

УДК 615.21:616:831-005.4

А.С. Супрун<sup>1</sup>,  
И.Ф. Беленичев<sup>2</sup>,  
Э.В. Супрун<sup>1</sup>

1-Национальный фармацевтический университет, г. Харьков  
2-Запорожский медицинский университет, г. Запорожье

## СООТНОШЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА, ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В КЛЕТКАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА КРЫС НА ФОНЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

**Ключевые слова:** интерлейкин-1, IL-1ra, экспериментальный сахарный диабет, глутатион.

**Резюме.** На модели аллоксанового диабета у крыс изучено влияние тиоцетамидов и рецепторного антагониста интерлейкина-1 (РАИЛ-1) (7,5 мг/кг) на показатели системы глутатиона, энергетического метаболизма и окислительной модификации белков (ОМБ). Установлено, что развитие гипергликемии у экспериментальных животных сопровождалось дестабилизацией системы глутатиона (повышением уровней окисленных форм глутатиона и на фоне резкого снижения его восстановленных форм и активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы), энергетическим дефицитом и повышением уровней маркеров ОМБ - АФГ и КФГ. Доказано, что курсовое введение тиоцетамидов и РАИЛ-1 способствовало нормализации активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, стабилизации уровней макроэргических фосфатов (АТФ, АДФ, АМФ) и показателей ОМБ, максимальная активность отмечена у РАИЛ-1.

### Вступление

Последние годы глобальной медико-социальной проблемой является сахарный диабет (СД), который входит в число 7 главных причин смертности населения в большинстве стран мира и занимает третье место среди непосредственных причин смерти после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний [1]. Специалисты отмечают также неуклонный рост распространенности СД - в Украине за последние 10 лет количество больных сахарным диабетом увеличилось более чем в 1,5 раза и составляет около 1 млн. человек, поэтому решение проблем терапии СД поставлено на уровень государственных задач [2]. В настоящее время во всем мире накоплены доказательства того, что эффективный контроль диабета может свести к минимуму развитие многих связанных с ним осложнений, в том числе неврологических, которые и определяют продолжительность жизни больного и его работоспособность (энцефалопатии, дистальные невропатии, преходящие нарушения мозгового кровообращения, инсульт). Относительный риск развития инсульта у лиц с СД 2 типа в 1,8-6 раз выше по сравнению с лицами без СД [3].

Высокая частота осложнений СД обусловлена нарушениями тканевого метаболизма с масштабным повреждением микрокапиллярного русла органов, что приводит к формированию мультиорганной патологии. При этом на фоне типичных нарушений микроциркуляции происходит пост-ишемическое повреждение ткани мозга - развивается энергетический дефицит, формируется глутамат-кальциевый каскад с чрезмерным внутриклеточным накоплением ионов Ca<sup>2+</sup> и явлениями эксайтотоксичности, лактацидозом и отеком мозга, развитие оксидативного стресса и гибель клеток путем некроза или апоптоза [4]. Оксидативный стресс характеризуется интенсификацией процессов свободно-радикального окисления на фоне снижения активности системы антиоксидантной системы (в том числе ферментативной глутатионпероксидазной/глутатионредуктазной (ГП/ГР) системы), при этом АФК "атакуют" белки, липиды и нуклеиновые кислоты клеток и вызывают их окислительную модификацию. Поэтому главной задачей эффективной терапии СД является блокирование взаимообусловленных механизмов прогрессирования СД - сосудистых, метаболических и феномена оксидативного

стресса, в связи с чем все большее внимание уделяется препаратам с антиоксидантным действием.

К веществам, обеспечивающим в очаге ишемии/гипоксии как повреждающее действие, так и систему жизнеспособности клеток, относятся цитокины - трансмиттеры межклеточного взаимодействия в норме и при патологии, которые формируют сеть коммуникативных сигналов между клетками иммунной системы и клетками других органов и тканей. По современным представлениям, характер иммунного ответа и особенности развития патофизиологических изменений при ишемически/гипоксических тканевых расстройствах зависит от преимущественной активации субпопуляций Т-лимфоцитов, синтеза ими цитокинов различных типов и формирования "цитокинового каскада", а именно соотношения провоспалительных и противовоспалительных цитокинов [5]. Следовательно, эффективным перспективным звеном в комплексной терапии неврологических осложнений при СД может стать применение цитокиновых препаратов.

#### **Цель исследования**

Изучение динамики показателей ГП/ГР системы, энергетического метаболизма и ОМБ в тканях головного мозга крыс с экспериментальным СД при применении церебропротектора метаболического действия тиоцетама и цитокинового препарата - рекомбинантного рецепторного антагониста интерлейкина-1 (IL-1ra).

#### **Материалы и методы**

Рецепторный антагонист интерлейкина-1 (РАИЛ-1) получен в Санкт-Петербургском НИИ особо чистых биопрепаратов путем генной трансформации бактерий *E.coli*. Исследования проводились на 40 белых крысах линии Вистар массой 250-300г, содержащихся в стандартных условиях вивария и распределенных на 4 группы по десять животных в каждой. Первая группа - интактные животные, вторая - животные с экспериментальным сахарным диабетом (СД, контроль), третья - животные с СД, которым вводили тиоцетам в дозе 500 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки (группа СД+Тиоцетам); четвертая - животные с СД, которым вводили РАИЛ-1 в дозе 7,5 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки (группа СД+РАИЛ-1). Животным первой и второй групп на протяжении исследования в соответствующем объеме внутримышечно вводили стерильный физиологический раствор. Экспериментальный диабет моделировали с

помощью однократного подкожного введения водного раствора аллоксана моногидрата (Sigma, США) в дозе 150 мг/кг в виде 5% раствора в ацетатном буфере, pH 4,5. Введение данного вещества осуществляли после предварительной 24-часовой депривации пищи, при сохраненном доступе к воде. С целью формирования полного и стабильного диабета, животных содержали на протяжении 11 суток на стандартной диете. Уровень глюкозы крови определялся на 11 сутки после введения аллоксана с помощью глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для последующих исследований использованы только животные с повышенным уровнем глюкозы (>11 ммоль/л). Материалом для биохимических исследований явились фрагменты ткани головного мозга, находящиеся в области средне-мозговой артерии и гомогенизированные в жидком азоте. Цитозольную фракцию выделяли методом дифференциального центрифугирования (15000 g) при температуре +4°C на 0,15 М фосфатном буфере pH 7,8. Безбелковый экстракт получали добавлением точного количества гомогената ткани мозга в хлорную кислоту (0,6 М) с последующей нейтрализацией 5,0 М калия карбонатом. Для изучения активности системы глутатиона в гомогенате головного мозга крыс определяли уровни восстановленного и окисленного глутатиона, активность глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР). Концентрацию глутатиона окисленного и восстановленного определяли флуорометрически [6]. Активность ГП и ГР определяли спектрофотометрически [7]. Также в гомогенате мозга биохимическими методами определяли содержание продуктов окислительной модификации белка по уровню альдегидных (АФГ) и карбоксильных (КФГ) продуктов [8]. Для оценки процессов углеводно-энергетического обмена и окисления в цикле Кребса в гомогенате мозга определяли уровень адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ, АМФ), а также пируват, лактат, малат [9]. Статистическую обработку данных производили с помощью пакета программы "Statistica 6.0", сравнительный анализ в группах проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с использованием критерия Ньюмена-Кейсла для множественных сравнений. Статистически значимыми считали отличия при  $p < 0,05$ .

#### **Обсуждение результатов исследования**

В результате проведенных нами исследований при формировании аллоксанового диабета было установлено нарушение системы глутатиона -

энзимов ГП и ГР и окисленно-восстановленных форм глутатиона (табл.1).

У животных с СД отмечена выраженная диспропорция - повышение относительно контрольных показателей уровней окисленных форм глутатиона в 2,7 раза ( $p < 0,001$ ) на фоне резкого

снижения восстановленных форм глутатиона, что подтверждает формирование выраженных нарушений внутриклеточного пула глутатиона. В гомогенате мозга экспериментальных животных развитие СД сопровождалось также стабильным снижением активности энзимов тиол-дисуль-

**Таблица 1**  
**Суммарные показатели окисленных (GSSG) и восстановленных (GSH) форм глутатиона и содержание альдегидных (АФГ) и карбоксильных (КФГ) продуктов в тканях головного мозга крыс с аллоксановым диабетом ( $M \pm m$ )**

Группа животных	GSSG, мМ/г/белка	GSH, мМ/г/белка	АФГ, у.е./г/белка	КФГ, у.е./г/белка
Интакт	0,27±0,05	4,49±0,91	1,49±0,16	1,01±0,09
СД	0,75±0,15	0,56±0,1	3,44±0,49	2,26±0,15
СД+Тиоцетам	0,46±0,14	0,71±0,11	2,48±0,22	1,44±0,23
СД+РАИЛ-1	0,33±0,04	3,17±0,29	1,67±0,22	0,98±0,18
	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} > 0,05$ $P_{2-3} > 0,05$ $P_{2-4} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,001$	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} < 0,001$ $P_{2-3} < 0,001$ $P_{2-4} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,01$	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} > 0,05$ $P_{2-3} < 0,001$ $P_{2-4} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,001$	$P_{1-2} < 0,001$ $P_{1-3} < 0,001$ $P_{1-4} > 0,05$ $P_{2-3} < 0,001$ $P_{2-4} < 0,001$ $P_{3-4} < 0,001$

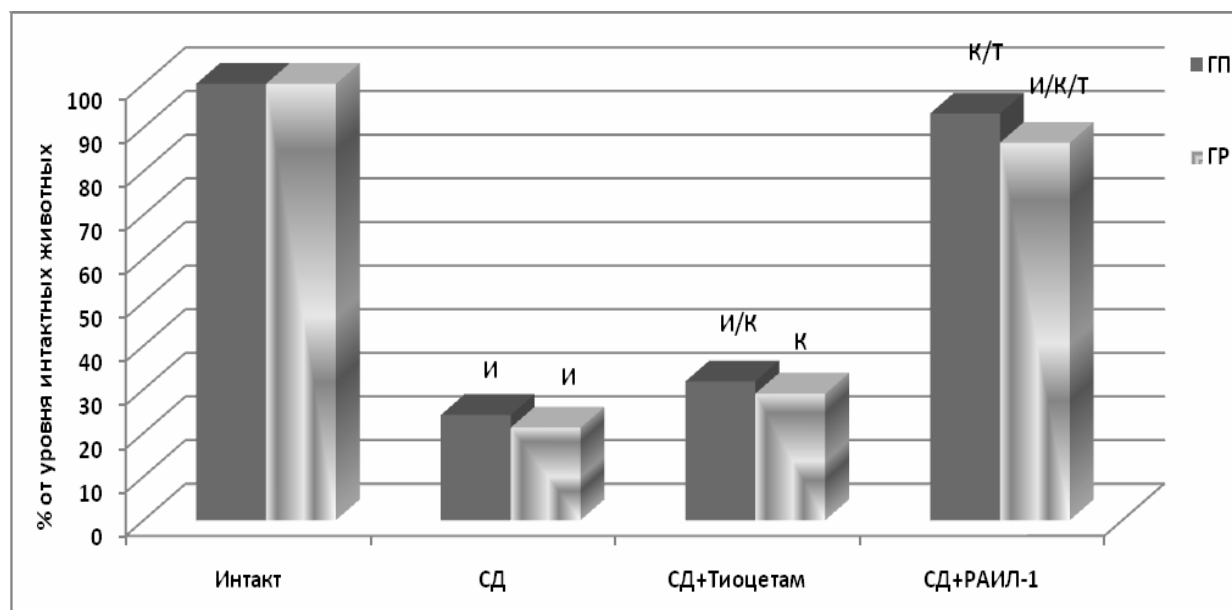
Примечание: здесь и в таблице 2 – <sub>1</sub>Интакт – интактные крысы; <sub>2</sub>СД – сахарный диабет; <sub>3</sub>СД+ Тиоцетам – сахарный диабет + Тиоцетам; СД+РАИЛ-1 – сахарный диабет + РАИЛ-1.

фидной системы - ГП на 76% ( $p < 0,001$ ) и ГР на 79% ( $p < 0,001$ ) по сравнению с группой интактных животных (рис.).

Ишемическое поражение ткани головного мозга экспериментальных животных с экспериментальным СД сопровождалось также увеличением в гомогенате мозга маркеров ОМБ, кото-

рые образуются в условиях оксидативного и нитрозирующего стресса - альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетонфенилгидразонов (КФГ) - в 2,2 и 2,3 раза соответственно (табл.1).

Развитие аллоксанового диабета и формирование ангиопатий с постгипоксическими изменениями тканей привело к дисбалансу пула



**Рис. Активность глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) в тканях головного мозга крыс с СД.**

Примечание к рис.1-2: Интакт - интактные крысы; СД - сахарный диабет; СД+Тиоцетам - сахарный диабет + Тиоцетам; СД+РАИЛ-1 - сахарный диабет + РАИЛ-1. Статистически достоверные отличия ( $p < 0,05$ ) относительно интактных крыс отмечены знаками "И", относительно крыс с сахарным диабетом - знаками "К", относительно крыс группы СД+Тиоцетам - знаками "Г".

макроергических фосфатов в ткани мозга контрольных животных (табл.2).

Отмечено значительное снижение уровней АТФ и АДФ - соответственно на 70% и 71%. Уровень АМФ в контрольной группе достоверно отличался от уровней интактных животных - был выше на 89%, что адекватно снижению в эти периоды АТФ и, возможно, отражает его усиленный распад на фоне ишемического повре-

ждения. Следует отметить, что АМФ является активным прооксидантом, поэтому рост его количеств дополнительно усиливает агрессивные последствия оксидантного стресса в постишемической зоне.

Изучение показателей углеводного обмена (табл.2) подтверждает развитие в условиях экспериментального СД декомпенсированного ацидоза в ткани мозга - повышение лактата в 2,8

**Таблица 2**  
**Показатели энергетического метаболизма (АТФ, АДФ, АМФ) и углеводного обмена (малат, лактат, пируват) в тканях головного мозга крыс с аллоксановым диабетом (M ± m)**

Группа животных	АТФ, мкмоль/г ткани	АДФ, мкмоль/г ткани	АМФ, мкмоль/г ткани	Лактат, мкмоль/г ткани	Малат, мкмоль/г ткани	Пируват, мкмоль/г ткани
Интакт	3,62±0,17	0,43±0,01	0,10±0,02	2,42±0,09	0,75±0,08	0,19±0,06
СД	1,09±0,15	0,13±0,05	0,19±0,06	6,86±1,02	0,26±0,07	0,07±0,02
СД+Тиоцетам	1,77±0,31	0,16±0,07	0,13±0,02	6,19±0,42	0,43±0,09	0,09±0,01
СД+РАИЛ-1	3,25±0,39	0,37±0,005	0,09±0,01	2,89±0,43	0,64±0,09	0,16±0,07
	P <sub>1-2</sub> <0,001 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-4</sub> <0,05 P <sub>2-3</sub> <0,001 P <sub>2-4</sub> <0,001 P <sub>3-4</sub> <0,001	P <sub>1-2</sub> <0,001 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-4</sub> <0,01 P <sub>2-3</sub> >0,05 P <sub>2-4</sub> <0,001 P <sub>3-4</sub> <0,001	P <sub>1-2</sub> <0,001 P <sub>1-3</sub> <0,01 P <sub>1-4</sub> >0,05 P <sub>2-3</sub> <0,01 P <sub>2-4</sub> <0,001 P <sub>3-4</sub> <0,001	P <sub>1-2</sub> <0,001 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-4</sub> >0,05 P <sub>2-3</sub> <0,05 P <sub>2-4</sub> <0,001 P <sub>3-4</sub> <0,001	P <sub>1-2</sub> <0,001 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-4</sub> <0,01 P <sub>2-3</sub> <0,001 P <sub>2-4</sub> <0,001 P <sub>3-4</sub> <0,001	P <sub>1-2</sub> <0,001 P <sub>1-3</sub> <0,001 P <sub>1-4</sub> >0,05 P <sub>2-3</sub> >0,05 P <sub>2-4</sub> <0,001 P <sub>3-4</sub> <0,001

раза на фоне снижения содержания малата и пирувата соответственно на 66% и 62%.

В условиях экспериментальной терапии были получены следующие результаты влияния тиоцетама и РАИЛ-1 на изученные показатели (табл. 1-2, рис.1). На фоне введения Тиоцетама у экспериментальных животных отмечено ингибирование образования окисленных форм глутатиона на 39% на фоне увеличения его восстановленных форм на 27% и повышения активности ГР и ГП на 32-37% относительно контрольных показателей. Применение тиоцетама привело также к достоверному относительно контроля снижению маркеров ОМБ, особенно КФГ (на 36%). В группе Тиоцетама относительно контрольной группы отмечена стабилизация энергетических показателей тканей мозга экспериментальных животных - снизились показатели АМФ на 31%, повысились уровни АТФ и АДФ соответственно на 61% на 31%, однако сохранились достоверные отличия этих показателей от интактных. Выраженность ацидоза в тканях мозга крыс с СД на фоне применения тиоцетама уменьшилась - отмечено достоверное повышение уровней малата на 67% и снижение содержания лактата.

Введение РАИЛ-1 животным с СД оказало наиболее выраженное влияние на состояние сис-

темы глутатиона - уровни окисленных форм глутатиона снизились в 2 раза по сравнению с контрольными. При этом активно повышаются уровни восстановленных форм глутатиона и восстанавливается активность энзимов ГР/ГП системы - повышается почти в 4 раза (p<0,001) и превышает эффект тиоцетама практически в 3 раза. Курсовое введение РАИЛ-1 способствовало стабилизации окислительной модификации белков и снижению их маркеров в ткани головного мозга более чем в 2 раза (p<0,001), при этом показатель КФГ практически достиг показателей интактных животных. Применение РАИЛ-1 при постишемическом повреждении ткани мозга при АСД на фоне выраженного снижения АМФ (на 53%) привело к стабильному повышению относительно контрольной группы уровней АТФ и АДФ в 3 раза. Очевидно, применение РАИЛ-1 привело к увеличению синтеза АТФ за счет аэробного и анаэробного путей окисления, о чем свидетельствует повышение уровней малата и пирувата более чем в 2 раза, содержание лактата при этом снижается на 58% от уровня контрольных животных. Влияние РАИЛ-1 на большинство показателей углеводно-энергетического обмена достоверно превышает активность тиоцетама.

Таким образом, при ишемическом поражении ткани мозга на модели аллоксан-индуцированного диабета сдвиг равновесия системы глутатиона происходит за счет снижения активности ГР и ГП и уровней восстановленного глутатиона на фоне значительного роста его окисленных форм, что сопровождается дисбалансом энергетического метаболизма и выраженными процессами окислительной модификации белков. Подобные патобиохимические изменения приводят к существенным функциональным изменениям в клетках и часто являются необратимыми.

Основной причиной метаболических изменений при СД является абсолютный или относительный недостаток инсулина, который в физиологических условиях обеспечивает метаболические внутри- и внеклеточные процессы. При СД дефицит инсулина приводит к нарушениям обмена углеводов, жиров и белков, провоцирует гипергликемию, инсулинорезистентность и энергодефицит, активацию синтеза активных форм кислорода (АФК), свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов, т.е. формирует патофизиологическую картину оксидантного стресса. Гиперпродукция АФК (супероксид-радикала, гидроксил-радикала, NO-радикала, а впоследствии и пероксинитрита (ONOO-)) играет ключевую роль в развитии оксидативного и нитрозирующего стресса, вызывает повреждение макромолекул. Повышение уровней АФК стимулирует синтез транскрипционного фактора, индуцируемого при гипоксии (HIF), активацию HIF-1-зависимых генов, синтез провоспалительных цитокинов (в том числе IL-1) и формирует порочный круг вторичных повреждений [10].

При ишемии первичными источниками АФК являются митохондрии. В начальном участке их дыхательной цепи в дополнительных ("паразитарных") реакциях образуются супероксид и пероксинитрит, которые инициируют окислительную модификацию митохондриальных белков. Также митохондрия нейронов является важным источником оксида азота (NO), который образуется путем окисления терминальной гуанидиновой группы L-аргинина при участии NO-синтазы (NOS). Метаболизм оксида азота (NO) является важным процессом адаптации тканей головного мозга к гипоксии. При гипоксии мозга на фоне перевозбужденных глутаматных NMDA-рецепторов активация Ca<sup>2+</sup>-зависимой кальмодулинкиназы активирует нейрональную NOS (nNOS), и в течение нескольких секунд синтез оксида азота резко повышается. Кроме того,

продуцируемый в ответ на гипоксию IL-1 экспрессирует в глиальных клетках индуцибельную NOS (iNOS), что ведет к гиперпродукции NO и токсическим эффектам его избыточных количеств [11]. Установлено наличие локализованной во внутренней мембране конститутивной формы митохондриальной NO-синтазы (mNOS), которая способна продуцировать супероксид уже при субоптимальных концентрациях L-аргинина. При ишемии mNOS активируется в ответ на развитие глутаматной эксайтотоксичности, поглощения митохондриями кальция и продукцию провоспалительных цитокинов. Образуется пероксинитрит, который способствует открытию неселективной гигантской поры митохондрий, нитрозилирует в митохондриях цитохром C, что приводит к изменению его функций - способности поддерживать перенос электронов в дыхательной цепи и восстанавливаться аскорбатом [12].

Сформировавшаяся в результате дефицита кислорода дисфункция митохондриального аппарата выражается в последовательных фазных изменениях активности митохондриальных ферментных комплексов, что приводит к блокированию ионного транспорта, генерации и проведения импульса, нарушению процессов трансляции и транскрипции, активизации "паразитарных" энергопродуцирующих реакций и подавлению аэробного синтеза энергии, значимой потере энергетических запасов нейрональной клетки и энергозависимых функций и метаболизма клеток, то есть к биоэнергетической гипоксии. Митохондриальная дисфункция является базисным механизмом энергетических нарушений и коррелирует с фазными изменениями в содержании адениловых нуклеотидов (АТФ, АДФ и АМФ), что приводит к формированию постгипоксического метаболического дисбаланса и опережает изменения других функционально-метаболических показателей жизнедеятельности клетки [13]. Изменения в пуле макроэргов предшествуют изменениям других функционально-метаболических показателей жизнедеятельности клетки. В период стадии энергетических нарушений происходит увеличение проницаемости мембран и активация свободнорадикальных процессов, в том числе усиление процессов ПОЛ и ОМБ, а также гиперпродукция оксида азота и нарушения углеводного обмена. Снижение при тканевой гипоксии образования АТФ в цикле Кребса приводит к компенсаторной активации альтернативных путей образования энергоемких фосфатов, в том числе анаэробного гликолиза. При этом усиливается образование

лактата и ионов водорода, что приводит к развитию метаболического ацидоза и играет важную роль в дальнейшем повреждении ткани головного мозга, т.е. в переходе от избирательного некроза нейронов к формированию инфаркта мозга. При этом внутриклеточный ацидоз угнетает метаболические реакции и ионный транспорт, что приводит к дальнейшему накоплению ионов  $Ca^{2+}$  и дополнительной активации  $Ca^{2+}$ -зависимых патогенетических механизмов постишемической агрессии - углублению оксидативного стресса, синтезу чрезмерных количеств NO и активации внутриклеточных ферментов. Таким образом, ацидоз оказывает непосредственное цитотоксическое действие. Кроме того, ацидоз изменяет свойства мембран, вызывает их "рыхлость", что повышает проницаемость эндотелия и нейронов. Это приводит к повышению внутриклеточного осмотического давления, набуханию клеток и сдавлению ими окружающих тканей и микроциркуляторного русла, что также ухудшает состояние нейронов в зоне ишемии [11,12].

В условиях гипергликемии накопление продуктов перекисного окисления приводит к взаимодействию глюкозы с аминокруппами белков, усилению их гликозилирования и окисления (аутооксидантное окисление), что приводит к снижению активности и даже полной инактивации ферментов антиоксидантной защиты. Ключевую роль в толерантности нейронов головного мозга к ишемии играет одной из ведущих антиоксидантных систем в организме - система глутатиона и ГР/ГП энзимов. Глутатион непосредственно либо посредством ферментативных реакций эффективно защищает клетки от свободных радикалов и других реактивных разновидностей кислорода, например, гидроксильного радикала, липидпероксильного радикала, пероксинитрита и перекиси водорода. Также глутатион принимает участие в функционировании ГР/ГП системы, играющей важную роль в поддержании внутри-клеточного окислительно-восстановительного гомеостаза [14]. Конкурентно связываясь с оксидом азота, глутатион образует комплекс с в виде S-нитрозоглутатиона, формирующий депо эндогенного NO, что объясняет как взаимную регуляцию пула эндогенного оксида азота и внутриклеточного глутатиона, так и специфическое цитопротекторное действие последнего предотвращение связывания молекулы NO с супероксидом препятствует образованию пероксинитрита и блокирует его возможные неротоксические эффекты. В тоже время доказано, что дефицит

внутриклеточной системы глутатиона способствует окислительному напряжению, которое играет ключевую роль при многих заболеваниях, включая болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, инсульт, инфаркт миокарда, сахарный диабет и др. [15].

Снижение уровня восстановленного глутатиона в тканях мозга, обнаруженное нами у крыс с аллоксановым диабетом, может быть следствием нарушения его синтеза связанного с нарушением тканевого дыхания, обусловленного как гипоксией, так и сахарным диабетом. Это в свою очередь приводит к уменьшению уровня АТФ, необходимой для синтеза глутатиона. Кроме того, недостаток уровня восстановленного глутатиона в условиях ишемии, не способен блокировать взаимодействие NO с супероксиданионом и последующим образованием пероксинитрита.

Прерывание патогенетического постгипоксического каскада на максимально ранних этапах, в том числе на этапе формирования дисфункции антиоксидантной системы глутатиона позволит добиться максимального протективного эффекта при лечении СД. Стабилизация функционирования антиоксидантной системы глутатиона и ГР/ГП ферментов позволит защитить ткани головного мозга от проявлений оксидативного и нитрозирующего стресса, а именно предупредить деполяризацию и дестабилизацию внутренней мембраны митохондрий с последующим формированием митохондриальной дисфункции, энергетического дисбаланса и иных постишемических последствий.

## Выводы

1. Постишемическое поражение ткани головного мозга экспериментальных животных на модели аллоксан-индуцированного диабета сопровождалось дискордантными сдвигами равновесия системы глутатиона (снижение активности ГР и ГП и уровней восстановленного глутатиона на фоне значительного роста его окисленных форм), пула макроэргических фосфатов (снижение уровней АТФ и АДФ на фоне выраженного повышения показателей АМФ) и увеличением в гомогенате мозга маркеров окислительной модификации белков - АФГ и КФГ.

2. Курсовое применение тиоцетама и РАИЛ-1 способствовало восстановлению энергетического метаболизма и снижению активности реакций свободнорадикального окисления в тканях головного мозга крыс с СД.

3. Активность РАИЛ-1 в отношении стабили-

ации системы глутатиона и ингибирования проявлений оксидативного и нитрозилирующего стресса превышает таковые тиоцетама.

**Литература.** 1. Nathan D.M. American Diabetes Association; European Association for the Study of Diabetes. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. A consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes / D.M. Nathan, J.B. Buse, M.B. Davidson [et al.] // *Diabetes Care*. - 2009. - Vol. 32. - P. 193-203. 2. Дедов И.И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике (пленарная лекция) / И.И. Дедов // *Сахарный диабет*. - 2010. - № 3 (48). - С. 6-13. 3. Stamler J. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial / J. Stamler, O. Vaccaro, J.D. Neaton et al. // *Diabetes Care*. - 1993. - Vol. 16. - P. 434-444. 4. Беридзе М.З. Динамика азотзависимого оксидатного стресса в острой стадии ишемического инсульта / М.З. Беридзе, М.К. Мегрешвили, Р.Р. Шакаришвили // *Журнал неврологи и психиатрии им. С.С. Корсакова (приложение "Инсульт")*. - 2005. - № 13. - С. 58-62. 5. Кетлинский С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев - СПб.: Фолиант, 2008. - 552с. 6. Кулинский В.И. Изучение глутатиона и ферментов его метаболизма у больных старших возрастных групп с хронической церебральной ишемией / В.И. Кулинский, Л.С. Колесниченко, В.В. Шпрах [и др.]. // *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. - 2005. - Т. 1 (39). - С. 63-65. 7. Асатиани В.С. Ферментные методы анализа / В.С. Асатиани. - М.: Наука, 1969. - 739 с. 8. Дубкіна О.Ю. Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків / О.Ю. Дубкіна // *Мед. хімія*. - 2001. - Т.3, №2. - С. 43 - 45. 9. Прохорова М.И. Современные методы в биохимии (углеводный и энергетический обмен) / М.И. Прохорова - Л.: Изд-во ЛГУ, 1986. - 368с. 10. Губский Ю.И. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И. Губский, И.Ф. Беленичев, С.В. Павлов [и др.]. // *Совр. пробл. токсикол.* - 2005. - № 3. - С. 20-26. 11. Рациональная нейропротекция / [Беленичев И.Ф., Черний В.И., Колесник Ю.М. и др.] - Донецк: Изд. Дом Заславский, 2009. - 261 с. 12. Сковорова В.И. Механизмы повреждающего действия церебральной ишемии и новые терапевтические стратегии / В.И. Сковорова // *Инсульт*. - 2003. - № 9. - С. 20-22. 13. Лукьянова Л.Д. Регуляторная роль митохондриальной дисфункции при гипоксии и ее взаимодействие с транскрипционной активностью / Л.Д. Лукьянова, А.М. Дудченко // *Вестник РАМН*. - 2007. - № 2. - С. 3-13. 14. Колесник Ю.М. Тиолдисульфидное равновесие - определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга (обзор литературы) / Ю.М. Колесник, И.С. Чекман, И.Ф. Беленичев и др. // *Журнал НАМН України*. - 2013. - Т. 19, № 1. - С. 3-11. 15. Коржов В. И. Роль системы глутатиона в процессах детоксикации и антиоксидантной защиты // *Журн.НАМН України*. - 2007. - 13, № 1. - С. 3-19.

## СПІВВІДНОШЕННЯ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ГЛУТАТІОНУ, ЕНЕРГЕТИЧНОГО МЕТАБОЛІЗМУ ТА ОКИСЛЮВАЛЬНОЇ МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ В ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ НА ТЛІ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

*О.С. Супрун, І.Ф. Беленічев, Е.В. Супрун*

**Резюме.** На моделі алоксанового діабету у щурів вивчено вплив тиоцетама і рецепторного антагоніста інтерлейкіну- 1 (РАІЛ-1) (7,5 мг/кг) на показники системи глутатиону, енергетичного метаболізму та окислювальної модифікації білків (ОМБ). Встановлено, що розвиток гіперглікемії у експериментальних тварин супроводжувалося дестабілізацією системи глутатиону (підвищення рівнів окислених форм глутатиону на тлі різкого зниження їх відновлених форм та активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази), енергетичним дефіцитом і підвищенням рівнів маркерів ОМБ - АФГ і КФГ. Доведено, що курсове введення тиоцетама і РАІЛ-1 сприяло нормалізації активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази, стабілізації рівнів макроергічних фосфатів (АТФ, АДП, АМФ) та показників ОМБ, макси-мальна активність відзначена у РАІЛ-1.

**Ключові слова:** IL-1ra, експериментальний цукровий діабет, глутатіон.

## THE RATIO OF THE DATA OF GLUTATHIONE SYSTEM, ENERGY METABOLISM AND OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN RAT BRAIN CELLS AGAINST A BACKGROUND OF EXPERIMENTAL HYPERGLYCEMIA

*A.S. Suprun, I.F. Belenichev, E.V. Suprun*

**Abstract.** To study thiocetam effect and receptor antagonist of interleukin-1 (IL-1ra) (7.5 mg/kg) on the data of the glutathione system, energy metabolism and oxidative modification of proteins (OMP) on the model of alloxan diabetes in rats. It has been established that the development of hyperglycemia in experimental animals was accompanied by destabilization of the glutathione system (increased levels of oxidized glutathione and a sharp decrease in its activity and reduced forms of glutathione peroxidase and glutathione reductase), energy shortages and rising levels of markers OMP - AFG and CFK. It has been proved that the course of administration of thiocetam and RAIL-1 contributed to the normalization of activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase, levels of stabilization of energy phosphates (ATP, ADP, AM) and OMP levels, the maximum activity was observed in IL-1ra.

**Key words:** IL-1, IL-1ra, experimental alloxan diabetes, glutathione.

National Pharmaceutical University (Kharkiv)

Zaporozhskij Medical University (Zaporozhje)

*Clin. and experim. pathol.* - 2014. - Vol.13, №1 (47). - P.129-135.

Надійшла до редакції 20.03.2014

Рецензент – проф. І.Ф.Мецишен

© А.С. Супрун, І.Ф. Беленічев, Е.В. Супрун, 2014