

УДК 616.831. – 018 - 053

О. В. Ткачук, О. М. Леньков
М. А. Повар, С. С. Ткачук
В. Ф. Мислицький
О. В. Кузнєцова, С. І. Анохіна
О. І. Олар, Н. В. Шешуряк
Б. В. Сирота

РЕОРГАНІЗАЦІЯ ПРООКИСНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ В ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ ПІД ВПЛИВОМ НЕПОВНОЇ ГЛОБАЛЬНОЇ ІШЕМІЇ МОЗКУ

Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Ключові слова: цукровий діабет, ішемія мозку, печінка, вільнорадикальні процеси.

Резюме. Досліджено вплив неповної глобальної ішемії мозку на стан вільнорадикальних процесів та антиоксидантного захисту в печінці щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом. Встановлено, що діабет знижує в печінці вміст первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації, продуктів окиснювальної модифікації білків, активність ферментів антиоксидантного захисту. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в контрольних щурів знижує в печінці вміст продуктів ліпопероксидації та активність антиоксидантних ферментів, а в щурів зі стрептозотоциновим діабетом не впливає на жоден із досліджених показників.

Вступ

Медико-соціальне значення проблеми цукрового діабету обумовлене його широким розповсюдженням, високою частотою ранньої інвалідизації, відсутністю досконалих та радикальних методів лікування [3,10]. Серед численних та різноманітних ускладнень цукрового діабету судинні розлади посідають чільне місце. Ішемічні інсульти у хворих на цукровий діабет зустрічаються в декілька разів частіше, ніж у відповідних вікових групах осіб, що не мають даної патології, і перебіг їх значно тяжчий та характеризується високою смертністю [2,4]. Проте патогенез взаємозв'язків між ішемією головного мозку та цукровим діабетом багато в чому залишається нез'ясованим. Своєчасність подібного дослідження обґрунтована й тим, що за умов діабету значна кількість ішемічних станів мозку зумовлена не лише його судинною патологією – вони виникають при гіпо- та гіперглікемічних комах, серцевій недостатності, інтоксикаціях.

Одним із органів, що зазнають суттєвих морфофункціональних змін за умов цукрового діабету, є печінка [6,11,13]. Разом із тим, будучи центральним органом хімічного гомеостазу, здійснюючи адаптивну регуляцію метаболічних процесів відповідно до поточних потреб організму, цей орган реагує на чисельні та різноманітні патологічні стани, що дозволяє думати про його зацікавленість також і в перебігу ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку. Однак пошук літературних даних стосовно реакції печінки саме на поєднання цукрового діабету та ішемії мозку не приніс вагомих результатів, незважаючи на досить високу частоту цих патологічних станів,

тому дослідження, здійснені в цьому напрямку, видаються нам актуальними.

Мета дослідження

Вивчити вплив неповної глобальної ішемії головного мозку на показники оксидативного стресу в печінці щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом.

Матеріал і методи

Дослідження проведено на нелінійних білих лабораторних самцях щурів. Тварин утримували за стандартних умов виварію, дотримуючись встановлених санітарно-гігієнічних норм та харчового раціону. Цукровий діабет моделювали однократним внутрішньочеревинним введенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [1]. Рівень глікемії визначали глюкозооксидазним методом. Тварини знаходилися в досліді протягом чотирьох місяців. По закінченні даного терміну в частини щурів моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом двобічного кліпсування загальних сонних артерій [8]. Ішемічний період становив 20 хв., реперфузійний – 60 хв. Евтаназію тварин здійснювали декапітацією під ефірним наркозом.

Для оцінки інтенсивності пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у гомогенатах печінки визначали вміст дієнових кон'югатів та малонового альдегіду [9]. Стан антиоксидантного захисту оцінювали за активністю супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази [9].

Про ступінь окиснювальної модифікації білків (ОМБ) судили по кількості 2,4-динітрофенілгидразонів, отриманих при взаємодії 2,4-динітрофенілг-

ідразину з альдегідними і кетонними групами, утвореними в процесі окиснювальної модифікації білків у радикалах залишків аліфатичних амінокислот [5].

Результати досліджень опрацьовано за допомогою пакета прикладних програм “Statistica” (“Statsoft”, США). Групи порівняння мали нормальний розподіл, що оцінювали за допомогою теста Шапіро-Уїлка. Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-тестом 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).

Обговорення результатів дослідження

Цукровий діабет супроводжується порушеннями вільнорадикальних процесів у багатьох органах [3, 6, 12]. Що стосується ішемічно-реперфузійних впливів, то саме ці процеси вважаються тригерним механіз-

мом пошкоджень головного мозку [7]. Тому можна думати, що поєднання цих патологічних станів може мати системний вплив на пероксидне окиснення ліпідів та окиснювальну модифікацію білків.

Наші дослідження показали, що неповна глобальна ішемія головного мозку в печінці контрольних тварин суттєво знизила вміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, а також каталази та глутатіонпероксидази (табл. 1). Активність супероксиддисмутази залишалася незмінною. Отже, паралельне зниження як вмісту продуктів ліпопероксидації, так й активності антиоксидантних ферментів, у цілому, демонструє зниження рівня функціонування системи прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в печінці за даних експериментальних умов.

У печінці щурів із цукровим діабетом виявлено зниження всіх досліджених параметрів ПОЛ та антиоксидантного захисту. На наш погляд, заслуговує на увагу той факт, що на відміну від контрольних щурів, у тварин із цукровим діабетом на ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку не відреагував жодний показник як інтенсивності

Таблиця 1

Вплив ішемії-реперфузії головного мозку на вміст продуктів пероксидного окиснення ліпідів та активність антиоксидантних ферментів у печінці щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом (M±m)

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 n=10				
2,14±0,192	0,810±0,039	13,18±0,857	46,8±2,91	0,571±0,027
Ішемія-реперфузія головного мозку n=10				
1,69±0,167 p<0,001	0,674±0,063 p<0,001	12,55±1,27	38,49±2,685 p<0,001	0,511±0,04 p<0,001
Діабет n=10				
1,584±0,152 p<0,001	0,561±0,051 p<0,001	9,57±0,75 p<0,001	32,37±2,187 p<0,001	0,416±0,04 p<0,001
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку n=7				
1,78±0,291 p<0,02	0,644±0,146	10,67±2,25	36,51±3,52	0,448±0,10

Примітка. вірогідність змін порівняно з: p – показниками в контрольних тварин; p₁ – показниками в щурів із діабетом

Таблиця 2

Вплив ішемії-реперфузії головного мозку на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у печінці щурів зі стрептозотоцин-індукованим діабетом (M±m)

Група спостереження	Уміст альдегідо- та кетонпохідних	
	нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 430 нм)
Контроль (n=10)	35,39±3,52	17,8±1,55
Ішемія-реперфузія головного мозку (n=10)	35,10±2,84	16,9±0,828
Діабет (n=10)	29,9±2,32 p<0,003	15,5±1,27 p<0,055
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (n=7)	32,6±3,23	17,5±2,78

Примітка. p – вірогідність змін порівняно з показниками в контрольних тварин

ПОЛ, так й активності антиоксидантних ферментів. Ймовірно, за умов тривалого цукрового діабету функціональні резерви системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист в печінці вичерпані.

Що стосується процесів окиснювальної модифікації білків, то ішемічно-реперфузійні впливи на мозок використаної нами тривалості ні в контрольних, ні у хворих на діабет щурів не справили помітного ефекту (табл. 2). Проте сам цукровий діабет спричинив достовірне зниження вмісту продуктів ОМБ як нейтрального, так і основного характеру.

Аналізуючи отримані дані в сукупності, можна дійти висновку, що цукровий діабет знижує інтенсивність вільнорадикальних процесів у печінці, а також модифікує реакцію пероксидного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів на ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку.

Висновки

1. Стрептозоточин-індукований цукровий діабет знижує вміст у печінці первинних та вторинних продуктів ліпопероксидації, продуктів окиснювальної модифікації білків нейтрального та основного характеру, активність супероксиддисмутази, каталази, глутатінпероксидази.

2. Ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку в контрольних щурів знижує вміст дієнових кон'югатів, малонового альдегіду, активність каталази та глутатіонпероксидази.

3. У щурів зі стрептозоточинним діабетом ішемічно-реперфузійне пошкодження головного мозку, на відміну від контрольних тварин, не впливає на інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів, білків та активність антиоксидантних ферментів.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення реакції нітрозергічних систем печінки на зазначені експериментальні втручання.

Література. 1. Антиоксидантная защита и структурные изменения в головном мозге у крыс при экспериментальном сахарном диабете / С. А. Шестакова, Р. П. Степанов, Г. А. Григоренко [и др.] // Пробл. эндокринологии. - 2006. - №1. - С. 37-44. 2. Балаболкин М. И. Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений диабета / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова // Пробл. эндокринологии. - 2000. - №6. - С. 29-34. 3. Зайчик А. М. Молекулярно-биологические основы нарушений гуморальной регуляции при сахарном диабете / А. М. Зайчик // Мед. акад. журн. - 2008. - Т. 8, №1. - С. 127-138. 4. Интгерлейкины и гемокины при остром ишемическом инсульте, отягощенном и не отягощенном диабетом / А. С. Бояджян, Э. А. Аракуелова, В. А. Айвазян, Л. А. Манукиан // Цитокины и воспаление. - 2008. - Т. 7, №1. - С. 40-43. 5. Мещишен І. Ф. Механізм окиснювальної модифікації білків / І. Ф. Мещишен, В. П. Польовий // Буковинський мед. вісник. - 1999. - Т. 3, №1. - С. 196-205. 6. Морфофункціональні особливості печінки щурів після введення стрептозоточину / Л. В. Балущ, В. І. Ковалишин, А. М. Яценко // Експериментальна фізіологія та біохімія. - 2008. - №1. - С. 35-40. 7. Оксидантний стресс и кислородный статус при ишемическом инсульте / В. И. Скворцова, Я. Р. Нарциссов, М. К. Бодьхов [и др.] // Журн. неврол. и психиатрии. - 2007. - №1. - С. 30-36. 8. 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. 9. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / В. М. Магалаєв, А. О. Міхєєв, Ю. Є. Роговий [та ін.] - Чернівці, 2001. - 42 с. 10. Ban C. R. Fibrosis in diabetes complications: Pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers / C. R. Ban, S. Twigg // Vascular Health and Risk Management. - 2008. - Vol. 4, №3. - P. 575-588. 11. Bronwlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complication / M. Bronwlee // Nature. - 2001. - Vol. 414. - P. 813-820. 12. Effect of age receptor blocker and/or anti-inflammatory coadministration in relation to glycation, oxidative stress and cytokine production in the diabetic rats / M. M. El-Seweidy, S. E. El-Sweify, R. S. Ameen, R. M. Hashem // Pharmacol. Res. - 2002. - Vol. 45. - № 5. - P. 391-398. 13. The role of liver-derived regulatory dendritic cells in prevention of type 1 diabetes / L. Xiaoyan, M. Linlin, L. T. Ngok, J. F. John [et al.] // Immunol. - 2006. - Vol. 120. - P. 251-260.

РЕОРГАНИЗАЦИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА В ПЕЧЕНИ КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ ПОД ВЛИЯНИЕМ НЕПОЛНОЙ ГЛОБАЛЬНОЙ ИШЕМИИ МОЗГА

А. В. Ткачук, А. М. Леньков, М. А. Повар, С. С. Ткачук, В. Ф. Мыслицкий, А. В. Кузнецова, С. И. Анохина, Е. И. Олар, Н. В. Шешурак, Б. В. Сирота

Резюме. Исследовано влияние неполной глобальной ишемии мозга на параметры свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты в печени крыс со стрептозоточинным сахарным диабетом. Установлено, что диабет снижает содержание в печени первичных и вторичных продуктов липопероксидации, продуктов окислительной модификации белков, активность ферментов антиоксидантной защиты. Ишемически-реперфузионное повреждение головного мозга у контрольных крыс снижает содержание в печени первичных и вторичных продуктов липопероксидации и активность антиоксидантных ферментов, а у крыс с диабетом не влияет ни на один из исследованных показателей.

Ключевые слова: диабет, ишемия мозга, печень, свободнорадикальные процессы.

REORGANIZATION OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT HOMEOSTASIS IN LIVER OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS UNDER THE INFLUENCE OF INCOMPLETE GLOBAL BRAIN ISCHEMIA

A. V. Tkachuk, A. M. Lenkov, M. A. Povar, S. S. Tkachuk, V. F. Myslickij, A. V. Kuznetsova, S. I. Anohina, E. I. Olar, N. V. Sheshuriak, B. V. Sirota

Abstract. The effect of incomplete global cerebral ischemia on the parameters of free radical processes and antioxidant defense in the liver of rats with streptozotocin diabetes mellitus has been studied. It has been shown that diabetes decreases the content of primary and secondary products of lipid peroxidation, protein oxidative modification products and the activity of antioxidant enzymes in liver. Brain ischemia-reperfusion injury in control rats reduces the content of primary and secondary products of lipid peroxidation and antioxidant enzymes in the liver, whereas in rats with diabetes does not affect any of the investigated parameters.

Key words: diabetes mellitus, brain ischemia, liver, free radical processes, antioxidant defense.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2012. - Vol. 11, №3(41). - P. 166-168.

Надійшла до редакції 25.08.2012

Рецензент – проф. І. Ф. Мещишен

© О. В. Ткачук, О. М. Леньков., М. А. Повар, С. С. Ткачук, В. Ф. Мыслицкий, О. В. Кузнецова, С. И. Анохина, О. И. Олар, Н. В. Шешурак, Б. В. Сирота, 2012