Висновки. Визначено вміст заліза, цинку та міді у волоссі дітей, які проживають у промисловому регіоні. Проведено порівняльний та кореляційний аналіз отриманих результатів. У 97% обстежених межі спільного утримання визначених елементів знаходяться у діапазоні двох середньоквадратичних відхилень (±2S), відхилення вище ±3S – відсутні.

Найбільш значуща зміна вмісту елементів у волоссі спостерігається для дітей НЛ ЧАЕС, у яких наявним є значне підвищення концентрації цинку у волоссі, що пояснюється особливостями функціонування елімінаційних систем організму.

З нашої точки зору, застосування кореляційний аналізу співвідношення між вмістом різних мікроелементів в організмі людини суттєво розширює наші уявлення щодо особливостей мікроелементного статусу організму при різних патологічних станах.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вельтищев Ю.Е. Экопатология детского возраста // Педиатрия.- 1995.-С.26-33.
2. Кисличенко В.С. Роль минеральных веществ в организме человека // Провизор.-1999.- №12. - С. 38-40.
3. Ревич Б.А. Химические элементы в волосах человека как индикатор воздействия загрязнения производственной и окружающей среды// Гигиена и санитария.-1990.-№3.-С. 55-59.
4. Рублевська Н.Ш., Стусь В.П. Вміст важких металів у волоссі дошкільнят промислового регіону // Медичні перспективи. – Т 3.- 1998.
5. Корреляционный анализ содержания микроэлементов в организме человека как перспективный метод донозологической диагностики / Чмиленко Т.С., Саевич О.В., Смитюк А.В., Чмиленко Ф.А. // Вісник Дніпропетровського університету. Сер. Медицина і охорона здоров'я.-2002.-В.3-С. 144-149.

SUMMARY

CORRELATION RELATIONS BETWEEN THE CONTENTS OF METALS IN A HAIR OF CHILDREN OF INDUSTRIAL REGION

Chmilenko T.S., Sapa U.S., Chmilenko F.A., Saevich O.V., Smityuk A.V., Novykova T.O.

The correlation analysis of a research of the copper contents atomic absorption, iron, zinc in a hair of children of Pridneprovsky region is carried out. Factors of conjugate correlation and equations of regressions of the contents of elements in a hair of children of researched groups.

Key words: children, zinc, iron, copper, element in a hair

УДК 616.831. – 018 – 053

СТРУКТУРНІ ТА ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНОГО ОКИСНЕННЯ Й АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЩУРІВ ІЗ ВІДСТРОЧЕНИМИ НАСЛІДКАМИ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ

Шимків О.Д., Ткачук С.С.

Буковинська державна медична академія, кафедра нормальної фізіології, м. Чернівці

Ключові слова: ішемічно-реперфузійні пошкодження, гіпокамп, вільнорадикальне окиснення ліпідів, білків, антиоксидантний захист

Вступ. Порушення кровообігу при ішемічному пошкодженні мозку викликає посилену генерацію вільнорадикальних сполук, що, в свою чергу, приводить до пошкодження клітинних мембран і є причиною так званої відстроченої загибелі нейронів [1, 4, 5]. В інтеграції місцевих реакцій, які виникають у відповідь на дію екстремальних факторів, виняткову роль відіграють взаємовідносини компонентів системи вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту, динамічність яких визначає ступінь пошкодження клітин [2, 7, 8]. Тому можна думати, що селективна та вікова чутливість структур мозку до ішемії, принаймні частково, залежить від характеру цих взаємовідносин.

Проте аналізуючи літературу з даної проблеми, ми не знайшли вікових характеристик стану вільнорадикального окислення ліпідів, білків, системи антиоксидантного захисту в пізньому постішемічному періоді. Між тим, існують клінічні спостереження, які свідчать про наявність вікових особливостей перебігу ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку [6], проте їх біохімічні кореляти залишаються недослідженими, що й визначило актуальність даної роботи.

Мета роботи. Дослідити вікові особливості відстрочених наслідків неповної глобальної ішемії мозку за показниками окислювальної модифікації білків, пероксидного окислення ліпідів та стану антиоксидантного захисту в окремих зонах гіпокампа щурів.

Матеріали та методи. Дослідження проведено на самцях білих лабораторних щурів віком один та три місяці. Неповну глобальну ішемію мозку відтворювали за методом [17]. 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. Структури мозку (поля гіпокампа CA1, CA2, CA3) забирали за методом

[21], звіряючись з атласом стереотаксичних координат [23].

Стан вільнорадикального окиснення оцінювали за вмістом первинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів — дієнових кон'югатів (ДК) й вторинних — малонового альдегіду (МА) [9; 18] та продуктів окиснювальної модифікації білків [13]. Стан ферментативного антиоксидантного захисту характеризували за активністю супероксиддисмутази (СОД) [19], глутатіонпероксидази (ГПО) [3], каталази (КТ) [12]. Паралельно проводили визначення в пробах вмісту білка [22].

Статистичну обробку проводили за t-критерієм Стьюдента.

Всі експериментальні дослідження та евтаназія тварин проводилися з дотриманням положень "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1985).

Результати досліджень та їх обговорення. В одномісячних тварин чутливість до ішемічно-реперфузійного пошкодження має виражений регіонарний характер (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив ішемії на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у гіпокампі одномісячних щурів (M±m, n=8)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	ДК (нмоль/мг білка)	МА (нмоль/мг білка)	СОД (од/хв мг білка)	КТ (мкмоль/ хв·мг білка)	ГПО (нмоль G-SH хв мг білка)
поле СА1					
Контроль	10,83 ± 1,43	5,59 ± 0,23	6,31 ± 0,12	39,71 ± 1,91	8,57 ± 0,43
Ішемія	11,52 ± 0,61	4,95 ± 0,34	4,96 ± 0,44 рк1<0,01	33,84 ± 2,21 рк1<0,05	8,12 ± 0,62
поле СА2					
Контроль	19,89 ± 1,23	5,83 ± 0,37	5,49 ± 0,56	25,12 ± 2,00	5,00 ± 0,28
Ішемія	16,11 ± 1,17 рк2<0,05	5,5 ± 0,50	2,67 ± 0,23 рк2<0,005	21,61 ± 2,19	4,76 ± 0,40
поле СА3					
Контроль	31,38 ± 2,25	8,66 ± 0,78	4,20 ± 0,33	30,22 ± 2,34	7,22 ± 0,31
Ішемія	24,72 ± 1,81 рк3<0,05	6,49 ± 0,52 рк3<0,05	3,82 ± 0,35	20,12 ± 1,31 рк3<0,005	5,35 ± 0,44 рк3<0,005

Примітки: рк1 – рк3 - вірогідність постішемічних змін щодо контролю відповідного поля гіпокампа. У решті випадків зміни невірогідні.

У тканині поля СА1 показники ліпопероксидації залишалися незмінними, активність КТ зменшилась в 1,2 разу, а СОД – в 1,3 разу.

У полі СА2 мали місце паралельні зміни окремих показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту: зниження вмісту ДК в 1,2 разу відбувалося на тлі зниження в 2,1 разу активності СОД.

Реакція поля СА3 проявлялася зниженням вмісту ДК, МА, КТ та ГПО в 1,3, 1,3, 1,5, 1,4 разу відповідно. Незмінною залишалася лише активність СОД.

На перший погляд, саме в цьому відділі гіпокампа тварин молодшої вікової групи виявлено найбільш обширні постішемічні зміни. Проте, як і в полі СА2, вони в рівній мірі торкалися й показників ліпопероксидації й активності антиоксидантних ферментів. Саме зміщення проокисно-антиоксидантної рівноваги може свідчити про посилення або виснаження певної її складової. Паралельне ж зниження окремих показників ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в полях гіпокампа СА2 та СА3 одномісячних тварин свідчить, що в цілому проокисно-антиоксидантний потенціал даних структур утримується в межах рівноваги, хоча й на новому, більш низькому функціональному рівні. Ймовірно, подібне зниження є наслідком виснаження обох компонентів системи.

У трьохмісячних щурів відстрочені наслідки ішемії-реперфузії в полі СА1 полягали у вірогідному зниженні активності ГПО та КТ в 1,3 разу та 2 рази відповідно (табл. 2). Вміст продуктів ліпопероксидації залишався незмінним.

Таблиця 2

Вплив ішемії на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у гіпокампі тримісячних щурів (M±m, n=8)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	ДК (нмоль/мг білка)	МА (нмоль/мг білка)	СОД (од/хв мг білка)	КТ (мкмоль/ хв мг білка)	ГПО (нмоль G-SH хв мг білка)
поле СА1					
Контроль	15,64 ± 0,92	4,57 ± 0,43	5,88 ± 0,49	29,23 ± 1,98	9,42 ± 0,82
Ішемія	13,12 ± 1,35	4,48 ± 0,31	4,95 ± 0,41	14,74 ± 1,28 рк1<0,005	7,31 ± 0,47 рк1<0,05

поле СА2					
Контроль	11,69 ± 1,20	6,53 ± 0,52	5,08 ± 0,45	42,04 ± 3,17	8,83 ± 0,72
Ішемія	15,96 ± 0,95 рк2<0,0125	5,24 ± 0,50	3,12 ± 0,32 рк2<0,005	21,56 ± 1,22 рк2<0,005	4,33 ± 0,32 рк2<0,005
поле СА3					
Контроль	23,25 ± 2,41	5,38 ±0,41	4,31 ± 0,40	13,55 ± 1,09	5,10 ± 0,46
Ішемія	22,39 ± 1,09	5,59 ± 0,34	4,74 ± 0,35	13,95 ± 1,12	4,11 ± 0,34

Примітки: рк1 – рк2 - вірогідність постішемічних змін у порівнянні з контролем відповідного поля гіпокампа.

Більш різноманітними у тварин даної вікової групи були відстрочені наслідки ішемії в межах поля СА2 (табл. 2). У цій структурі вірогідних змін зазнали всі досліджені показники, за винятком МА. Вміст ДК зріс в 1,4 разу, а активність антиоксидантних ферментів знизилась в 1,6, 1,9, 2,1 разу для СОД, КТ та ГПО відповідно. Вже само по собі зниження потужності антиоксидантного захисту при одночасному зростанні вмісту продуктів ліпопероксидації є несприятливим щодо виживання нейронів показником [1, 10, 11]. Проте, якщо зауважити значне переважання в пригніченні активності антиоксидантних ферментів над зростанням рівня ДК, стає зрозумілим, що мова йде про глибокий дисонанс у взаємовідносинах між потужністю вільнорадикального окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту на користь першого.

Що стосується поля СА3, то жодних довготривалих постішемічних порушень проокисно-антиоксидантної рівноваги тут не спостерігалося (табл.2).

У цілому, отримані нами дані узгоджуються з літературними про більш виражену чутливість до ішемії антиоксидантних ферментів у порівняння з інтенсивністю ліпопероксидації [2, 14, 15]. Це свідчить, що різна толерантність до дії екстремальних чинників пов'язана, в першу чергу, з резервними можливостями антиоксидантної системи мозку, яка спроможна інгібувати надмірне посилення вільнорадикального окиснення [16, 20, 24].

Вивчення впливу ішемії на показники вільнорадикальної модифікації білків також показало неоднорідність реакції різних відділів гіпокампа (табл.3).

Таблиця 3

Вплив ішемії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у гіпокампі тварин різних вікових груп (M±m, n=8)

Вік тварин	Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетонопохідних	
		нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм)
поле СА1			
1 місяць	Контроль	40,32 ± 2,32	5,63 ± 0,38
	Ішемія	38,60 ± 1,96	4,05 ± 0,22 p1<0,05
3 місяці	Контроль	31,01 ± 0,94	3,01 ± 0,15
	Ішемія	38,88 ± 1,61 p2<0,05	4,15 ± 0,32 p2<0,01
поле СА2			
1 місяць	Контроль	34,79 ± 0,95	3,73 ± 0,33
	Ішемія	27,38 ± 1,81 p1<0,05	1,91 ± 0,37 p1<0,05
3 місяці	Контроль	19,22 ± 0,39	1,71 ± 0,22
	Ішемія	22,91 ± 0,49 p1<0,05	1,96 ± 0,22
поле СА3			
1 місяць	Контроль	22,90 ± 1,39	2,17 ± 0,22
	Ішемія	19,59 ± 1,96	1,97 ± 0,07
3 місяці	Контроль	15,81 ± 0,54	0,89 ± 0,10
	Ішемія	23,12 ± 1,70 p2<0,05	1,72 ± 0,29 p2<0,05

Примітка: вірогідність постішемічних змін у порівнянні з: p1 - контрольними показниками в одномісячних тварин; p2 - контрольними показниками в тримісячних тварин. У решті випадків зміни невірогідні.

У полі СА1 одномісячних щурів ішемія не справила суттєвого впливу на вміст альдегідо- та кетонопохідних нейтрального характеру, проте мало місце зниження в 1,4 разу продуктів основного характеру.

У тримісячних тварин реакція була протилежною – рівень альдегідо- та кетонопохідних нейтрального характеру зріс в 1,3 разу, а основного – в 1,4 разу.

У полі СА2 наслідки ішемії щодо даних показників були більш вираженими (табл.3). У тварин моло-

дшої вікової групи в постішемічному періоді значно знижувався вміст альдегідо- та кетонопохідних як нейтрального, так й основного характеру (в 1,3 та 1,9 разу відповідно). У дорослих щурів відбулося зменшення (в 1,2 разу) лише продуктів нейтрального характеру.

Ішемія не спричиняла будь-яких змін вмісту модифікованих білків у зоні гіпокампа СА3 одномісячних щурів. Проте в старших тварин відбулося досить значне зростання (в 1,5 та 1,9 разу відповідно) альдегідо- та кетонопохідних як нейтрального, так й основного характеру.

Таким чином, отримані дані свідчать про структурну та вікову неоднозначність вільнорадикальних процесів у мозку, характерних для пізнього постішемічного періоду.

Висновки. 1. Ішемічно-реперфузійні порушення проокисно-антиоксидантного гомеостазу в різних зонах гіпокампа тварин обох вікових груп є неоднозначними як за кількістю змінених параметрів, так і за вираженістю та глибиною змін. Відстрочені наслідки ішемії-реперфузії більшою мірою стосуються стану антиоксидантної системи, ніж показників ліпопероксидації. Постішемічні зміни інтенсивності ліпопероксидації не залежать від віку, а активність та потужність ферментативного антиоксидантного захисту вища в одномісячних тварин.

3. Характер постішемічних змін окиснювальної модифікації білків залежить від віку тварин та досліджуваної структури. У всіх полях гіпокампа вміст оксидованих форм протеїнів був значно вищим у тварин молодшої вікової групи.

Отримані результати свідчать про перспективність подальших досліджень механізмів вікової селективності ішемічно-реперфузійних пошкоджень мозку, знання яких може стати основою їх патогенетичної корекції.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абрамец И.И., Комиссаров И.В. Глутаматергические механизмы ишемических повреждений мозга (обзор литературы и собственных исследований) // Ж. АМН України. – 2001. – Т.4, №4. – С. 613-633.
2. Вільнорадикальне окислення ліпідів та антирадикальний захист мозку щурів під час адаптації до інтенсивного фізичного навантаження / Баринов Е.Ф., Бондаренко Н.М., Якубенко О.Д., Баринова М.Е. // Укр. биохим. журн. – 1999. – Т. 71, № 2. – С. 61-64.
3. Геруш І.В., Мещишен І.Ф. Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової // Вісник проблем біол. та мед. – 1998. – №7. – С. 10-15.
4. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с.
5. Дарій В.І., Козьолкін А.О. Взаємозв'язок продуктів пероксидної оксидації ліпідів і антиоксидантної системи у хворих на ускладнений мозковий інсульт // Эксперим. та клін. фізіол. та біохім. – 2001. – № 2 (14). – С. 41-43.
6. Деев А.С., Захарушкина И.В. Причинные факторы, течение и исходы ишемического инсульта у лиц молодого возраста // Неврол. ж. – 1999. – Т.4, №6. – С. 28 –31.
7. Зинкович И.И. Состояние липопероксидации при экстремальных воздействиях // Вестник гигиены и эпидемиол. – 2001. – Т. 5, № 2. – С. 172-175.
8. Зозуля Ю.А., Барабой В.А., Сутковой Д.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Знание, 2002. – 344 с.
9. Костюк В.А., Потапович А.И., Лунец Е.Ф. Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов // Вопр. мед. химии.— 1984.— №4.— С. 125-127.
10. Лук'янчук В.Д., Савченкова Л.В., Бібік О.Ю. Окисний гомеостаз мозку при ішемії і досвід експериментальної фармакотерапії (огляд літератури і власних досліджень)//Ж. Акад. мед. наук України. – 2001. – Т.7, №4. – С.647-659.
11. Магура І С. Мозкова ішемія-гіпоксія та біофізичні механізми нейродегенеративних і нейропротекторних впливів // Фізіол. ж. – 2003. – Т.49, №2.
12. Метод определения активности каталазы / Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. //Лабор. дело. 1988.–№1. – С. 16-18.
13. Мещишен І.Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові. // Бук. мед. вісник. – 1998. – Т. 2, №2. – С. 156-158.
14. Реутов В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала // Вестник РАМН. – 2000. - №4. – С. 35-41.
15. Самойлов М.О., Лазаревич Е.В., Семенов Д.Г. и др. Адаптивные эффекты гипоксического прекондиционирования нейронов мозга // Росс. физиол. ж. им. Сеченова. – 2001. – Т. 87, № 6. – С. 714-728.
16. Самойлов М.О., Мокрушин А.А. Роль эндогенных нейромодуляторных пептидов в повышении функциональной толерантности нейронов мозга к аноксии // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1998. – Т. 125, № 5. – С. 503-505. 131.
17. Скибо Г.Г., Коваленко Т.М., Осадченко І.О., Гірник О.В. Залежність ступеню пошкодження нейронів гіпокампу від тривалості ішемії мозку та постішемічного періоду // Запорожский мед.ж. – 2002.- Т.13, № 3. – С.21-22.
18. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
19. Чевари С., Чаба И., Секей И. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах //Лаб. дело. – 1985. – №11. – С. 678-681.
20. Chang C.Y. Plasma levels of antioxidant vitamins, selenium, total sulfhydryl groups and oxidative products in ischemic-stroke patients as compared to matched controls in Taiwan // Free Radic. Res. – 1998. – Vol. 28, №1. – P. 15-24.
21. Palkovits M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat // Brain. Res.- 1973.- V.59, N1. - P. 449-450.
22. Protein measurment with Folin phenol reagent / Lowry O.H., Rosenbrough N.I., Parr A.L., Randwall R.I. // J.Biol.Chem. – 1951. – V.193, N1. – P. 265-275.

23. 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.
24. Watson B.D. Usual and anusual methods for detection of lipid peroxides as indicators of tissue injury in cerebral ishemia: what is appropriate and useful?//Cell.Moll.Neurobiol. – 1998. – Vol.18, N6. - P. 581-598. (290)

SUMMARY

THE STRUCTURAL AND AGE PECULIARITIES OF FREE RADICAL PEROXYDATION AND ANTIOXIDANT DEFENCE IN RATS WITH DELAYED CONSEQUENCES OF IN-COMPLETE GLOBAL BRAIN ISHEMIA

Shimkiv O.D., Tkachuk S.S.

The delayed influence of the carotic ishemia on the indices of free radical lipid and protein peroxydation and the activity of the enzymes of antioxidant defence in areas CA1, CA2, CA3 of the hippocamp of rats of various age groups have been studied. It was ascertained that the consequences of ishemic-reperfusion damage for different zones of the hippocamp differ in the animal of both age groops, both by the quantity of changes parameters as well as by the marked character and intensity of changes.

Key words: ishemic-reperfusion damage, hyppocamp, free radical peroxydation of lipids, proteins, antioxidant defence