

УДК 616.831. - 018 - 053

О.В. Ткачук,

М.А. Повар

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

## ДИНАМІКА ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНИХ ВЗАЄМОВІДНОСИН У СЕЛЕЗІНЦІ ЩУРІВ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ, УСКЛАДНЕНИМ НЕПОВНОЮ ГЛОБАЛЬНОЮ ІШЕМІЄЮ-РЕПЕРФУЗІЄЮ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

**Ключові слова:** цукровий діабет,  
ішемія-реперфузія головного мозку,  
селезінка, ліпопероксидація,  
антиоксидантний захист.

**Резюме.** Досліджено ранні та відстрочені наслідки ішемії-реперфузії головного мозку на стан ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в селезінці контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом. Показано, що після 20-хвилинної ішемії з наступною одногодинною реперфузією в селезінці щурів без діабету інтенсивність ліпопероксидації знижується, а зміни антиоксидантної активності носять неоднозначний характер. У щурів із цукровим діабетом у даному терміні спостереження відбувається паралельна активація інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту. На 12-ту добу після ішемії головного мозку в селезінці щурів без діабету активація ферментативного антиоксидантного захисту переважає над інтенсивністю процесів ліпопероксидації, а в щурів із діабетом превалюють останні.

### Вступ

Порушення аутолерантності в процесі формування цукрового діабету 1 типу та імунорегуляторні розлади, що виникають за цих умов, призводять до уражень внутрішніх органів та нервової системи [1-3]. Останні стають причиною значного поширення таких тяжких ускладнень цукрового діабету, як порушення церебрального кровообігу та інсульти - у хворих на цукровий діабет частота ішемічних інсультів у декілька разів перевищує даний показник у пацієнтів без такого фонового захворювання [4, 5]. Одним із механізмів взаємного обтяження цих патологічних станів може бути посилення аутоімунних розладів унаслідок виходу при інсультах у кров нейроспецифічних білків та появи нейроантитіл, що зумовлено посиленням проникності гематоенцефалічного бар'єру (ГЕБ) [6-8]. Оскільки у хворих із тривалим перебігом цукрового діабету проникність ГЕБ підвищена [9], гострі розлади церебрального кровообігу на такому тлі характеризуються тяжчим перебігом через посилення імунної дизрегуляції.

Отже, цукровий діабет та ішемічно-реперфузійні пошкодження головного мозку спричиняють суттєві порушення імунного статусу організму, тому поєднання цих патологічних станів може супроводжуватися патобіохімічними змінами в селезінці, як органі імунної системи. Оскільки реалізація впливу ішемічно-реперфузійних ушкоджень головного мозку на порушення морфофункціонального стану багатьох органів і тканин,

як і ускладнень цукрового діабету, відбувається через посилення вільнорадикальних процесів [10-12], дослідження взаємовідносин компонентів системи вільнорадикального окиснення та антиоксидантного захисту в селезінці за умов поєднання діабету та ішемії-реперфузії головного мозку може надати певну інформацію стосовно участі даного органу в процесах взаємного обтяження цих станів.

### Мета дослідження

Вивчити вплив ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку на функціональний стан системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист у селезінці контрольних щурів та тварин із чотиримісячним цукровим діабетом.

### Матеріал і методи

У досліджах використано нелінійних білих лабораторних самців-щурів. Цукровий діабет моделювали однократним внутрішньочеревним введенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [10]. Рівень глікемії визначали глюкозооксидазним методом. Тривалість діабету становила чотири місяці. Формували групи контрольних щурів та тварин зі змодельованим діабетом, яким відтворювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом 20-хвилинного двобічного кліпсування загальних сонних артерій [13]. Ранні наслідки ішемії-реперфузії вивчали після одногодинної реперфузії, відстрочені - через 12 діб. Евтаназію тварин виконували декапітацією під

наркозом.

У гомогенатах селезінки визначали інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) і малонового альдегіду (МА), та стан антиоксидантного захисту за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) і глутатіонпероксидази (ГПО) [14].

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 Стьюдента 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 захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985) та Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

#### Обговорення результатів дослідження

Результати вивчення інтенсивності процесів

ПОЛ та активності ферментативного антиоксидантного захисту в селезінці щурів різних експериментальних груп представлені в табл. 1. Вони демонструють, що в селезінці щурів без цукрового діабету після 20-хвилинної каротидної ішемії з одногодинною реперфузією відбулося зниження вмісту ДК та активності ГПО при одночасному посиленні активності КТ. Отже, вже в ранні терміни ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку селезінка реагує змінами в системі ліпопероксидація-антиоксидантний захист, що свідчить про її активну відповідь на дане втручання. Збереження резерву антиоксидантних спроможностей за рахунок підвищення активності КТ свідчить про адаптаційний характер змін.

Подальші дослідження показали, що зміни компонентів даної системи в селезінці щурів цієї групи носять довготривалий характер і на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного стають більш обширними та набувають односпрямованого характеру за рахунок паралельного зростання вмісту ДК та активності СОД, КТ і ГПО.

Таким чином, формування відповіді селезінки щурів контрольної групи на ішемію-реперфузію головного мозку не лише не завершується до 12-ї доби, але й наростає за кількістю змінених по-

Таблиця 1

Інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у селезінці щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом та неповною глобальною ішемією-реперфузією головного мозку ( $M \pm m$ ,  $n=11$ )

Група спостереження	Уміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксиддисмутази (од/хв · мг білка)	каталази (мкмоль/хв · мг білка)	глутатіонпероксидази (нмоль G-SH- хв · мг білка)
Контроль	0,727±0,051	0,441±0,016	10,537±0,859	8,577±0,824	0,342±0,014
Ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	0,586±0,016 $p_1 < 0,006$	0,431±0,007	11,950±0,335	12,509±0,622 $p_1 < 0,002$	0,301±0,005 $p_1 < 0,025$
Ішемія-реперфузія (12 діб)	0,864±0,044 $p_1 < 0,003$ $p_2 < 0,001$	0,537±0,040 $p_2 < 0,019$	15,981±0,858 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	11,470±0,486 $p_1 < 0,009$	0,662±0,037 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Діабет	0,683±0,022	0,426±0,014	14,405±0,586 $p_1 < 0,002$	8,512±0,432	0,316±0,008
Діабет та ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	0,823±0,025 $p_3 < 0,001$	0,521±0,013 $p_3 < 0,001$	14,918±0,508	11,556±0,302 $p_3 < 0,001$	0,377±0,018 $p_3 < 0,01$
Діабет та ішемія-реперфузія (12 діб)	0,830±0,015 $p_3 < 0,001$	0,516±0,016 $p_3 < 0,001$	13,753±0,554	9,412±0,377 $p_4 < 0,001$	0,437±0,045 $p_3 < 0,001$

Примітки: вірогідність змін порівняно з показниками:  $p_1$  – у контрольних тварин;  $p_2$  – у щурів із короткотривалою ішемією-реперфузією;  $p_3$  – у щурів із цукровим діабетом;  $p_4$  – у щурів із цукровим діабетом та короткотривалою ішемією-реперфузією

казників, набуваючи якісно нового характеру. Можна думати, що така пролонгована реакція є складовою формування аутоімунного компоненту ішемічно-реперфузійного пошкодження нервової тканини. Це підтверджується даними попередніх наших досліджень про зростання в цей термін рівня циркулюючих імунних комплексів [15].

У селезінці щурів із чотиримісячним цукровим діабетом виявлено зростання активності СОД. Слід зазначити, що цукровий діабет суттєво модифікує реакцію селезінки на ішемію-реперфузію мозку. Уже наприкінці одногодинного реперфузійного періоду суттєво активуються як процеси ПОЛ за рахунок достовірного зростання вмісту ДК та МА, так і ферментативний антиоксидантний захист, про що свідчить зростання активності КТ та ГПО. На 12-ту добу спостереження зміни дещо нагадують такі в контрольних тварин за аналогічного втручання, однак прояви оксидативного стресу за умов діабету суттєвіші і менш компенсовані, оскільки зростає вміст обох досліджених продуктів ліпопероксидації, а підвищенням реагує лише активність глутатіонпероксидази, яка до того ж залишається суттєвіше нижчою, ніж у контрольних щурів за таких умов.

### Висновки

1. У щурів контрольної групи 20-хвилинна каротидна ішемія з одногодинною реперфузією знижує інтенсивність ліпопероксидації в селезінці на тлі неоднозначних змін антиоксидантної активності. У щурів із цукровим діабетом за ідентичних експериментальних умов у даному органі відбувається паралельна активація інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту.

2. На 12-ту добу після 20-хвилинної ішемії головного мозку в селезінці щурів без діабету активація ферментативного антиоксидантного захисту переважає над інтенсивністю процесів ліпопероксидації, а в щурів із діабетом превалюють останні.

### Перспективи подальших досліджень

Для поглиблення уяви про реакцію вільнорадикальних процесів у селезінці на ішемію-реперфузію головного мозку в щурів із цукровим діабетом перспективним є вивчення в даному органі за аналогічних експериментальних умов умісту продуктів окислювальної модифікації білків.

**Література.** 1. Зайчик А.М. Молекулярно-біологічні основи порушень гуморальної регуляції при сахарному діабеті / А.М. Зайчик // Мед. акад. журн. - 2008. - Т. 8, № 1. - С. 127-138. 2. Иммунологические особенности органоспецифических аутоиммунных эндокринных забо-

леваний / Е.А. Селиванов, Т.В. Глазанова, Л.Н. Бубнова, В.И. Мазуров // Мед. акад. журн. - 2008. - Т. 8, № 1. - С. 237-242. 3. Cerebral blood flow and cerebral edema in rats with diabetic ketoacidosis / N. Yuen, S.E. Anderson, N. Glasser [et al.] // Diabetes. - 2008. - Vol. 57, № 10. - P. 2588-2594. 4. 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. 5. Diabetes mellitus, fasting blood glucose concentration, and risk of vascular disease: a collaborative meta-analysis of 102 prospective studies / N. Sarwar, P. Gao, S.R. Seshasai [et al.] // Lancet. - 2010. - Vol. 375. - P. 2215-2222. 6. Цимбалюк В.И. Роль некоторых нейроиммунных и сосудистых факторов при ишемических повреждениях головного мозга / В.И. Цимбалюк, М.С. Бровченко // Укр. мед. часопис. - 2005. - № 4(48). - С. 25-28. 7. Аутоиммунные механизмы при ишемии / Н. Константинова, В.И. Скворцова, И. Еремичин и [др.] // Аллергол. и иммунология. - 2005. - Т. 6, № 2. - С. 147-149. 8. CNS immune responses following experimental stroke. Neurocrit Care / D. Zierath, M. Thullberg, J. Hadwin [et al.] // Neurocrit. Care. - 2010. - Vol. 12, № 2. - P. 274-284. 9. Csorba T.R. Autoimmunity and the pathogenesis of type 1 diabetes / T.R. Csorba, A.W. Lyon, M.D. Hollenberg // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. - 2010. - Vol. 47, № 2. - P. 51-71. 10. Леньков О.М. Перекисне окиснення ліпідів та антиоксидантний захист у корі головного мозку і гіпокампа за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М. Леньков // Клінічна та експериментальна патологія. - 2009. - Т. VIII, № 2. - С. 44-46. 11. Ткачук С.С. Ранні та відстрочені зміни прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин у міокарді щурів із поєднаною дією стрептозотин-індукованого цукрового діабету та каротидної ішемії-реперфузії / С.С. Ткачук, В.П. Гавалешко // Клінічна та експериментальна патологія. - 2011. - Т. X, № 2 (36, ч. 1). - С. 106-108. 12. Ткачук С.С. Інтрааренальні особливості процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в щурів зі стрептозотин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / С.С. Ткачук, В.П. Гавалешко // Буковинський медичний вісник. - 2012. - Т. 16, № 3 (63), ч. 2. - С. 220-223. 13. 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. 14. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / [В.М. Магалис, А.О. Міхєєв, Ю.Є. Роговий та ін.]. - Чернівці, 2001. - 42 с. 15. Ткачук О. В. Циркулюючі імунні комплекси та окремі показники неспецифічної резистентності в щурів зі стрептозотин-індукованим цукровим діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного мозку / О. В. Ткачук // Перспективи медицини та біології. - 2011. - Т. III, № 2. - С. 77-81.

### ДИНАМИКА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ВЗАЙМОВІДНОШЕНЬ В СЕЛЕЗЕНКЕ КРЫС С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРФУЗИЕЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА

А.В. Ткачук, М.А. Повар

**Резюме.** Исследованы ранние и отсроченные последствия ишемии-реперфузии головного мозга на состоянии липопероксидации и антиоксидантной защиты в селезенке контрольных крыс и животных с сахарным диабетом. Показано, что после 20-минутной ишемии с последующей одночасовой реперфузией в селезенке крыс без диабета интенсивность липопероксидации снижается, а изменения антиоксидантной активности носят неоднозначный характер. У крыс с сахарным диабетом в данном сроке наблюдения происходит параллельная активация интенсивности липопероксидации и антиоксидантной защиты. На 12-е сутки после ишемии головного мозга в селезенке крыс без диабета активация ферментативной антиоксидантной защиты преоб-

ладает над интенсивностью процессов липопероксидации, а у крыс с диабетом превалируют последние.

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

**DYNAMICS OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT  
RELATIONSHIP IN THE SPLEEN OF RATS WITH  
DIABETES MELLITUS COMPLICATED WITH  
INCOMPLETE GLOBAL ISCHEMIA-REPERFUSION OF  
THE BRAIN**

*A.V. Tkachuk, M.A. Povar*

**Abstract.** Early and delayed consequences of ischemia-reperfusion of the brain on the state of lipoperoxidation and antioxidant protection in the spleen of control rats and animals with diabetes mellitus were investigated. It has been shown that lipoperoxidation intensity decreases after 20 minutes ischemia

with the following one hour reperfusion in the spleen of rats without diabetes, and changes of antioxidant activity have not simple nature. Simultaneous activation of intensity of lipoperoxidation and antioxidant protection occurs in rats with diabetes mellitus in the given period of observation. On the 12th day after ischemia-reperfusion of the brain activation of enzymatic antioxidant protection prevails over the intensity of lipoperoxidation processes in the spleen of the rats without diabetes, and the latter predominate in the rats with diabetes.

**Key words:** diabetes mellitus, ischemia-reperfusion of the brain, spleen, lipoperoxidation, antioxidant protection.

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

*Clin. and experim. pathol.* - 2015. - Vol.14, №4 (54). - P.166-169.

*Надійшла до редакції 05.10.2015*

*Рецензент – проф. В.Ф. Мислицький*

*© О.В. Ткачук, М.А. Повар, 2015*