

*Т. М. Бойчук  
Т. П. Савчук*

Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці

## РЕАКЦІЯ КАТЕХОЛАМІНЕРГІЧНИХ СИСТЕМ СТРУКТУР ПРОМІЖНОГО МОЗКУ ЩУРІВ НА УСКЛАДНЕННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ ДВОБІЧНОЮ КАРОТИДНОЮ ІШЕМІЄЮ-РЕПЕРФУЗІЄЮ

**Ключові слова:** каротидна ішемія-реперфузія, катехоламіни мозку, цукровий діабет.

**Резюме.** Досліджено вплив двобічної каротидної ішемії головного мозку з наступною реперфузією на реакцію катехоламінів ядер гіпоталамуса, перегородки та мигдалеподібного комплексу в контрольних щурів та щурів із цукровим діабетом. Встановлено, що в контрольних щурів ішемія-реперфузія знижує рівень катехоламінів у всіх досліджених структурах головного мозку, а в щурів із цукровим діабетом реакція катехоламінів досліджених структур на зазначене втручання слабша порівняно з тваринами без діабету (виявлена лише у 8 із 15 досліджених ядер).

### Вступ

Сьогодні немає жодного сумніву в тому, що нейродегенеративні зміни в головному мозку, що виникають при цукровому діабеті (діабетична енцефалопатія, хвороба Альцгеймера), є наслідком метаболічних порушень, якими характеризується основне захворювання [7, 15]. Першопричиною їх розвитку вважають зміну функціональної активності сигнальних систем мозку, регуляція яких здійснюється, згідно класичних поглядів, інсуліном, інсуліноподібним фактором росту 1 та лептином, а також активацією глутаматергічної системи мозку [6, 7].

Однак останнім часом з'явилося багато робіт про важливу роль у розвитку нейродегенеративних процесів за умов цукрового діабету (ЦД) порушень у системі сигнальних каскадів, що регулюються біогенними амінами – серотоніном, дофаміном та норадреналіном [8, 13, 14]. Модифікація нейротрансмітерних систем може призвести до розвитку інсулінорезистентності навіть у здорових тварин [6, 7]. Показано, що в стовбурі мозку щурів із ЦД типу 1 знижується функціональна активність  $\alpha_2$ -адренорецепторів при зростанні тут та в гіпоталамусі, таламусі, мигдалеподібному тілі числа  $\beta_1$ -адренорецепторів, умісту адреналіну та швидкості перетворення норадреналіну на адреналін [13]. У цілому, це стає причиною ослаблення за умов ЦД сигнальних шляхів, пов'язаних з  $\alpha_2$ -адренорецепторами (спряжених з аденілатциклазою (АЦ) через Gі-білки) та посилення шляхів, що опосередковують адренергічні впливи через  $\beta$ -адренорецептори

(спряжені з АЦ через Gs-білки), унаслідок чого посилюються стимулюючі АЦ-каскади [8, 14]. Важливу роль у розвитку діабетичних нейродегенеративних змін головного мозку відіграють порушення сигнальних адренергічних впливів не лише на нейрони, але й на мікросудини мозку з розвитком мікроангіопатій, наслідком яких є гіпоксія та загибель нейронів.

Порушення функціонального стану катехоламінергічних систем мозку виявлено також за його ішемічно-реперфузійних пошкоджень [4, 10, 12], однак за умов ускладнення ЦД ішемією-реперфузією головного мозку такі дослідження відсутні.

### Мета дослідження

Вивчити вміст катехоламінів за інтенсивністю їх флуоресценції в структурах проміжного мозку, причетних до регуляції рівня глікемії, при моделюванні неповної глобальної ішемії мозку в щурів із цукровим діабетом.

### Матеріал і методи

Нами використана стрептозотоцинова модель ЦД, для чого двомісячним нелінійним білих лабораторним самцям-щурам однократно внутрішньочеревно вводили стрептозотин (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [5]. Термін спостереження – три місяці. Упродовж цього часу тричі глюкозооксидазним методом визначали рівень глікемії, у дослід брали тварин із рівнем глікемії 10 ммоль/л та вище. П'ятимісячним щурам контрольної групи та щурам із ЦД здійснювали 20-хвилинне припинення кровотоку по обох

загальних сонних артеріях шляхом їх кліпсування [3]. Тварин виводили з експерименту декапітацією під каліпсоловим наркозом через одну год. після відновлення кровотоку. Усі втручання та забій тварин проводили під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг) із дотриманням основних положень GLP (1981 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Мозок виймали на холоді, користуючись атласом стереотаксичних координат [11] забирали преоптико-гіпоталамічну ділянку, комплекс ядер перегородки та мигдаликоподібних ядер мозку. Забрані ділянки піддавали ліофільному висушуванню під вакуумом  $0,66 \times 10^{-5} - 10^{-6}$  кПа. Інтенсивність флуоресценції катехоламінів вимірювали за допомогою люмінесцентного мікроскопу МЛ-4 з мікрофотометричною насадкою ФМЭЛ-1А й виражали в умовних одиницях [2, 9]. У кожному препараті проводили 50 замірювань досліджуваних структур і таку ж кількість замірювань фону.

Статистичну обробку отриманих даних проводили за t-критерієм Стьюдента.

### Обговорення результатів дослідження

Дані, наведені в таблицях 1-3 свідчать, що конститутивний рівень катехоламінів найвищий в ядрах преоптикогіпоталамічної групи. Моделювання двобічної 20-хвилинної ішемії з наступною одногодинною реперфузією призвело до тотального зниження інтенсивності флуоресценції катехоламінів в ядрах усіх досліджених структур головного мозку. Структурні відмінності носили суто кількісний характер. Така односпрямованість змін наводить на думку про неспецифічність цієї реакції мозку. Найімовірніше, її можна розглядати як прояв активації стрес-реалізуючих систем мозку на дію гіпоксичного чинника, враховуючи, що досліджені нами відділи мозку є структурною основою розвитку стрес-реакції. У цілому, отримані результати узгоджуються з даними літератури про реакцію катехоламініргічних систем мозку на ішемічно-реперфузійне пошкодження [1, 4].

У щурів із тримісячним ЦД виявлено зростання інтенсивності флуоресценції катехоламінів у 8

Таблиця 1

Інтенсивність флуоресценції катехоламінів в ядрах перегородки мозку щурів різних експериментальних груп після двобічної каротидної ішемії-реперфузії ( $M \pm m$ ;  $n=10$ ,  $n_1=50$ )

Група спостереження	Назва ядра					
	дорзальне	латеральне	медіальне	прилегле	ложа термінальної смужки	діагональної зв'язки
Контроль	81,5±4,3	85,8±3,6	41,2±1,8	55,7±1,8	52,6±4,2	61,3±2,35
Ішемія-реперфузія	50,8±4,3*	48,5±4,2*	22,7±1,5*	41,4±2,0*	32,5±3,3*	39,1±2,9*
Діабет	102,5±3,1*	105,2±4,5*	55,9±2,2*	71,5±2,8*	55,6±2,5	60,1±3,3
Діабет та ішемія-реперфузія	91,7±4,9	98,2±3,1	62,1±4,6	69,2±3,5	43,6±2,8^	42,3±2,6^

Примітка. У табл. 1-3 - достовірність змін порівняно з показниками: \* - в контролі; ^ - за діабету; n - число тварин;  $n_1$  - число промірів

Таблиця 2

Інтенсивність флуоресценції катехоламінів в ядрах гіпоталамуса щурів різних експериментальних груп після двобічної каротидної ішемії-реперфузії ( $M \pm m$ ;  $n=10$ ,  $n_1=50$ )

Група спостереження	Назва ядра				
	паравентрикулярне	преоптико-медіальне	преоптико-латеральне	аркуатне	вентро-медіальне
Контроль	215,0±6,8	228,±6,5	129,6±5,4	242,4±11,6	148,7±5,1
Ішемія-реперфузія	109,2±7,0*	179,2±5,6*	98,4±4,1*	201±6,5*	98,3±4,6*
Діабет	242,1±3,2*	259,2±4,5*	135,2±5,6	238,1±4,9	207,4±6,2*
Діабет та ішемія-реперфузія	218,4±7,5^	258,1±8,8	106,3±5,2^	225±8,3	178,6±5,1^

Таблиця 3

Інтенсивність флуоресценції катехоламінів в ядрах мигдалика мозку щурів різних експериментальних груп після двобічної каротидної ішемії-реперфузії ( $M \pm m$ ;  $n=10$ ,  $n_1=50$ )

Група спостереження	Назва ядра			
	кортико-медіальне	центральне	базолатеральне	кінцевої смужки
Контроль	68,2±1,0	129,6±2,3	84,6±4,2	132,3±4,8
Ішемія-реперфузія	46,4±2,1*	89,1±2,7*	60,4±2,8*	107,4±6,2*
Діабет	96,4±2,1*	149,1±2,7*	91,4±2,8	119,4±6,7
Діабет та ішемія-реперфузія	74,8±3,1^	127±3,2^	76,9±3,39^	109,7±5,7

з 15 досліджених ядер (виняток становили ядра ретикулярної групи перегородки мозку – ложа термінальної смужки та діагональної зв'язки, а також преоптико-латеральне й аркуатне ядра преоптико-гіпоталамічної групи та базолатеральне ядро і ядро кінцевої смужки мигдалика мозку).

Відсутність змін у катехоламініргічних системах даних ядер може говорити про їх меншу вразливість до тих метаболічних та аутоімунних змін, якими супроводжується перебіг ЦД типу 1.

У тварин із ЦД реакція катехоламінів мозку на каротидну ішемію-реперфузію відрізнялася від такої в контрольних щурів – зниження інтенсивності флуоресценції порівняно з групою діабету без ішемії нами виявлено лише у 8 ядрах із досліджених 15. Таким чином, можна говорити про більш слабку реакцію катехоламініргічних систем мозку в цієї групи щурів на ідентичний контрольним тваринам пошкоджувальний вплив. Якщо розглядати цю реакцію, як прояв стрес-реактивності, то можна говорити, що остання за умов ЦД ослаблена. Цікаво, що подібним чином до контрольних щурів у тварин із ЦД відреагували на ішемію-реперфузію переважно ті ядра, в яких не виявлено змін досліджуваного показника за ЦД без ішемії, що можна пояснити збереженням їх функціональних нейротрансмітерних резервів.

### Висновки

1. У контрольних щурів ішемія-реперфузія головного мозку знижує рівень катехоламінів у всіх досліджених структурах головного мозку.

2. У мозку щурів із тримісячним цукровим діабетом виявлено підвищення вмісту катехоламінів (порівняно з контролем) у 9 із 15 досліджених ядер.

3. Реакція катехоламінів досліджених структур головного мозку в щурів із цукровим діабетом на каротидну ішемію-реперфузію слабша, ніж у тварин без діабету (виявлена лише у 8 із 15 досліджених ядер).

### Перспективи подальших досліджень

У подальшому планується дослідити функціональний стан інших сигнальних систем головного мозку за зазначених експериментальних умов.

**Література.** 1. Катехоламинанергическая система мозга при ишемии / [Т.Г. Гукасян, А.А. Петросян, М.Э. - Ширинян и др.] // Нейрохимия. - 2000. - Т.17, №1. - С. 13-22. 2. Микроспектрофлуориметр с выводом информации на перфоратор / Буданцев А.Ю., Жариков С.И., Барилко Ш.И. [и др.] // Цитология. - 1978. - №4. - С.476-479. 3. 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. 4. Ткачук С.С. Динамика вмісту катехоламінів в окремих структурах мозку щурів різного віку при двобічній каротидній ішемії-реперфузії / С.С. Ткачук, Т.І. Бойчук, В.Ф. Мислищкий // Клініч. та експерим. патол. - 2010. - Т. IX, № 1. - С. 81-84. 5. Bassirat M. Short- and long-term modulation of microvascular responses in streptozotocin-induced diabetic rats by glycosylated products / M.Bassirat, Z.Khalil // J.Diabet. Complicat. - 2008. - Vol.22, №6. - P.371-376. 6. Ceramide-mediated insulin resistance and impairment of cognitive-motor functions / S.M.de la Monte, M.Tong, V.Nguyen [et al.] // Alzheimers Dis. - 2010. - Vol.21, №5. - P. 967-984. 7. de la Monte S.M. Insulin resistance and Alzheimer's disease / S.M.de la Monte // BMB Rep. - 2009. - Vol.42, №2. - P. 475-481. 8. Intranasal insulin affects adenylyl cyclase system in rat tissues in neonatal diabetes / A.O.Shpakov, O.V.Chistyakova, K.V.Derkach [et al.] // Central Eur. J. Biol. - 2012. - Vol.7, №1. - P. 33-47. 9. Falck B. A detailed description of the fluorescence method for the cellular localization of biogenic monoamine / B.Falck, C.Owman // Acta Univ.Lundensis. - 1965. - S.II. - P. 7-49. 10. Haque M.E. Relationship between locomotor activity and monoamines following single and double transient forebrain ischemia in gerbils / M.E.Haque, K.Tanaka, N.Ogawa // Neurochem. Res. - 2001. - Vol.26, №4. - P.401-406. 11. Kimig J.F. The rat brain. A stereotaxis atlas of forebrain and lower part of the brain stem / J.F.Kimig, P.A.Klippel - Baltimore: The Williams @ Wilkins Comp., 1963. - 162p. 12. Monoamine metabolism and sympathetic nervous activation following subarachnoid haemorrhage: influence of gender and hydrocephalus / G. Lambert, S. Naredi, E. Eden [et al.] // Brain Res Bull. - 2002. - Vol.58, №1. - P.77-82. 13. Padayatti P.S. 2 adrenergic and high affinity serotonergic receptor changes in the brain stem of streptozotocin-induced diabetic rats / P.S.Padayatti, C.S.Paulose // Life Sci. - 1999. Vol.65. - P. 403-414. 14. PI 3-kinase regulation of dopamine uptake / O.V.Chistyakova, V.M.Bondareva, V.N. Shipilov [et al.] // J. Neurochem. - 2011. - Vol.81. - P. 859-869. 15. Molecular mechanisms linking diabetes mellitus and Alzheimer disease:  $\beta$ -amyloid peptide, insulin signaling, and neuronal function / S.Takeda, N.Sato, H.Rakugi, R. Morishita // Mol. Biosyst. - 2011. - Vol.7. - P. 1822-1827. 16. Tully K. Emotional enhancement of memory: how norepinephrine enables synaptic plasticity / K.Tully, V.Y.Bolshakov // Mol. Brain. - 2010. - Vol.3. - P. 15-21.

**РЕАКЦИЯ КАТЕХОЛАМИНЕРГИЧЕСКИХ СИСТЕМ СТРУКТУР ПРОМЕЖУТОЧНОГО МОЗГА КРЫС НА ОСЛОЖНЕНИЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРФУЗИЕЙ**

*Т. Н. Бойчук, Т. П. Савчук*

**Резюме.** Исследовано влияние двусторонней каротидной ишемии головного мозга с последующей реперфузией на реакцию катехоламинов ядер гипоталамуса, перегородки и миндалевидного комплекса мозга у контрольных крыс и крыс с сахарным диабетом. Установлено, что у контрольных крыс ишемия-реперфузия снижает уровень катехоламинов во всех исследованных структурах головного мозга, а у крыс с сахарным диабетом реакция катехоламинов исследованных структур на данное воздействие более слабая по сравнению с животными без диабета (обнаружена лишь в 8 из 15 исследованных ядер).

**Ключевые слова:** каротидная ишемия-реперфузия, катехоламины мозга, сахарный диабет.

**THE RESPONSE OF RATS DIENCEPHALON CATECHOLAMINERGIC STRUCTURES TO DIABETES MELLITUS COMPLICATED BY BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION**

*T. M. Bojchuk, T. P. Savchuk*

**Abstract.** The effect of bilateral carotid brain ischemia followed by reperfusion on the reaction of catecholamine nuclei of the hypothalamus, septum and amygdala of the brain in control rats and rats with diabetes mellitus has been studied. It has been shown that in control rats ischemia-reperfusion reduces catecholamine level in all brain regions studied, and in rats with diabetes mellitus catecholamine response of the investigated structures to this effect is weaker compared to animals without diabetes (detected in only 8 of the 15 investigated nuclei).

**Key words:** carotid ischemia-reperfusion, brain catecholamines, diabetes mellitus.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)**

*Clin. and experim. pathol.- 2012.- Vol.11, №3(41).-P.11-14.*

*Надійшла до редакції 25.08.2012*

*Рецензент – проф. В.Ф.Мислицький*

*© Т.М.Бойчук, Т.П.Савчук, 2012*