:393. doi: 10.3389/fnagi.2017.00393. eCollection 2017.

13. Weston RM, Lin B, Disting GJ, Roulston CL. Targeting Oxidative Stress Injury after Ischemic Stroke in Conscious Rats: Limited Benefits with Apocynin Highlight the Need to Incorporate Long Term Recovery. Stroke Res Treat. 2013;2013:648061. doi: 10.1155/2013/648061.

14. Liu C, Gao Y, Barrett J, Hu B. Autophagy and protein aggregation after brain ischemia. J. Neurochem. 2010 Oct;115(1):68-78. doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06905.x.

15. Gu SX, Blokhin IO, Wilson KM, Dhanesha N, Doddapattar P, Grumbach IM, et al. Protein methionine oxidation augments reperfusion injury in acute ischemic stroke. JCI Insight. 2016;1(7):86460. doi: 10.1172/jci.insight.86460

16. Skibo G.G. Ispolzovanie razlichnikh eksperimentalnikh modelei dlia izuchenia kletochnikh mehanizmov ishemicheskogo porazhenia mozga. Patologija. 2004;1(1): 22-30.

17. Konig JF, Klippel PA. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem. Baltimore: The Williams and Wilkins Company; 1963. 162 p.

18. Mahalyas VM, Mikhyeyev AO, Rohovyy YuYe. Suchasni metody eksperymental'nykh ta klinichnykh doslidzhen' tsentral'noyi naukovo-doslidnoyi laboratoriyi Bukovyn'skoyi derzhavnoyi medychnoyi akademiyi. Chernivtsi; 2001. 42 s.

государственный медицинский университет", г. Черновцы

Мислицкий В.Ф. - д. биол. н., профессор кафедры патологической физиологии ВГУЗ Украины "Буковинский

государственный медицинский университет", г. Черновцы

Повар М.А. - ассистент кафедры физиологии им.Я.Д.Киршенבלата ВГУЗ Украины "Буковинский

государственный медицинский университет", г. Черновцы

Штефанюк В.И. - ассистент кафедры физиологии им.Я.Д.Киршенבלата ВГУЗ Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Information about authors:

Tkachuk S. S. - MD, PhD, DSci, Professor, Head of the Y.D. Kirshenblat Department of Physiology Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Tkachuk A.V. - MD, assistant professor of the Department of Anesthesiology and Reanimatology of the VGUZ of Ukraine "Bukovina State Medical University", Chernivtsi

Myslitsky V.F. - Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Pathological Physiology, HSEE of Ukraine "Bukovina State Medical University", Chernivtsi

Povar M.A. - assistant of the department of physiology named after J.D. Kirshenblat of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Shtefaniuk V.I. - assistant of the department of physiology named after J.D. Kirshenblat of the Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Стаття надійшла до редакції 15.08.2018

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© С.С. Ткачук, О.В. Ткачук, В.Ф. Мислицький, М.А. Повар, В.І. Штефанюк, 2018