

О. В. ТкачукБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ЦЕРЕБРАЛЬНА РЕАКЦІЯ СИСТЕМИ
ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЯ-
АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ НА
ДВОБІЧНУ КАРОТИДНУ ІШЕМІЮ-
РЕПЕРФУЗІЮ В ЩУРІВ ЗІ
СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНИМ
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ**

Ключові слова: цукровий діабет,
ішемія-реперфузія головного мозку,
ліпопероксидація, антиоксидантні
ферменти.

Резюме. Досліджено вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на стан ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в структурах головного мозку щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом. Встановлено, що цукровий діабет знижує вміст продуктів ліпопероксидації та активність супероксиддисмутази. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в щурів із діабетом практично не впливає на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, проте ще більше, ніж цукровий діабет, пригнічує активність антиоксидантних ферментів.

Вступ

Наукові доробки сьогодення не залишають сумнівів щодо тісного взаємозв'язку між порушеннями вуглеводного обміну та частотою і тяжкістю перебігу цереброваскулярної патології [8, 9]. Встановлено, що короткотривала фокальної ішемії головного мозку у тварин із гіперглікемією призводить не лише до розвитку більш обширної зони некрозу, але й суттєвішої загибелі нейронів зони пенумбри порівняно з аналогічною моделлю ішемії за умов нормоглікемії [11]. Аналогічна ситуація має місце й у хворих на цукровий діабет – ішемічні інсульти в них зустрічаються частіше, а їх наслідки – тяжчі [2,4]. Провідною патогенетичною ланкою ушкодження нервової тканини за ішемічних впливів є оксидативний стрес [5]. Порушення прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин має місце також і при цукровому діабеті [1,2,10], однак дані літератури стосовно цих змін неоднозначні [2,3,13]. Крім того, вкрай недостатньо досліджено стан цієї системи в структурах мозку за умов поєднаної дії довготривалого діабету та ішемії-реперфузії головного мозку, що вказує на актуальність подібних досліджень.

Мета дослідження

Вивчити вплив неповної глобальної ішемії мозку на показники оксидативного стресу в корі потиличної частки та лімбіко-гіпоталамічних структурах мозку щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом.

© О. В. Ткачук, 2009

Матеріал і методи

У дослідах використано нелінійних білих лабораторних самців-щурів. Цукровий діабет моделювали однократним внутрішньочеревинним уведенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [1]. Рівень глікемії визначали глюкозооксидазним методом. Тривалість діабету становила чотири місяці. У частини контрольних щурів моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом двобічного кліпсування загальних сонних артерій [6]. Ішемічний період становив 20 хв, реперфузійний – 60 хв. Контролем слугували несправжньооперовані щури без та з цукровим діабетом, у котрих здійснювали всі маніпуляції до етапу припинення кровотоку по сонних артеріях. Евтаназію тварин виконували декапітацією під наркозом.

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів у гомогенатах кори потиличної частки, перегородки мозку, мигдалеподібного комплексу ядер, преоптичної ділянки та медіобазального гіпоталамуса визначали за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) та малонового альдегіду (МА) [7]. Стан антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) та глутатіонпероксидази (ГПО) [7]. Структури мозку ідентифікували за координатами стереотаксичного атласу [12].

Результати досліджень опрацьовано за допомогою пакета прикладних програм “Statistica (“Statsoft”, США). За тестом Шапіро-Уїлка групи

порівняння мали нормальний розподіл. Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Ст'юдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення.

Усі експериментальні дослідження та евтаназія тварин проводилися з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про за-

хист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Обговорення результатів дослідження

У корі потиличної частки контрольних тварин неповна глобальна ішемія головного мозку з наступною реперфузією призвела до зростання вмі-

Таблиця

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у структурах мозку щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом та неповною глобальною ішемією мозку (M±m, n=11)

Група спостереження	Вміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/ хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль G-SH-хв·мг білка)
Потилична частка кори					
Контроль	2,51±0,056	0,515±0,015	31,6±0,898	2,24±0,292	0,433±0,088
Ішемія-реперфузія	2,74±0,101	0,642±0,018 p ₁ <0,0005	20,7±0,537 p ₁ <0,0005	3,22±0,147 p ₁ <0,008	1,05±0,097 p ₁ <0,0005
Діабет	1,29±0,107 p ₁ <0,0005	0,386±0,020 p ₁ <0,0005	5,69±0,306 p ₁ <0,0005	2,89±0,247	0,404±0,015
Діабет та ішемія-реперфузія	1,22±0,106	0,308±0,041	3,91±0,370 p ₂ <0,001	1,15±0,106 p ₂ <0,0005	0,279±0,036 p ₂ <0,004
Перегородка мозку					
Контроль	2,83±0,076	0,611±0,016	33,28±1,01	2,23±0,040	0,697±0,184
Ішемія-реперфузія	2,76±0,111	0,670±0,028	17,9±0,329 p ₁ <0,0005	3,16±0,140 p ₁ <0,0005	0,884±0,078
Діабет	1,22±0,077 p ₁ <0,0005	0,418±0,024 p ₁ <0,0005	5,38±0,344 p ₁ <0,0005	2,74±0,310	0,384±0,021
Діабет та ішемія-реперфузія	1,71±0,163 p ₂ <0,015	0,398±0,043	4,16±0,306 p ₂ <0,016	1,68±0,310 p ₂ <0,027	0,355±0,047
Мигдалеподібний комплекс ядер					
Контроль	2,69±0,079	0,635±0,014	37,8±0,602	2,39±0,544	0,650±0,164
Ішемія-реперфузія	2,70±0,112	0,773±0,016 p ₁ <0,0005	17,4±0,718 p ₁ <0,0005	2,86±0,311	0,902±0,084
Діабет	1,21±0,075 p ₁ <0,005	0,378±0,014 p ₁ <0,005	5,79±0,447 p ₁ <0,005	3,03±0,250	0,396±0,019
Діабет та ішемія-реперфузія	1,51±0,121	0,354±0,027	5,47±0,654	1,85±0,224 p ₂ <0,002	0,285±0,018 p ₂ <0,0005
Преоптична ділянка					
Контроль	2,75±0,095	0,637±0,014	36,7±0,784	2,37±0,076	0,658±0,164
Ішемія-реперфузія	2,69±0,109	0,708±0,023 p ₁ <0,016	15,7±0,460 p ₁ <0,0005	3,43±0,120 p ₁ <0,0005	0,911±0,109
Діабет	1,32±0,113 p ₁ <0,0005	0,419±0,031 p ₁ <0,0005	6,45±0,566 p ₁ <0,0005	3,16±0,333 p ₁ <0,033	0,390±0,012
Діабет та ішемія-реперфузія	1,68±0,128	0,386±0,032	4,60±0,337 p ₂ <0,01	1,58±0,210 p ₂ <0,001	0,322±0,025 p ₂ <0,051
Медіобазальний гіпоталамус					
Контроль	2,57±0,078	0,598±0,019	36,0±1,01	1,54±0,203	0,653±0,161
Ішемія	2,82±0,057 p ₁ <0,028	0,709±0,040 p ₁ <0,02	18,1±0,668 p ₁ <0,0005	3,56±0,082 p ₁ <0,0005	0,929±0,058
Діабет	1,18±0,055 p ₁ <0,0005	0,383±0,010 p ₁ <0,0005	5,66±0,409 p ₁ <0,0005	3,07±0,276 p ₁ <0,0005	0,377±0,020
Діабет та ішемія-реперфузія	1,22±0,074	0,330±0,031	3,89±0,279 p ₂ <0,002	1,53±0,250 p ₂ <0,0005	0,273±0,026 p ₂ <0,005

Примітка. вірогідність змін у порівнянні з: p₁ – показниками в контрольних тварин; p₂ – показниками в щурів із цукровим діабетом

сту МА, активності КТ та ГПО в 1,2, 1,4, 2,4 раза відповідно, і зниження активності супероксиддисмутази в 1,5 раза (табл.). Цукровий діабет спричинив у цій структурі зниження вмісту ДК, МА та СОД відповідно в 1,9, 1,3 та 5,6 раза порівняно з контролем. Ішемія-реперфузія мозку в щурів із діабетом знизилась активність усіх ферментів антиоксидантного захисту (в 1,5, 2,5, 1,4 раза для СОД, КТ та ГПО) і не вплинула на вміст продуктів ліпопероксидації.

У контрольних щурів реакція підкіркових структур на неповну глобальну ішемію мозку була менш суттєвою за кількістю змінених параметрів (за винятком медіобазального гіпоталамуса).

У перегородці мозку в 1,9 раза знизилась активність СОД, але одночасно в 1,4 раза зросла активність КТ, у мигдалеподібних ядрах в 1,2 раза зріс вміст МА та у 2,2 раза знизилась активність КТ, у преоптичній ділянці в 1,1 раза зріс вміст МА та в 1,4 раза – активність КТ, проте у 2,3 раза знизилась активність СОД. Більш вагомою були зміни досліджених параметрів у медіобазальному гіпоталамусі: тут відбулося зростання вмісту ДК, МА та активності КТ в 1,1, 1,2, 2,3 раза відповідно й зниження у 2 рази активності СОД. Цукровий діабет спричинив зниження в усіх лімбіко-гіпоталамічних структурах вмісту ДК, МА, активності СОД (в 2,3, 1,5, 6,2 раза в перегородці, у 2,2, 1,7, 6,5 раза – у мигдалеподібному комплексі ядер, у 2,1, 1,5, 5,9 раза – у преоптичній ділянці, в 2,2, 1,6, 6,4 раза – у медіобазальному гіпоталамусі). Крім того, в останніх двох структурах спостерігалось зростання активності КТ в 1,3 раза та два рази відповідно. Отже, спільним для всіх досліджених нами структур при діабеті є зниження як інтенсивності ліпопероксидації, так й активності СОД.

Привертає увагу стабільно суттєві зниження активності СОД, які кількісно значно переважають ступінь пригнічення ліпопероксидації.

Досить однотипною у тварин із цукровим діабетом є також реакція системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист на каротидну ішемію-реперфузію – вона характеризується пригніченням активності всіх антиоксидантних ферментів у корі потиличної частки (в 1,5, 2,5, 1,4, раза), преоптичній ділянці (в 1,4, 2,1, 1,2 раза) та медіобазальному гіпоталамусі (в 1,5, 2,0, 1,4 раза) для СОД, КТ, ГПО відповідно. У мигдалеподібному комплексі знизилась в 1,6 та 1,4 раза активність КТ і ГПО, а в перегородці мозку – в 1,3 та 1,6 раза активність СОД і КТ. Крім того, тут достовірно знизився також вміст первинних продуктів ліпопероксидації. Таким чином, незважаючи на вагомий зниження антиоксидантної активності у щурів

із діабетом, ішемія мозку у тварин цієї групи спричиняє ще більше її пригнічення.

У цілому можна дійти загального висновку, що цукровий діабет знижує рівень функціональної активності системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист, а ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку у тварин із даною патологією спричиняє виснаження ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

Висновки

1. Стрептозотоциновий цукровий діабет знижує вміст первинних і вторинних продуктів ліпопероксидації та активність супероксиддисмутази.

2. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в щурів зі стрептозотоциновим діабетом практично не впливає на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, проте ще більше, ніж цукровий діабет, пригнічує активність антиоксидантних ферментів.

Перспективи подальших досліджень

Для створення цілісної уяви про стан вільнорадикальних процесів за умов поєднаної дії цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку ми вважаємо доцільним вивчення в церебральних структурах стану окиснювальної модифікації білків.

Література. 1. *Антиоксидантная защита* и структурные изменения в головном мозге у крыс при экспериментальном сахарном диабете / С. А. Шестакова, Р. П. Степанов, Г. А. Григоренко, Н. В. Федорова [и др.] // Пробл. эндокринолог. – 2006. – №1. – С. 37-44. 2. *Балаболкин М. И.* Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета / М. И. Балаболкин, Клебанова // Пробл. эндокринолог. – 2000. – №6. – С. 29-34. 3. *Зайчик А. М.* Молекулярно-биологические основы нарушений гуморальной регуляции при сахарном диабете / А. М. Зайчик // Мед. акад. журн. – 2008. – Т. 8, № 1. – С. 127-138. 4. *Интерлейкины* и хемокины при остром ишемическом инсульте, отягощенном и не отягощенном диабетом / А. С. Бояджян, Э. А. Аракуелова, В. А. Айвазян, Л. А. Манукян // Цитокины и воспал. – 2008. – Т. 7, № 1. – С. 40-43. 5. *Оксидантный стресс* и кислородный статус при ишемическом инсульте / В. И. Скворцова, Я. Р. Нарциссов, М. К. Бодыхов [и др.] // Журн. неврол. и психиатрии. – 2007. – № 1. – С. 30-36. 6. *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. 7. *Сучасні методи* експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / В. М. Магалаєс, А. О. Міхеев, Ю. Є. Роговий [та ін.] – Чернівці, 2001. – 42 с. 8. *Brain, a gluco-dependent organ: toxic effects of hypoglycemia and hyperglycemia* / Radermecker R. R., Philips J. S., Jandrain B. J. [et al.] // Rev. Mer. Liege. – 2008. – Vol. 63, №5-6. – P. 280-286. 9. *Bruno A.* Management of hyperglycemia during acute stroke / A. Bruno // Curr. Cardiol. Rep. – 2009. – Vol. 11, №1. – P. 36-41. 10. *Figuroa-Romero C.* Mechanisms of disease: the oxidative stress theory of diabetic neuropathy / C. Figuroa-Romero, M. Sadidi, E. L. Feldman // Rev. Endocr. Metab. Disord. – 2008. – Vol. 9, №4. – P. 301-314. 11. *Impaired wound healing after cerebral hypoxia-ischemia in the diabetic mouse* / R. Kumari, L. B. Willing, J. K. Krady [et al.] // J. Cereb. Blood Flow. Metabol. – 2007. – Vol. 27, №4. – P. 710-718. 12. *Konig J. F., 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.– 162 p. 13. Lopes J.P. Oxidative stress and its effects on insulin resistance and pancreatic beta-cells dysfunction: relationship with type 2 diabetes mellitus complications / J.P.Lopes, S.M.Oliveira, J.S.Fortunato // J.Acta Med. Port. – 2008. – Vol.21, №3. – P. 293-302.

**ЦЕРЕБРАЛЬНАЯ РЕАКЦИЯ СИСТЕМЫ
ЛИПОПЕРОКСИДАЦИЯ-АНТИОКСИДАНТНАЯ
ЗАЩИТА НА ДВУСТОРОННЮЮ КАРОТИДНУЮ
ИШЕМИЮ-РЕПЕРФУЗИЮ У КРЫС СО
СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ
САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

А. В. Ткачук

Резюме. Исследовано влияние двусторонней каротидной ишемии-реперфузии на состояние липопероксидации и антиоксидантной защиты в структурах головного мозга крыс со стрептозотоциновым сахарным диабетом. Установлено, что сахарный диабет снижает содержание в мозге продуктов липопероксидации и активность супероксиддисмутазы. Ишемически-реперфузионное повреждение головного мозга на фоне диабета практически не влияет на интенсивность перекисного окисления липидов, однако еще больше, чем сахарный диабет, угнетает активность антиоксидантных ферментов.

Ключевые слова: сахарный диабет, ишемия-реперфузия головного мозга, липопероксидация, антиоксидантная защита.

**CEREBRAL REACTION OF SYSTEM
OF LIPOPEROXIDATION-ANTIOXIDANT DEFENCE
TO THE BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-
REPERFUSION IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN-
INDUCED DIABETES**

O. V. Tkachuk

Abstracts. The influence of the bilateral carotid ischemia-reperfusion on the indices of lipid peroxidation and antioxidant protection of some brain structures of rats with streptozotocin-induced diabetes has been studied. It was ascertained that the diabetes decreases content of lipoperoxidation products and superoxidismutase activity in brain structures. Ischemic-reperfusion damage of the brain of rats with diabetes mellitus practically has not any effects on lipid peroxidation state, but more intensively than diabetes mellitus decreases activity of the antioxidant enzymes in all investigated structures.

Key words: diabetes mellitus, brain ischemia-reperfusion, lipid peroxidation, antioxidant enzymes.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2009.- Vol.8, №3.-P.105-108.

Надійшла до редакції 20.09.2009

Рецензент – проф. В. Ф. Мислицький

© О. В. Ткачук, 2009