

УДК 616.831-005.4:616.379-008.64]:577.1-019

О. М. ЛеньковБуковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ
ТА АНТИОКСИДАНТНИЙ ЗАХИСТ У КОРІ
ГОЛОВНОГО МОЗКУ І ГІПОКАМПИ
ЗА УМОВ ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ
ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ
ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ В САМЦІВ-ЩУРІВ****Ключові слова:** двобічна
каротидна ішемія-реперфузія,
цукровий діабет, стрептозотоцин,
перекисне окиснення ліпідів,
антиоксидантні ферменти.**Резюме.** Дослідження впливу двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету на показники прооксидантно-антиоксидантного стану виявило виснаження процесів ліпопероксидації та активності антиоксидантних ферментів в корі головного мозку і гіпокампі самців-щурів.**Вступ**

Актуальність проблеми обумовлена надзвичайним поширенням цукрового діабету (ЦД), серед ускладнень якого значне місце посідають ішемічний інсульт, гіпоглікемічні, кетоацидотичні та гіпоглікемічні коми [13, 14]. Усі ці стани супроводжуються неповною глобальною ішемією головного мозку з наступною реперфузією, яка додатково ускладнює порушення енергетики нейронів та глії [10], що призводить до посиленої генерації вільнорадикальних сполук, порушення цілісності мембран і стає причиною відстроченої загибелі нейронів [1, 5, 6]. У комплексі місцевих реакцій, які виникають у відповідь на ішемію-реперфузію, виняткову роль відіграє не лише реакція про- та антиоксидантної систем, але й взаємодія системи вільнорадикального окиснення та ферментів антиоксидантного захисту, яка визначає ступінь пошкодження клітини [2, 3, 6].

На сьогодні накопичено значний об'єм наукової інформації щодо показників оксидативного стресу при ішемічно-реперфузійних пошкодженнях мозку. Проте, аналізуючи літературу з даної проблеми, ми не знайшли даних стосовно таких порушень за умов цукрового діабету у філогенетично різних кіркових структурах, що підтверджує актуальність нашої роботи.

Мета і завдання

Дослідити вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії при цукровому діабеті на показники перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у корі головного мозку та окремих полях гіпокампа самців-щурів.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на 44 самцях білих нелінійних щурів чотирьох груп: контрольні тварини, щурі, яким виконано двобічну каротидну ішемію-реперфузію (ДКІР), щурі з ЦД і щурі з ЦД, яким виконано ДКІР.

ЦД моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного уведення стрептозотоцину (Sigma, Aldrich) у дозі 60 мг/кг самцям щурів віком 2 місяці. Тривалість діабету – три місяці. Для виконання ДКІР під внутрішньоочеревинним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) переднім середнім шийним доступом виділяли обидві загальні сонні артерії, які кліпсували на 20 хвилин, після чого кліпси знімали для реперфузії упродовж 1 години. Забій тварин здійснювали декапітацією під каліпсоловим наркозом. Після фіксації мозку в рідкому азоті, користуючись атласом стереотаксичних координат [15] забирали для дослідження кору лобової частки (КЛЧ) та поля СА1, СА2 і СА3 гіпокампа. У гомогенатах вказаних структур визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) [8], малонового альдегіду (МА) [11], активність супероксиддисмутази (СОД) [12], каталази (КТ) [7], глутатіопероксидази (ГПО) [4].

Отримані дані перевіряли на нормальність розподілу за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Вірогідність різниці між середньоарифметичними виборок оцінювали за t-критерієм Ст'юдента. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.

Обговорення результатів дослідження

Результати дослідження представлені в таблиці.

У КЛЧ тварин, яким виконана ДКІР, порівняно з контролем достовірно зросли вміст ДК (в 1,1 раза), МА (в 1,6 раза), активність ГПО (у 2 рази), одночасно зменшилась активність СОД (в 1,5 раза). У полі СА1 рівень МА зріс в 1,1 раза, активність СОД зменшилась у 2,3 раза. Досліджувані показники в полях СА2 та СА3 зазнали однакових змін: достовірне збільшення вмісту МА та активності КТ, зменшення активності СОД. У полі СА2 ці показники змінилися в 1,1, 2,1 та 1,4 раза відповідно, а в полі СА3 – в 1,1, 2,2 та 1,3 раза відповідно. Загалом, реакція зазначених структур на ішемію-реперфузію з переважанням змін у системі антиоксидантних ферментів є подібною до описаної іншими авторами [9]. Найбільш інтенсивні зміни ПОЛ та активності антиоксидантних ферментів відбуваються в КЛЧ.

Структури гіпокампа реагують практично однаково в якісному та кількісному відношенні.

У тварин із тримісячним ЦД порівняно з контролем виявлені такі зміни. В КЛЧ знизився рівень ДК в 1,7 раза та активність СОД у 5,3 раза, активність КТ зросла в 1,7 раза. У полі СА1 зменшився вміст ДК, МА та активність СОД у 2 рази, 1,4 та 7,6 раза відповідно. Подібних змін зазнали ці показники в полі СА2 – зниження в 1,9, 1,4 та 5,8 раза відповідно, але в цій ділянці також зросла в 1,3 раза активність КТ. Зміни показників у полі СА3 подібні до таких у полі СА1: рівень ДК знизився у 2,2 раза, МА – в 1,5 раза, СОД – у 5,8 раза. Таким чином, за умов ЦД порівняно з контролем відбувається деяке зниження показників ДК і МА, виражене пригнічення активності СОД, а також незначне зростання КТ (за винятком поля СА1), що свідчить про зниження рівня функціонування прооксидантно-антиоксидантної системи.

Таблиця

Вплив ішемії-реперфузії на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів в корі лобової частки та різних зонах гіпокампа самців-щурів за умов цукрового діабету

(M±m, n=11)

| | Група спостереження | ДК (нмоль/мг білка) | МА (нмоль/мг білка) | СОД (од/хв мг білка) | КТ (мкмоль/мг білка) | ГПО (нмольG-SH хв мг білка) |
|---------------------|-----------------------------|---|--------------------------------------|------------------------------------|---|---|
| Кора лобової частки | Контроль | 2,39±0,08 | 0,452±0,013 | 33,6±0,8 | 2,20±0,37 | 0,453±0,088 |
| | Ішемія-реперфузія | 2,64±0,07 p ₁ <0,05 | 0,619±0,027 p ₁ <0,001 | 22,8±0,6 p ₁ <0,001 | 3,53±0,13 p ₁ <0,005 | 0,900±0,085 p ₁ <0,005 |
| | Діабет | 1,39±0,09 p ₁ <0,001 | 0,443±0,027 | 6,33±0,50 p ₁ <0,001 | 3,71±0,29 p ₁ <0,005 | 0,446±0,011 |
| | Діабет та ішемія-реперфузія | 1,54±0,12 p ₂ <0,001 | 0,360±0,030 p ₂ <0,001 | 5,36±0,35 p ₂ <0,001 | 1,51±0,14 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 | 0,292±0,018 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 |
| Поле СА1 | Контроль | 2,79±0,08 | 0,610±0,011 | 41,2±1,2 | 2,69±0,64 | 0,659±0,170 |
| | Ішемія-реперфузія | 2,72±0,11 | 0,666±0,020 p ₁ <0,05 | 17,9±0,6 p ₁ <0,001 | 2,91±0,07 | 0,887±0,100 |
| | Діабет | 1,40±0,10 p ₁ <0,001 | 0,436±0,027 p ₁ <0,001 | 5,44±0,35 p ₁ <0,001 | 3,45±0,35 | 0,426±0,042 |
| | Діабет та ішемія-реперфузія | 1,85±0,20 p ₂ <0,005 | 0,447±0,053 p ₂ <0,005 | 7,52±1,14 p ₂ <0,001 | 1,91±0,19 p ₂ <0,001 p ₃ <0,005 | 0,393±0,051 p ₂ <0,001 |
| Поле СА2 | Контроль | 2,53±0,09 | 0,576±0,012 | 37,3±1,1 | 2,31±0,05 | 0,633±0,159 |
| | Ішемія-реперфузія | 2,53±0,10 | 0,641±0,020 p ₁ <0,05 | 17,5±0,4 p ₁ <0,001 | 3,14±0,16 p ₁ <0,001 | 0,904±0,088 |
| | Діабет | 1,35±0,10 p ₁ <0,001 | 0,411±0,028 p ₁ <0,001 | 6,43±0,36 p ₁ <0,001 | 3,04±0,27 p ₁ <0,025 | 0,404±0,036 |
| | Діабет та ішемія-реперфузія | 1,93±0,28 | 0,417±0,060 p ₂ <0,005 | 5,84±0,81 p ₂ <0,001 | 1,52±0,18 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 | 0,366±0,048 p ₂ <0,001 |
| Поле СА3 | Контроль | 2,76±0,07 | 0,615±0,015 | 38,4±0,6 | 2,85±0,08 | 0,648±0,165 |
| | Ішемія-реперфузія | 2,94±0,08 | 0,693±0,014 p ₁ <0,005 | 17,9±0,7 p ₁ <0,001 | 3,60±0,09 p ₁ <0,001 | 0,867±0,083 |
| | Діабет | 1,24±0,08 p ₁ <0,001 | 0,403±0,014 p ₁ <0,001 | 6,63±0,54 p ₁ <0,001 | 3,13±0,31 | 0,385±0,016 |
| | Діабет та ішемія-реперфузія | 1,90±0,12 p ₂ <0,001 p ₃ <0,001 | 0,459±0,030 p ₂ <0,001 | 5,37±0,44 p ₂ <0,001 | 2,00±0,25 p ₂ <0,001 p ₃ <0,05 | 0,317±0,023 p ₂ <0,001 p ₃ <0,05 |

Примітка. вірогідність різниці порівняно з: p₁ – контролем, p₂ – ішемією-реперфузією, p₃ – діабетом

У групі тварин із тримісячним ЦД, яким виконано ДКІР, порівняно з групою тримісячного діабету зміни торкаються головним чином КТ та ГПО. Їх рівні у КЛЧ знижені у 2,7 та 1,5 раза відповідно. У СА1 та СА2 полях гіпокампа достовірно змінився лише показник КТ – він знизився в 1,8 раза та 2 рази відповідно. У полі СА3 вміст ДК збільшився в 1,5 раза, активність КТ зменшилась в 1,6 раза, ГПО – в 1,2 раза. Отже, при такому порівнянні стає помітним зниження активності КТ в усіх структурах та ГПО в КЛЧ та полі СА3. У сукупності ці дані свідчать про перебування прооксидантно-антиоксидантної системи на нижчому функціональному рівні. Це дістає подальше підтвердження у тому, що при порівнянні змін у групах тварин, яким виконані ДКІР на тлі ЦД та ДКІР без ЦД, показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту першої в усіх досліджуваних структурах є вірогідно нижчими.

Таким чином, на відміну від впливу ДКІР без ЦД, за умов ДКІР на тлі ЦД показники перекисного окиснення ліпідів практично не змінюються, але знижується активність КТ і ГПО, що свідчить про виснаження всіх компонентів ПОЛ та антиоксидантних ферментів.

Висновки

1. Усі структури головного мозку, що вивчалися, реагували на цукровий діабет та двобічну каротидну ішемію-реперфузію односпрямовано.

2. За умов тримісячного цукрового діабету в корі лобової частки та різних полях гіпокампа відбувається деяке зниження вмісту продуктів ліпопероксидації, помірне зростання активності каталази та виражене пригнічення активності супероксиддисмутази.

3. Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі тримісячного цукрового діабету викликає пригнічення активності всіх антиоксидантних ферментів без змін у системі перекисного окиснення ліпідів, що свідчить про виснаження цих процесів і перехід прооксидантно-антиоксидантної системи на нижчий функціональний рівень.

Перспективи подальших досліджень

Результати свідчать про перспективність досліджень інших механізмів ішемічно-реперфузійних пошкоджень структур мозку на тлі цукрового діабету, знання яких може стати основою їх патогенетичної корекції.

Література. 1. *Абрамец І.І.* Глутаматергические механизмы ишемических повреждений мозга (обзор литературы и собственных исследований) // И.И.Абрамец., И.В.Комиссаров / Журн. АМН України. – 2001. – Т.4, №4. – С. 613-633. 2. *Бархатова В.П.* Основные направления нейропротекции при ишемии мозга / В.П.Бархатова, З.А.Суслина // Неврол. журн. – 2002. – №4. – С. 42 –50. 3. *Болдырев А.А.* Роль активных форм кислорода в жизнедеятельности нейрона / А.А.Болдырев

// Успехи физиологических наук. – 2003. – Т.34, №3. – С. 21-34. 4. *Геруш І.В.* Стан глутатіонової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастродуоденальної зони та дії настійки ехінацеї пурпурової / І.В.Геруш, І.Ф.Мещипен // Вісник проблем біол. та мед. – 1998. – №7. – С. 10-15. 5. *Гусев Е.И.* Ишемия головного мозга / Е.И.Гусев, В.И.Скворцова. – М.: Медицина, 2001. – 328 с. 6. *Зозуля Ю.А.* Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А.Зозуля, В.А.Барабой, Д.А.Сутковой. – М.: Знание, 2002. – 344 с. 7. *Королюк М.А.* Метод определения активности каталазы / М.А.Королюк., Л.И.Иванова, И.Г.Майорова, В.Е.Токарев // Лабор. дело. 1988. – №1. – С. 16-18. 8. *Костюк В.А.* Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов / В.А.Костюк, А.И.Потапович, Е.Ф.Лунец // Вопр. мед. химии. — 1984. — №4. — С. 125-127. 9. *Реутов В.П.* Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала / В.П.Реутов // Вестник РАМН. – 2000. – №4. – С. 35-41. 10. *Скибо Г.Г.* Залежність ступеню пошкодження нейронів гіпокампу від тривалості ішемії мозку та постішемичного періоду / Г.Г.Скибо, Т.М.Коваленко, І.О.Осадченко, О.В.Гірник // Запорізький мед. журн. – 2002. – Т.13, № 3. – С.21-22. 11. *Стальная И.Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д.Стальная, Т.Г.Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68. 12. *Чевари С.* Роль супероксиддисмутази в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С.Чевари, И.Чаба, И.Секей // Лабор. дело. – 1985. – №11. – С.678-681. 13. *Goycheva P.* Oxidative stress and its complications in diabetes mellitus / P.Goycheva, V.Gadjeva, B.Popov // Trakia Journal of Sciences. – 2006. – Vol.4, №1. – P.1-8. 14. *Joslin's Diabetes Mellitus* / [C.R. Kahn, C.W.Gordon, L.K.George, A.M.Jacobson, A.C.Moses, R.J.Smith]. – [14th ed.]. – Philadelphia.: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 1224p. 15. *Sherwood N.M.* A stereotaxis atlas of the developing rat brain / N.M.Sherwood, P.S.Timiras. – Berkeley – Los Angeles – London: University of California Press, 1970. – 208 p.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНАЯ ЗАЩИТА В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ГИПОКАМПЕ В УСЛОВИЯХ ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ У САМЦОВ КРЫС

А. М. Ленков

Резюме. Исследование влияния двусторонней каротидной ишемии-реперфузии на фоне сахарного диабета на показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния выявило истощение процессов липопероксидации и активности антиоксидантных ферментов в коре головного мозга и гиппокампе самцов крыс.

Ключевые слова: двусторонняя каротидная ишемия-реперфузия, сахарный диабет, стрептозоточин, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты.

LIPOPEROXIDATION AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN BRAIN CORTEX AND HIPPOCAMPUS UNDER COMBINED INFLUENCE OF BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION AND EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS IN MALE RATS

А. М. Lenkov

Abstract. Research of the combined influence of bilateral carotid ischemia-reperfusion and diabetes mellitus on the prooxidant-antioxidant state indices has shown exhaustion of lipoperoxidation processes and antioxidant enzymes activity in brain cortex and hippocampus of male rats.

Key words: bilateral carotid ischemia-reperfusion, diabetes mellitus, streptozotocin, lipoperoxidation, antioxidant enzymes.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

*Clin. and experim. pathol. – 2009. – Vol.8, №2. – P.44-46.
Надійшла до редакції 26.05.2009*

Рецензент – проф. В. Ф. Мислицький