

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

С.С. Ткачук,

О.В. Ткачук,

О.М. Леньков,

В.Ф. Мислицький

Вищий державний навчальний заклад
України "Буковинський державний
медичний університет", м. Чернівці

Ключові слова: каротидна ішемія-
реперфузія, цукровий діабет,
гіпокамп, пероксидне окиснення
ліпідів, окиснювальна модифікація

ВПЛИВ ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ НА ПОКАЗНИКИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ТА СТАН АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ПОЛЯХ ГІПОКАМПА ПРИ ЕКСПЕРИМЕН- ТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ В САМЦІВ-ЩУРІВ

Резюме. Досліджено вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на вміст продуктів ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білків, активність антиоксидантних ферментів у полях гіпокампа при стрептозотоцин-індукованому цукровому діабеті в самців-щурів. Встановлено, що в гіпокампі самців-щурів із цукровим діабетом каротидна ішемія-реперфузія спричинює виснаження процесів ліпопероксидації та активності антиоксидантних ферментів і знижує інтенсивність окиснювальної модифікації білків.

Вступ

Посилення вільнорадикальних реакцій, зокрема зростання інтенсивності ліпопероксидації (ПОЛ) та окиснювальної модифікації білків (ОМБ), є важливою ланкою патогенезу як ішемічно-реперфузійних ушкоджень мозку, так і цукрового діабету (ЦД) [1, 2]. Особливо небезпечними ці процеси стають, якщо вони відбуваються на тлі порушення антиоксидантного захисту [3, 4]. Оскільки в патогенезі ЦД та ішемії-реперфузії закладено спільні механізми пошкодження тканини, тому виправданим є дослідження поєданого впливу цих станів на вміст продуктів ПОЛ, ОМБ та активність антиоксидантних ферментів, оскільки у хворих на ЦД гострі розлади церебрального кровообігу зустрічаються в декілька разів частіше, ніж без цього фонового захворювання, а смертність при інсультах на тлі діабету в декілька разів вища [5-7].

Мета дослідження

Дослідити ранні ефекти неповної глобальної ішемії-реперфузії головного мозку в окремих полях гіпокампа щурів самців-щурів із експериментальним цукровим діабетом за інтенсивністю процесів ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білків та активністю ферментів антиоксидантного захисту.

Матеріал і методи

У дослідженні використані 44 самці білих нелінійних щурів чотирьох груп: контрольні тварини, щури, яким виконано двобічну каротидну ішемію-реперфузію (ДКІР), щури з ЦД і щури з ЦД, яким виконано ДКІР.

Для моделювання ЦД одноразово внутрішньочеревно вводили стрептозотоцин (Sigma, Aldrich) у дозі 60 мг/кг самцям щурів віком 2 місяці [8]. Тривалість діабету - три місяці. Для виконання ДКІР під внутрішньочеревним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) переднім середнім шийним доступом виділяли обидві загальні сонні артерії, на які накладали кліпси. Через 20 хвилин кліпси знімали для реперфузії упродовж 1 години [9]. Забій тварин здійснювали декапітацією під каліпсоловим наркозом. Головний мозок одразу фіксували в рідкому азоті. Далі, користуючись атласом стереотаксичних координат [10], забирали для поля СА1, СА2 і СА3 гіпокампа. У гомогенатах указаних структур визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК), малонового альдегіду (МА), альдегідо- та кетоніохідних ОМБ нейтрального і основного характеру, активність супероксиддисмутази (СЛД), глутатіонпероксидази (ГПО), каталази (КТ) [11]. Нормальність розподілу отриманих даних перевіряли за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Вірогідність різниці між середньоарифметичними вибірок оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05. Усі дослідження проводилися з дотриманням Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, яких використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.

Обговорення результатів дослідження

У полі СА1 тварин, яким виконана ДКІР, порівняно з контролем рівень МА зріс в 1,1 раза, активність СОД зменшилась у 2,3 раза (табл. 1). У полях СА2 та СА3 відбулося достовірне збіль-

Таблиця 1

Вплив ішемії-реперфузії на вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у полях гіпокампа самців-щурів за умов цукрового діабету ($M \pm m$, $n=11$)

	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)
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*	17,9±0,6*	2,91±0,07	0,887±0,100
	Діабет	1,40±0,10*	0,436±0,027*	5,44±0,35*	3,45±0,35	0,426±0,042
	Діабет та ішемія-реперфузія	1,85±0,20^	0,447±0,053^	7,52±1,14^	1,91±0,19^"	0,393±0,051^
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*	17,5±0,4*	3,14±0,16*	0,904±0,088
	Діабет	1,35±0,10*	0,411±0,028*	6,43±0,36*	3,04±0,27*	0,404±0,036
	Діабет та ішемія-реперфузія	1,93±0,28	0,417±0,060^	5,84±0,81^	1,52±0,18^"	0,366±0,048^
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*	17,9±0,7*	3,60±0,09*	0,867±0,083
	Діабет	1,24±0,08*	0,403±0,014*	6,63±0,54*	3,13±0,31	0,385±0,016
	Діабет та ішемія-реперфузія	1,90±0,12^"	0,459±0,030^	5,37±0,44^	2,00±0,25^"	0,317±0,023^"

Примітки: вірогідність різниці порівняно з: * – контролем, ^ – ішемією-реперфузією, " – діабетом

шення вмісту МА та активності КТ, зменшення активності СОД в 1,1, 2,1 та 1,4 раза та в 1,1, 2,2 та 1,3 раза відповідно. Загалом, реакція значених структур на ішемію-реперфузію з переважанням змін у системі антиоксидантних ферментів є подібною до описаної іншими авторами [9, 12].

У тварин із ЦД порівняно з контролем у полі СА1 зменшився вміст ДК, МА та активність СОД у 2 рази, 1,4 та 7,6 рази відповідно. Подібних змін зазнали ці показники в полі СА2 - зниження в 1,9, 1,4 та 5,8 рази 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 рази, МА - в 1,5 рази, СОД - у 5,8 рази. Таким чином, за умов ЦД порівняно з контролем відбувається деяке зниження показників ДК і МА, виражене пригнічення активності СОД, а також незначне зростання активності КТ (за винятком поля СА1), що свідчить про зниження рівня функціонування прооксидантно-антиоксидантної системи. У тварин із ЦД, яким виконано ДКІР, порівняно з показниками за ЦД виявлено наступні зміни: у полях гіпокампа

СА1 та СА2 достовірно змінився лише показник КТ - він знизився в 1,8 раза та 2 рази відповідно; в полі СА3 вміст ДК збільшився в 1,5 рази, активність КТ зменшилася в 1,6 рази, ГПО - в 1,2 рази. Отже, при такому порівнянні стає помітним зниження активності КТ в усіх структурах та ГПО - в 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 ліпопероксидації практично не змінюються, але знижується активність КТ і ГПО, що свідчить про виснаження всіх компонентів ПОЛ та антиоксидантних ферментів.

Результати вивчення наслідків ДКІР у контрольних щурів та тварин із ЦД на показники ОМБ представлені в табл. 2.

Як видно, достовірних змін умісту продуктів

Таблиця 2

Вплив ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у полях гіпокампа самців-щурів за умов цукрового діабету ($M \pm m$, $n=11$)

Поле гіпокампа	Група спостереження	Уміст альдегідо- та кетоніохідних ОМБ нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	Уміст альдегідо- та кетоніохідних ОМБ основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
Поле СА1	Контроль	9,30±0,28	4,45±0,10
	Ішемія-реперфузія	10,27±0,40	4,67±0,10
	Діабет	7,70±0,71*	3,34±0,34*
	Діабет та ішемія-реперфузія	8,10±0,31^	3,74±0,17^
Поле СА2	Контроль	9,02±0,24	4,39±0,12
	Ішемія-реперфузія	9,70±0,23	4,45±0,12
	Діабет	7,69±0,68	3,32±0,35*
	Діабет та ішемія-реперфузія	8,16±0,33^	3,89±0,16^
Поле СА3	Контроль	9,16±0,28	4,34±0,11
	Ішемія-реперфузія	9,33±0,32	4,04±0,14
	Діабет	7,54±0,68*	3,30±0,32*
	Діабет та ішемія-реперфузія	8,60±0,33	4,15±0,16

Примітки: вірогідність різниці порівняно з: * – контролем, ^ - ішемією-реперфузією

ОМБ в полях гіпокампа після ДКІР не відбулося. У тварин із тримісячним ЦД порівняно з контролем у полі СА1 гіпокампа знизився рівень продуктів ОМБ нейтрального характеру в 1,2 раза, а продуктів основного характеру - в полях СА1, СА2 та СА3 - в 1,3 раза.

У групі тварин із тримісячним ЦД, яким виконано ДКІР, порівняно з показниками за діабету, достовірних змін показників ОМБ не виявлено.

Висновки

1. За умов тримісячного цукрового діабету в різних полях гіпокампа відбувається деяке зниження вмісту продуктів ліпопероксидації, помірне зростання активності каталази та виражене пригнічення активності супероксиддисмутизи, а також зниження вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків нейтрального характеру в полях гіпокампа СА1 та СА2 й основного характеру - в полях СА1, СА2 та СА3.

2. Двобічна каротидна ішемія з одногодинною реперфузією на тлі тримісячного цукрового діабету пригнічує активність усіх 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 вивчення патохімічних механізмів ішемічно-реперфузійних пошкоджень структур мозку на тлі цук-

рового діабету в динаміці спостереження.

Література. 1. Гусев Е.И. Ишемия головного мозга/ Е.И.Гусев, В.И.Скворцова. - М.: Медицина, 2001. - 328 с. 2. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications / F.A.Matough, S.B.Budin, Z.A.Hamid [et al.] / Sultan Qaboos Univ. Med. J.- 2012. - Vol. 12, №1. - P.5-18. 3. The antioxidant paradox in diabetes mellitus / M.Sheikh-Ali, J.M.Chehade, A.D.Mooradian // Am. J. Ther. - 2011. - Vol.18, №3. - P.266-278. 4. Diabetes and antioxidants: myth or reality? / M.A.Haidara, H.Z.Yassin, Z.Zakula [et al.] // Curr. Vasc. Pharmacol. - 2010. - Vol.8, №5. - P. 661-72. 5. Eriksson M. The disparity in long-term survival after a first stroke in patients with and without diabetes persists: the Northern Sweden MONICA study / M.Eriksson, B.Carlberg, M.Eliasson // Cerebrovasc. Dis. - 2012. - Vol.34, №2. - P.153-160. 6. Inagaki K. Internal medicine and neurological diseases: progress in diagnosis and treatment. Topics: II neurological diseases related to diabetes mellitus; 2. Cerebral infarction, coma, hypoglycemia / K.Inagaki, M.Nagao, S.Oikawa // Nihon Naika Gakkai Zasshi. - 2012. - Vol.101, №8.- P. 2180-2187. 7. Ischemic stroke and transient ischemic attack in young adults: risk factors, diagnostic yield, neuroimaging, and thrombolysis / R.Ji, L.H.Schwamm, M.A.Pervez, A.B.Singhal // JAMA Neurol. - 2013. - Vol.70, №1. - P.51-57. 8. Ткачук О. В. Ранні зміни обмеженої тканинної протеолітичної активності в структурах мозку щурів при поєднаній дії стрептозотоніндукованого діабету та неповної глобальної ішемії головного мозку / О.В.Ткачук // Клін. та експерим. патол. - 2009. - Т. VIII, № 2 (28). - С. 72-75. 9. Скибо Г.Г. Залежність ступеню пошкодження нейронів гіпокампу від тривалості ішемії мозку та постішемічного періоду/ Г.Г.Скибо, Т.М.Коваленко, І.О.Осадченко, О.В.Гірник// Запорозький мед.журн.- 2002.- Т.13,№ 3.- С.21-22. 10. Sherwood N.M. A stereotaxis atlas of the developing rat brain/ N.M.Sherwood, P.S.Timiras // Berkely - Los Angeles - London: University of California Press, 1970. - 208 p. 11. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науководослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / [В.М. Магалаєс, А.О. Міхєєв, Ю.С. Роговий та ін.]- Чернівці, 2001. - 42 с. 12. Шимків О.Д. Структурні та вікові особливості вільнорадикального окиснення й антиоксидантного захисту в щурів з відстроченими наслідками неповної глобальної ішемії мозку / О.Д.Шимків, С.С.Ткачук // Наук. вісник Ужгородського університету. Серія медицина.- 2003.- Вип. 21.- С. 48-52.

ВЛИЯНИЕ ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ В КОРЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА И ГИППОКАМПЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ У САМЦОВ КРЫС

С.С.Ткачук, А.В.Ткачук, А.М.Леньков, В.Ф.Мыслицкий

Резюме. Исследовано влияние двусторонней каротидной ишемии-реперфузии на содержание продуктов липопероксидации, окислительной модификации белков, активность ферментов антиоксидантной защиты в полях гиппокампа при стрептозоточин-индуцированном сахарном диабете у самцов крыс. Установлено, что в гиппокампе самцов крыс с сахарным диабетом каротидная ишемия-реперфузия приводит к истощению процессов липопероксидации и активности антиоксидантных ферментов и снижает интенсивность окислительной модификации белков.

Ключевые слова: каротидная ишемия-реперфузия, гиппокамп, сахарный диабет, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, окислительная модификация белков.

THE INFLUENCE OF BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION ON THE INDICES OF FREE RADICALS PROCESSES AND ANTIOXIDANT DEFENSE IN HIPPOCAMPUS IN MALE RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

S.S.Tkachuk, A.V.Tkachuk, A.M.Lenkov, V.F.Myslickij

Abstract. The influence of bilateral carotid ischemia-reperfusion on the indices of free radicals processes and antioxidant enzymes activity in hippocampal areas in male rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus has been investigated. It has been ascertained that in hippocampus of male rats with diabetes mellitus carotid ischemia-reperfusion leads to exhausts of lipoperoxidation processes and antioxidant enzymes activity and reducing the intensity of oxidative modification of proteins.

Key words: carotid ischemia-reperfusion, hippocampus, diabetes mellitus, lipoperoxidation, antioxidant enzymes, oxidative protein modification.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №2 (52). - P.216-219.

Надійшла до редакції 15.04.2015

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© С.С.Ткачук, О.В.Ткачук, О.М.Леньков, В.Ф.Мыслицкий, 2015