

Т.І. Бойчук, С.С. Ткачук

Буковинський державний медичний  
університет, м. ЧернівціОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ СЕРДЕЧНО –  
СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У БОЛЬНЫХ С  
ОСТРОЙ ЭМПИЕМОЙ ПЛЕВРЫ**Ключові слова:** неповна  
глобальна ішемія мозку, гіпокампа,  
Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФаза, 5'-нуклеотидаза.**Резюме.** За показниками активності маркерних ферментів  
стану плазматичних мембран – Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази та  
5'-нуклеотидази – досліджено ранні зміни функціонального  
стану нейронів гіпокампа після ішемічно-реперфузійного  
пошкодження головного мозку в одно- та п'ятимісячних щурів.  
Неповна глобальна ішемія головного мозку знижує активність  
Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази в усіх досліджених полях гіпокампа тварин обох  
вікових груп, за винятком поля СА3 п'ятимісячних тварин, та  
підвищує активність 5'-нуклеотидази в усіх досліджених полях  
гіпокампа тварин обох вікових груп.**Вступ**

Ішемічне пошкодження мозку ініціює низку змін функціонального стану нейронів. Одними із ранніх маркерів реакції нейронів на ішемію-реперфузію є зміни активності ферментів їх плазматичної мембрани – Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази та 5'-нуклеотидази [2,3,4]. Існують літературні дані щодо вікових особливостей реакції мозку на неповну глобальну ішемію мозку в пізньому постішемічному періоді [9], однак рання церебральна реакція за названими показниками недосліджена. Проте саме вона може бути показником стану мембран нейронів у тому періоді ішемії мозку, протягом якого хворі найбільш часто надходять до стаціонару і може слугувати одним із критеріїв перебігу патологічного процесу та орієнтувати на відповідні терапевтичні заходи.

**МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ**

Вивчити стан активності Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази та 5'-нуклеотидази у тварин двох вікових груп після впливу неповної глобальної ішемії мозку.

**МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ**

Дослідження проведено на самцях щурів віком один та п'ять міс. У тварин дослідної групи моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом припинення кровотоку по загальних сонних артеріях протягом 20 хв [7]. Реперфузійний період тривав одну год. Усі втручання та забій тварин проводилися паралельно в дослідних та контрольних групах, із дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000).

Для вивчення активності Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази та 5'-нуклеотидази забирали поля гіпокампа СА1, СА2, СА3. В якості контролю використано аналогічні структури мозку щурів, у яких преларували сонні артерії, але кровотік по них не порушували. Активність Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази [КФ 3.6.1.3] визначали за методом [16], а 5'-нуклеотидази [КФ 3.1.3.5] – за методом [11] і обчислювали в мкмоль неорганічного фосфору (P<sub>i</sub>) за хв/мг білка.

Для ідентифікації структур гіпокампа користувалися атласом стереотаксичних координат для мозку щурів, що розвивається [17].

Статистичну обробку проводили за t-критерієм Стьюдента.

**ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Дослідження показали, що конститутивна активність Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази та 5'-нуклеотидази в різних полях гіпокампа досить варіабельна у тварин обох вікових груп. У той же час, відмінності активності ферментів у межах кожного поля одно- та п'ятимісячних щурів відсутні або несуттєві (табл.).

У щурів обох вікових груп неповна глобальна ішемія мозку знизила активність Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФази в усіх досліджених полях гіпокампа, за винятком поля СА3 п'ятимісячних тварин, де достовірних ефектів ішемії не спостерігалось (табл.). Найпомітнішим було падіння активності ферменту в полі СА1 п'ятимісячних щурів та полі СА2 одномісячних, а найменші зміни виявлено в полі СА3 одномісячних тварин.

Що стосується активності 5'-нуклеотидази, то за даного втручання вона зростала в полях СА1, СА2 та СА3 як одно-, так і п'ятимісячних щурів.

Найбільш суттєва активація цього ферменту відбулася в полі СА1 одномісячних щурів. Цікаво,

що в цьому ж відділі гіпокампа п'ятимісячних тварин приріст активності ферменту стосовно інших полів був найменшим.

Отримані результати свідчать, що неповна глобальна ішемія головного мозку вже на ранніх стадіях розвитку спричиняє суттєві зміни активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази та 5'-нуклеотидази.

Порушення активності мембранних ферментів за умов різних видів гіпоксії спостерігали інші автори [2,9]. Ці зміни пов'язують з багатьма причинами. У першу чергу, це виникнення енергодефіциту та ацидозу. За даними літератури, двобічна оклюзія сонних артерій ініціює порушення окиснювального фосфорилування та розвиток енергодефіциту. Вже через 15-30 хв після ішемії в структурах мозку значно порушується вміст глікогену, глюкози, пірувату, лактату креатинфосфату, АТФ, АДФ, АМФ, неорганічного фосфату й енергетичного заряду системи аденіннуклеотидів [3,4]. Через 1,5-2 год у великих півкулях мозку на 53% зменшувався вміст глікогену та на 44% зростає вміст глюкози. Значно збільшувався вміст лактату на тлі зниження пірувату. Відношення лактат/піруват зростало більш, ніж у 6 разів, що свідчить про різке посилення процесів анаеробного гліколізу. Вміст креатинфосфату в мозку щурів знижувався на 66%, АТФ -- на 32% при одночасному зростанні вмісту АДФ, АМФ й неорганічного фосфату, що свідчить про порушення енергетичного обміну та виникненням метаболіч-

ного ацидозу [5]. Разом із тим відомо, що навіть за нормальних умов нейрональна  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза споживає 15-40 % енергії клітини, спрямовуючи її на підтримання іонної асиметрії. Тому зрозуміло, що енергодефіцит, який виникає за умов ішемії, порушує активність даного ферменту.

Крім того, активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази регулюється катехоламінами, вміст яких у структурах мозку також негайно реагує на ішемічне втручання [8, 10,13].

Значною мірою на активність ферменту впливають гормони, зокрема такі, як мінералокортикоїди та інсулін, які є гормонами стресу і їх секреція за умов ішемії мозку зазнає суттєвих модифікацій [3].

Пригнічення активності ферменту може спричинити також надмірна активація глутаматних рецепторів, зокрема, mGluR3, у той час як рецептори mGluR1 мають протекторну властивість стосовно даного ферменту й запобігають його пригніченню [12,15]. Цілком зрозуміло, що співвідношення різних типів рецепторів у досліджених нами відділах гіпокампа може визначати їх чутливість до ішемії-реперфузії. Більше того, зниження активності  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази є чинником, який через порушення енергозалежних систем зворотного захвату глутамату посилює ішемічний "глутаматний каскад" [1,6,14].

Пригнічує активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази також надмірне утворення пероксинітриду, яким супроводжуються ішемічно-реперфузійні впливи [3,4].

Таблиця

**Активність  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази та 5'-нуклеотидази в полях гіпокампа щурів різного віку в ранньому періоді ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку ( $M \pm m$ ,  $n=9$ )**

Поле гіпокампа	Група тварин	Активність	
		АТФази (мкмоль Р <sub>i</sub> за хв / мг білка)	5'-нуклеотидази (мкмоль Р <sub>i</sub> за хв / мг білка)
CA1	1 місяць		
	Контроль	0,438 ± 0,021	0,677 ± 0,017
	Ішемія	0,337 ± 0,016*	0,977 ± 0,015*
	5 місяців		
	Контроль	0,439 ± 0,020	0,866 ± 0,018
	Ішемія	0,247 ± 0,016*	1,15 ± 0,011*
CA2	1 місяць		
	Контроль	0,315 ± 0,016	0,633 ± 0,013
	Ішемія	0,225 ± 0,017*	0,744 ± 0,014*
	5 місяців		
	Контроль	0,292 ± 0,015	0,632 ± 0,089
	Ішемія	0,236 ± 0,016*	0,754 ± 0,011*
CA3	1 місяць		
	Контроль	0,281 ± 0,013	0,588 ± 0,012
	Ішемія	0,247 ± 0,011*	0,932 ± 0,012*
	5 місяців		
	Контроль	0,326 ± 0,015	0,677 ± 0,012
	Ішемія	0,292 ± 0,017	0,721 ± 0,013*

Примітка: \* – вірогідність змін стосовно показників у контрольних щурів

**Висновки**

1. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку знижує активність  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  в усіх досліджених полях гіпокампа одно- та п'ятимісячних щурів за винятком поля СА3 п'ятимісячних тварин та підвищує активність 5'-нуклеотидази в усіх досліджених полях гіпокампа тварин обох вікових груп.

2. Ступінь реагування активності  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  та 5'-нуклеотидази різних полів гіпокампа суттєво відрізняється як у межах однієї вікової групи, так і в залежності від віку щурів.

**Перспективи подальших досліджень**

Враховуючи зміни активності  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  та 5'-нуклеотидази в ранньому ішемічно-реперфузійному періоді доцільно вивчити в досліджених полях гіпокампа експресію генів раннього реагування.

**Література.** 1. *Абрамець І.И.* Глутаматергические механизмы ишемических повреждений мозга (обзор литературы и собственных исследований) // И.И. Абрамець, И.В. Комиссаров // Журн. АМН України. – 2001. – Т.4, №4. – С. 613-633. 2. Активность маркерных ферментов клеточных мембран у крыс при адаптации к гипоксической гипоксии / И.Н. Маньковская, Г.Л. Вавилова, О.Н. Харламова [и др.] // Укр. биохим. журн. – 1997. – Т.69, №2. – С. 79-87. 3. *Гусев Е.И.* Ишемия головного мозга. – М.: Медицина, 2001. – 328 с. Е.И. Гусев, В.И. Скворцова, 4. *Зозуля Ю.А.* Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Знание, 2002. – 344 с. / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Сутковой, 5. *Лукьянова Л.Д.* Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2004. – №2. – С. 2-11. 6.  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обмен и регуляция цитоплазматической концентрации кальция в нейронах мозжечка крысы при действии глутамата / Т.П. Сторожеев, Е.Г. Соколина, А.В. Вабищ [и др.] // Биохимия. – 2007. – Т.72, №7. – С.923-933. 7. *Скибо Г.Г.* Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга // Г.Г. Скибо // Патология. – 2004. – Т.1, №1. – С. 22-30. 8. *Тимофійчук І.Р.* Постішемічна реорганізація катехоламінергічних систем лімбіко-гіпоталамічних структур мозку та її корекція емоксипіном у щурів різного віку / І.Р. Тимофійчук, В.П. Піпак, В.Ф. Мислицький // Клін. та експерим. патол. – 2005. – Т.1У, №2. – С.96-99. 9. *Шимків О.Д.* Вікові особливості впливу неповної глобальної ішемії мозку на активність маркерних ферментів клітинних мембран / О.Д. Шимків, С.С. Ткачук // Експерим. та клін. мед. – 2004. – Т.1, № 2. – С. 25-28. 10. Blockade of central histaminergic H2 receptors facilitates catecholaminergic metabolism and aggravates ischemic brain damage in the rat telencephalon / R. Otsuka, N. Adachi, G. Hamami [et al.] // Brain Res. – 2003. – Vol.974, №1-2. – P.117-126. 11. *Israelsson B., Tengrup I.* Changes in adenylate cyclase and 5'-nucleotidase activities in liver membranes from alloxan diabetic rats // B. Israelsson, I. Tengrup // B. Israelsson, I. Tengrup // Experimentia. – 1980. – Vol.36, N2. – P. 257-258. 12. LY393615, a novel neuronal  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Na}^+$  channel blocker with neuroprotective effects in models of in vitro and in vivo cerebral ischemia / K.S. Mathews, D.P. McLaughlin,

K.E. Patrick [et al.] // Elsev. Netherlands. – 2001. – №1. – P.138-149. 13. 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. 14. Neuronal hyperexcitability induced by reperfused brief episodes of hypoxia in rat hippocampal slices: involvement of ionotropic glutamate receptors and L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels / O. Godukhin, A. Savin, S. Kalemenev [et al.] // Neuropharmacol. – 2002. – Vol.42. – P.459-466. 15. *O'Neill M.J.* A new neuronal  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Na}^+$  channel blocker with neuroprotective effects / O'Neill M.J., Hicks C.A., Ward M.A. // Elsev. Netherlands. – 2001. – №1. – P.138-149. 16. *Robinson J.D.* Interaction between monovalent cations and the  $(\text{Na}^+ - \text{K}^+)$ -dependent adenosine triphosphatase / J.D. Robinson // Arch. Biochem. and Biophys. – 1970. – Vol. 139, N1. – P. 17-27. 17. *Sherwood N.M., Timiras P.S.* A stereotaxis atlas of the developing rat brain. – Berkeley-Los Angeles – London: University of California Press, 1970. – 208 p. Sherwood N.M., Timiras P.S.

**РАННИЕ ИЗМЕНЕНИЯ АКТИВНОСТИ  
МАРКЕРНЫХ ФЕРМЕНТОВ КЛЕТОЧНЫХ  
МЕМБРАН ПОСЛЕ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ  
ИШЕМИИ МОЗГА У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

*Т.И. Бойчук, С.С. Ткачук*

**Резюме.** По показателям активности маркерных ферментов состояния плазматических мембран –  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  и 5'-нуклеотидазы – исследованы ранние изменения функционального состояния нейронов гиппокампа после ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга в одно- и пятимесячных крыс. Неполная глобальная ишемия головного мозга уменьшает активность  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  во всех исследованных полях гиппокампа животных обоих возрастных групп, за исключением поля СА3 пятимесячных животных, и повышает активность 5'-нуклеотидазы во всех исследованных полях гиппокампа животных обоих возрастных групп

**Ключевые слова:** неполная глобальная ишемия мозга,  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ , 5'-нуклеотидаза, гиппокамп.

**EARLY CHANGES OF THE ACTIVITY OF  
ENZYMATIC MARKERS OF CELL MEMBRANES  
AFTER INCOMPLETE GLOBAL ISCHEMIA OF THE  
BRAIN IN ANIMALS OF DIFFERENT AGE**

*T.I. Bojchuk, S.S. Tkachuk*

**Abstract.** On the basis of parameters of enzymatic markers of cell membranes  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  and 5'-nucleotidase early changes of functionally state hippocampal neurons after ischemic-reperfusion brain damage in one and five month old rats has been established. The incomplete global brain ischemia decreases activity of  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$  in all hippocampal regions except hippocampal CA3 field five month old animals and increases 5'-nucleotidase activity in all hippocampal regions of animals of both age groups.

**Key words:** incomplete global brain ischemia,  $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ , 5'-nucleotidase, hippocamp.

**Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)**

*Clin. and experim. pathol. – 2008. – Vol.7, №3. – P. 27-29.  
Надійшла до редакції 05.08.2008*

Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький