

УДК 616.831:577.112

¹Довгань І. М., ¹Мельник Н. О., ²Лабунець І. Ф., ²Утко Н. А., ¹Савосько С. І.

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У КОРІ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА МОДЕЛЮВАННЯ ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (м. Київ)

²ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України» (м. Київ)

savosko_s@ukr.net

Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри гістології та ембріології «Органи неврології, імунології та сечостатевої системи в умовах експериментального пошкодження», № державної реєстрації 0112U001413.

Вступ. Сучасні наукові дослідження в галузі нейробиології та молекулярної біології стверджують про постійну генерацію вільних радикалів (активних форм кисню) в нейронах в процесі нормальної метаболізму і активності. За умов пошкодження (травма, ішемія, інтоксикація) відбувається подальша гіперпродукція цього класу цитотоксичних метаболітів із одночасним падінням активності клітинних систем антиоксидантного захисту. Коли пул вільних радикалів та темпи їх утворення перевищують ємність внутрішньоклітинних механізмів захисту відбуваються необоротні зміни, які морфологічно ідентифікують як некроз або апоптоз нейронів.

На молекулярному рівні каскад біохімічних реакцій по продукції вільних радикалів описують ланцюгами окислювального стресу. Останній є одним із ключових етапів подій, що залучений до розвитку ексайтотоксичності у ішемічно уражених нейронах [19].

Як відомо, за утилізацію вільних радикалів у клітині відповідають ферментативні та неферментативні системи. Найбільш частим і показовим є оцінка ферментативної системи, яка включає каталазу (CAT), супероксиддисмутазу (SOD) та глутатіон-залежні ферменти, такі як глутатіонпероксидаза (GPx) і глутатіонредуктази (GR). В оцінці функціонального рівня неферментативної системи досліджують рівень глутатіону. Показники активності цих систем суттєво залежать і змінюються від ішемії мозку.

З часу відкриття цих систем проведено ряд досліджень. Метою більшості досліджень було вплинути на рівень продукції вільних радикалів, послабити ступінь пошкодження мозку та підвищити рівень антиоксидантних систем шляхом введення різних фармакологічних засобів. Аналіз літературних даних свідчить про активацію ендогенних цитопротекторних механізмів за умов ішемії, проте, дослідження ролі антиоксидантних систем в патофізіології ішемічного ураження мозку суттєво варіюють і навіть можуть суперечити. Але беззаперечними є ті дані, що збереження функціонування ферментативних систем у мозку корелює із виживанням нейронів та цитопротекторним впливом лікарських засобів.

В сучасній фармакології запропоновано широкий арсенал лікарських засобів: антиоксиданти

(флавоноїди, вітаміни групи В, алкалоїди), антагоністи кальцію (німодипін), модулятори глутаматергічної системи (антагоністи NMDA-рецепторів), агоністи ГАМК, агоністи допамінових рецепторів (пропоран), похідні піролідолу (пірацетам), стабілізатори біологічних мембран (лецитин) та інші сполуки з антиоксидантною дією (токоферол, нікотинамід) [13]. У експериментальних роботах досліджено вплив препаратів, їх комбінації та порівнювалися ефекти. Так, нейропротекторну дію пірацетаму описано у ряді експериментальних робіт [8,21,22], але лише в деяких досліджувався вплив препарату на стан антиоксидантної системи. Зокрема, при введенні пірацетаму на тлі ішемічного інсульту встановлено збільшення активності SOD, CAT і GPx у корі та гіпокампі мозку [20]. Нейропротекторна дія фосфотидилхоліну (лецитин) полягає у активації CAT і пригніченні утворення малонового діальдегіду, що ефективно захищає нейрони від пошкодження на тлі ішемії [5]. Кверцетин є поліфенольним флавоноїдом і також має антиоксидантну дію, пригнічує патобіохімічні реакції у ішемічно ушкоджених нейронах [12]. Авторами описано корегуючий ефект комбінації цих молекул на розвиток ексайтотоксичності при ішемії та пояснюється можливість проходження ними гематоенцефалічного бар'єру [9].

Метою роботи було оцінити вплив пірацетаму, ліпіну з кверцетином та їх комбінації на зміни активності ферментів антиоксидантної системи у експериментальних тварин з геморагічним інсультом.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження проведені на 45 щурах-самцях лінії WKY (середня вага 220-250 г.). Геморагічний інсульт моделювали у правій півкулі головного мозку шляхом введення аутокрові у ділянку внутрішньої капсули. Премедикацію здійснювали шляхом введення тіопенталу натрію (i.p., 50 мг/кг). Розподіл дослідних груп наведено у **таблиці**.

Таблиця.

Дослідні групи тварин

№	Тип групи	Кількість тварин
Група 1	Контроль	7
Група 2	Інсульт	12
Група 3	Інсульт+пірацетам	8
Група 4	Інсульт+ліпін+кверцетин	10
Група 5	Інсульт+комбінація	8

Лікарські засоби вводили через 2 години після моделювання інсульту за такими схемами і дозами:

- Пірацетам – 100 мг/кг, і.р. – через 2 години після операції і щоденно у наступні 10 діб.
- Кверцетин – 7,2 мг/кг, і.р. – через 2 години після операції і щоденно у наступні 5 діб.
- Ліпін – 10 мг/кг, і.р. – через 2 години після операції і щоденно у наступні 5 діб.

Тваринам групи 2 вводили фізіологічний розчин (0,02 мл/добу, і.р., термін введення 10 діб).

Виведення дослідних тварин із експерименту здійснювали на 10 добу експерименту.

Для біохімічного дослідження виділяли фрагменти кори головного мозку. Наважку кори великого мозку (100 мг) (попередньо висушеної на фільтрувальної папері), гомогенізували за допомогою електричного гомогенізатора Glas-Col (США) в 1 мл охолодженого 0,05 М фосфатного буфера з 0,1 мМ ЕДТА (рН 7,6). Активність ферментів визначали в супернатантах, отриманих центрифугуванням гомогенатів при 10000 г протягом 20 хв, за допомогою відомих спектрофотометричних методів з використанням спектрофотометра μ Quant, Біо-Тек, (США).

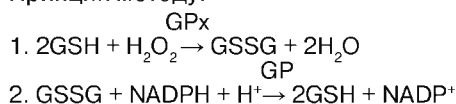
Концентрацію білка у пробі визначали за методом Lowry О.Н. Метод базується на реакції білку з лужним розчином міді. Отримана субстанція відновлюється реагентом Folin, що супроводжується зміною забарвлення у блакитний [15].

Каталазу (CAT) активність визначали за методом Aebi Н. [6]. Метод вимірювання активності каталази базується на здібності каталази утилізувати пероксид водню, концентрацію якого вимірюють на спектрофотометрі. Активність ферменту виражали в мікромолях утилізованої H_2O_2 на 1 мг білка за 1 хв ($мкмоль \cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$).

Активність супероксиддисмутази (SOD) визначали за методом Mirsa Н.Р. [16]. Про активність SOD судили за ступенем інгібування окислення адреналіну. Активність СОД виражали в умовних одиницях із розрахунку на 1 мг білка і 1 хв ($од \cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$). За одиницю активності SOD брали 50% інгібування окислення адреналіну.

Активність глутатіонпероксидази (GPx) і глутатіонредуктази (GR) вимірювали за зменшенням NADPH ("Sigma", США) у сполученій глутатіонредуктазній реакції з додаванням у реактивну суміш відповідних реагентів і виражали в наномолях окисненого NADPH на 1 мг білка за 1 хв ($нмоль \cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$) [18].

Принцип методу:



GR – глутатіон редуктаза

GSSG – окиснений глутатіон

GSH – відновлений глутатіон

NADP⁺ – окислений NAD

NADPH – відновлений NAD

A = 1000Чк / (6,22См)

де: k – коефіцієнт регресії; 6,22 – коефіцієнт мілімолярної екстинкції НАДФН; m – концентрація білка в пробі в мг/мл.

Активність ферменту обчислювали за формулою і виражали в нмоль окисненого NADPH на 1 мг білка і 1 хв ($нмоль \cdot хв^{-1} \cdot мг^{-1}$).

Для підтвердження локалізації ділянки крововиливу проводили гістологічне дослідження фронтальних зрізів мозку. Для цього головний мозок шурів (зразки із яких попередньо виділялися для біохімічного дослідження) фіксували в 10% нейтральному формаліні. Фіксовані зрізи зневоднювали і заключали у парапласт (Leica Surgipath Paraplast Regular). Протокол дегідратації: етанол (з 70% до 100%-розчину етанолу), діоксан, ксилол, ксилол/парапласт (1:1; 37°C), парапласт (56°C). Парафінові зрізи органів товщиною 6-8 мкм виготовляли на мікротомі Thermo Microm HM 360. Зрізи депарафінували, регідратували і забарвлювали гематоксиліном та еозином за стандартною методикою.

Морфометричне дослідження та фотографування гематоми проводили на мікроскопі Olympus BX 51 (Японія). Кількісний аналіз проводили за допомогою програмного забезпечення Carl Zeiss software (AxioVision SE64 Rel.4.9.1). Статистичну обробку отриманих вибірок даних проводили із застосуванням програми Statistica 6.0.

Усі експериментальні маніпуляції проводили відповідно до правил "Regulations on the animal use of in research biomedical research", "European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes" і "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals".

Результати дослідження. За результати гістологічного дослідження наявність гематоми у правій внутрішній капсулі головного мозку встановлено у 100% оперованих шурів. Розмір гематоми на фронтальному розрізі був у межах $6,1 \pm 0,4$ мм². Локалізацію досліджуваної ділянки наведено на **рисунку 1**, а гістологічну картину крововиливу на **рисунку 2**.

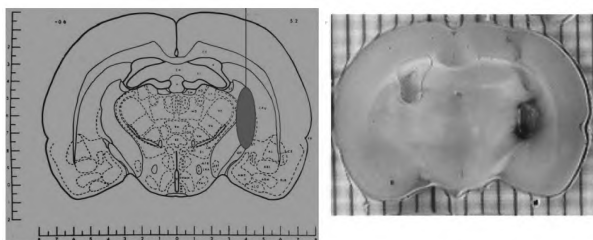


Рис. 1. Фронтальний розріз головного мозку щура з крововиливом у внутрішній капсулі. Порівняльна ілюстрація стереотаксичного атласу щура та непрофарбованого зразка експериментального матеріалу.

Результати біохімічних досліджень показали зміни активності ферментів антиоксидантної системи на тлі інсульту (група 2). Так, активність CAT збільшувалась від контрольних значень (група 1) в середньому на 13,5% ($p < 0,05$), при цьому значення GPx і GR були менше 32,2% ($p = 0,05$) і 40,3% ($p < 0,05$) (**рис. 2-6**). При цьому показник активності SOD не мав статистично значущої відміни від контрольної групи. Ці дані вказують на компенсаторну активацію ферментативних систем утилізації вільних радикалів (активних форм кисню) і одночасне порушення

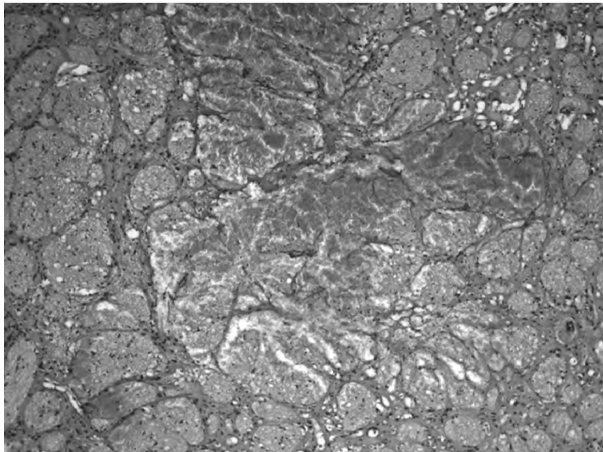


Рис. 2. Ділянка крововиливу у правій півкулі головного мозку щура. Гематоксилін-еозин. Об. 20, ок. 10.

системи метаболізму глутатіону – основного низькомолекулярного захоплювача цих цитотоксичних сполук.

У групі 3 відмічено нормалізацію активності CAT і GR. Показник SOD і GPx наблизився до контрольних значень ($p=0,05$). Встановлено збільшення активності GR щодо групи 2 (в середньому на 60,7%, $p<0,01$).

У групі 4 рівень SOD залишався зниженим від контрольних значень на 14,9% ($p<0,05$). Рівень CAT не відрізнявся від контрольних значень. Одночасно з цим встановлено виражену активацію GPx у 3,2 рази, а GR у 3,1 рази ($p<0,01$).

У групі 5 відмічено тенденцію до зниження активності GPx ($p=0,05$). Активність інших ферментів не відрізнялись від контролю.

Таким чином, результати біохімічного дослідження свідчать про зміни у активності ферментів антиоксидантного захисту головного мозку при інсульті. Збільшення активності CAT і зменшення GR є проявом розбалансування цитопротекторних механізмів, оскільки обидва цих ензими спрямовані на нейтралізацію вільних радикалів, перший через утилізацію перекисну водню, а інший у відновлення пулу глутатіону. В той же час під впливом препаратів спостерігається часткове відновлення або навіть посилення активності антиоксидантних ферментів при введенні ліпіну з кверцетином.

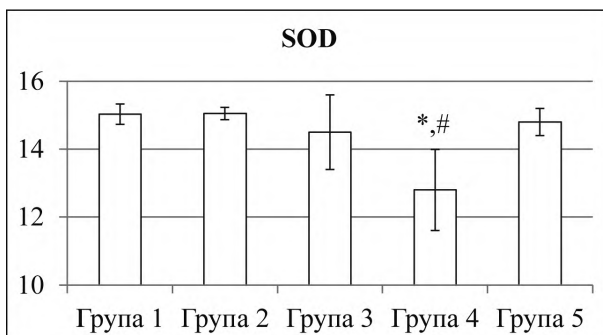


Рис. 3. Активність супероксиддисмутази у корі іпсилатеральної півкулі головного мозку щурів на 10 добу досліді. Дані представлені у вигляді $M\pm m$; * – достовірно до контрольної групи (група 1) $p<0,05$; # – достовірно до групи з інсультом (група 2) $p<0,05$.

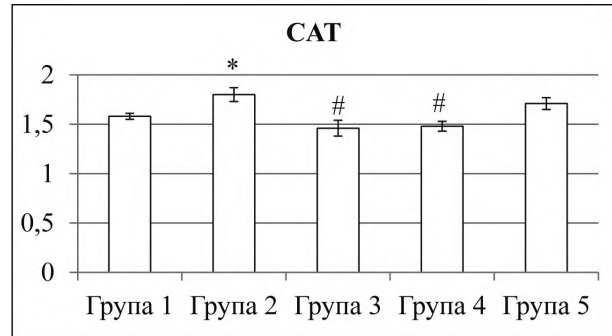


Рис. 4. Активність каталази у корі іпсилатеральної півкулі головного мозку щурів на 10 добу досліді. Дані представлені у вигляді $M\pm m$; * – достовірно до контрольної групи (група 1) $p<0,05$; # – достовірно до групи з інсультом (група 2) $p<0,05$.

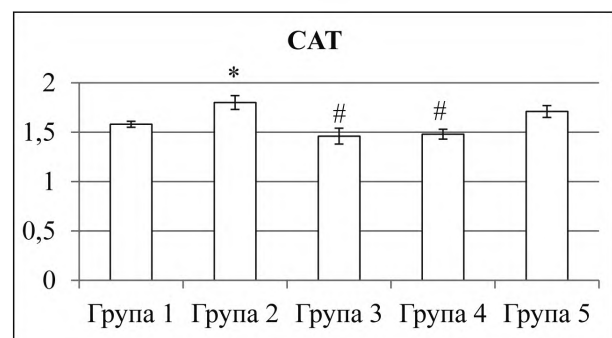


Рис. 5. Активність глутатіонпероксидази у корі іпсилатеральної півкулі головного мозку щурів на 10 добу досліді. Дані представлені у вигляді $M\pm m$; ^ – $p=0,05$ щодо контрольної групи (група 1); # – достовірно до групи з інсультом (група 2) $p<0,05$.

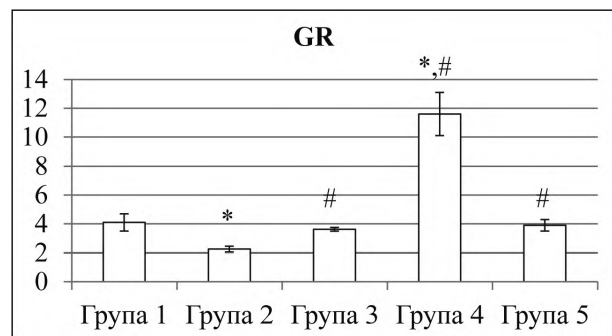


Рис. 6. Активність глутатіонредуктази у корі іпсилатеральної півкулі головного мозку щурів на 10 добу досліді. Дані представлені у вигляді $M\pm m$; * – достовірно до контрольної групи (група 1) $p<0,05$; # – достовірно до групи з інсультом (група 2) $p<0,05$.

Обговорення результатів дослідження. У проведеному експериментальному дослідженні було оцінено зміни активності ферментів антиоксидантної системи за умов моделювання геморагічного інсульту та застосування лікарських засобів. На сьогодні в нейрофізіології використовують різні моделі ішемії, ішемії-реперфузії мозку [10,11,14], але використана була модель локального крововиливу, оскільки така модель характеризується високою стандартизацією пошкодження мозку, чіткою локалізацією внутрішньомозкового крововиливу і легкістю відтворення у лаборатор-

них тварин. Оцінку біохімічних параметрів проводили із зразків кори іпсілатеральної півкулі, тобто над ділянкою крововиливу. Літературні дані свідчать, що у ділянці ішемії та перифокальній зоні розвивається оксидативний стрес, гіперпродукція активних форм кисню, а вільні радикали сприяють пошкодженню мозку, тобто є чинником прогресування вторинного ураження мозку при гіпоксії і травми. До числа таких радикалів відноситься перекис водню (H_2O_2), пероксинітрит ($ONOO^-$) та інші цитотоксичні молекули. За даними експериментальних робіт на тлі ішемії відбувається зменшення активності SOD і GPx, а після реперфузії активність продовжує знижуватись [7]. На противагу цьому можлива активація CAT. У проведених нами дослідках на моделі внутрішньомозкового крововиливу отримано подібні результати, а саме падіння активності ферментів, які відновлюють глутатіоновий пул (GR і GPx) і збільшення рівня активності CAT. Ці дані підтверджують загальні уявлення про розвиток пошкоджуючого впливу порушеного мозкового кровообігу на клітини мозку, незалежно від етіологічного чинника, тобто ішемії або геморагії.

Додатково проаналізовано зміни активності досліджуваних ферментів на тлі введення лікарських засобів. На відміну від попередніх досліджень [3], застосовано комбінацію кверцетину з фосфотидилхоліном (ліпіном) і як препарат порівняння пірацетам. Додатково оцінювали вплив комбінації цих лікарських засобів. За результатами біохімічного дослідження встановлено нормалізацію щодо контрольних показників активності CAT і GR у групі з пірацетамом і виражену активація GR і GPx у групі тварин, яким вводили кверцетин з фосфотидилхоліном. З літературних даних відомо, що кверцетин активує ці ферменти, але такий виражені зміни ймовірно пов'язані з тим, що фосфотидилхолін безпосередньо нейтралізує вільні радикали, що

також зменшує пошкодження мозку від ішемії. В поодиноких клінічних та експериментальних роботах також зазначено зміни деяких показників антиоксидантного захисту на тлі застосування пірацетаму [1,2,4]. При цьому комбінована фармакокорекція не мала такого впливу на систему ферментів метаболізму глутатіону, що свідчить про нормалізацію окисно-відновної рівноваги.

Наші дані свідчать про нові патогенетичні стратегії у боротьбі з нейродегенеративними змінами кори мозку на тлі ішемії та набряку мозку у перифокальній ділянці геморагічного інсульту.

Висновки

1. У щурів з локальним одностороннім геморагічним інсультом на 10-ту добу експерименту встановлено збільшення активності каталази і падіння активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази.

2. У щурів з інсультом, яким вводили пірацетам виявлено нормалізацію активності ферментів, а у щурів з введенням ліпіну та кверцетину додаткову активацію глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази.

3. При комбінованому введенні пірацетаму, ліпіну і кверцетину показник активності ферментів антиоксидантної системи не відрізнялися від значень у контрольній групі.

Перспективи подальших досліджень. Результати досліджень по вивченню патобіохімічних змін при гострому порушенні мозкового кровообігу можуть бути використані для наукового обґрунтування розробки комплексної фармакокорекції окиснювального стресу при гіпоксії.

Література

1. Kalchuk R.O. Sravnitel'naya antistressovaya aktivnost kombinirovannogo sredstva tiotsetam i ego sostavlyayuschih v usloviyah sochetannogo deystviya vospaleniya i immobilizatsii v eksperimente / R.O. Kalchuk, L.T. Kirichek // Eksperimentalna i klinichna meditsina. – 2013. – № 2 (59). – S. 42-45.
2. Mischenko T.S. Novyye vozmozhnosti v terapii bolnykh s mozgovym insultom / T.S. Mischenko, V.N. Mischenko, I.V. Zdesenko // Mezhdunarodnyy nevrologicheskiy zhurnal. – 2013. – № 2 (56). – S. 25-32.
3. Oliynik T.M. Metabolichni zmini kori velikogo mozku shchuriv pislya modelyuvannya gemoragichnogo insultu / T.M. Oliynik, S.I. Savosko, Yu.B. Chaykovskiy // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2015. – Vip. 2 (3). – S. 193-198.
4. Perfilova V.N. Antioksidantnoe deystvie soedineniy RGPU-147 i RGPU-195 v usloviyah hronicheskoy alkoholnoy intoksikatsii / V.N. Perfilova, I.N. Tyurenkov // Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal. – 2010. – № 1 (25). – S. 20-22.
5. Aabdallah D.M. Possible neuroprotective effects of lecithin and alpha-tocopherol alone or in combination against ischemia/reperfusion insult in rat brain / D.M. Aabdallah, N.I. Eid // J Biochem Mol Toxicol. – 2004. – Vol. 18 (5). – P. 273-278.
6. Aebi H. Catalase in vitro / H. Aebi // Meth. Enzymol. – 1984. – Vol. 105. – P. 121-126.
7. Armogida M. The protective role of catalase against cerebral ischemia in vitro and in vivo / M. Armogida, A. Spalloni, D. Aman-tea [et al.] // Int. J Immunopathol Pharmacol. – 2011. – Vol. 24 (3). – P. 735-747.
8. Coq J.O. Acute reorganization of the forepaw representation in the rat SI cortex after focal cortical injury: neuroprotective effects of piracetam treatment / J.O. Coq, C. Xerri // Eur J Neurosci. – 1999. – Vol. 11 (8). – P. 2597-2608.
9. Dajas F. Neuroprotection by flavonoids / F. Dajas, F. Rivera-Megret, F. Blasina [et al.] // Braz J Med Biol Res. – 2003. – Vol. 36 (12). – P. 1613-1620.

- Decano J.L. Analysis of cd45- [cd34+/kdr+] endothelial progenitor cells as juvenile protective factors in a rat model of ischemic-hemorrhagic stroke / J.L. Decano, A.M. Moran, N. Giordano, N. Ruiz-Opazo, V.L.M. Herrera // PLoS. – 2013. – ONE 8 (1). – e55222.
- Ding G. Persistent cerebrovascular damage after stroke in type two diabetic rats measured by MRI / G. Ding, T. Yan, J. Chen [et al.] // Stroke; a journal of cerebral circulation. – 2015. – Vol. 46 (2). – P. 507-512.
- Ghosh A. Neuroprotective Role of Nanoencapsulated Quercetin in Combating Ischemia-Reperfusion Induced Neuronal Damage in Young and Aged Rats / A. Ghosh, S. Sarkar, A.K. Mandal, N. Das // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8 (4). – e57735.
- Kawakami M. Molecular dissection of cyclosporin a's neuroprotective effect reveals potential therapeutics for ischemic brain injury / M. Kawakami // Brain Sci. – 2013. – № 3. – P. 1325-1356.
- Kizmazoglu C. Neuroprotective effect of resveratrol on acute brain ischemia reperfusion injury by measuring Annexin V, p53, Bcl-2 levels in rats / C. Kizmazoglu, H.E. Aydin, I.E. Sevin [et al.] // Journal of Korean Neurosurgical Society. – 2015. – Vol. 58 (6). – P. 508-512.
- Lowry O.H. Protein measurement with Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.I. Randal // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265-275.
- Mirsa H.P. The role of super oxide anion in the antioxidation of epinefrine and simple assay for superoxide dismutase / H.P. Mirsa, Y. Fredovich // IAMA. – 1972. – Vol. 247 (10). – P. 3170-3175.
- Muradian K.K. Correlative links between superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the liver of mice / K.K. Muradian, N.A. Utko, T.G. Mozzhukhina [et al.] // Ukr Biochem J. – 2003. – Vol. 75 (1). – P. 33-37.
- Paglia D.E. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase / D.E. Paglia, W.N. Valentine // J. Clin. Med. – 1967. – Vol. 70. – P. 158-169.
- Phaniendra A. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases / A. Phaniendra, D.B. Jestadi, L. Periyasamy // Indian Journal of Clinical Biochemistry. – 2015. – Vol. 30 (1). – P. 11-26.
- Wattanathorn J. Zingiber officinale Mitigates Brain Damage and Improves Memory Impairment in Focal Cerebral Ischemic Rat / J. Wattanathorn, J. Jittiwat, T. Tongun, S. Muchimapura, K. Ingkaninan // Evidence-based Complementary and Alternative Medicine. – 2011. – P. 429505.
- Wheble P.C. A systematic review and meta-analysis of the efficacy of piracetam and piracetam-like compounds in experimental stroke / P.C. Wheble, E.S. Sena, M.R. Macleod // Cerebrovasc Dis. – 2008. – Vol. 25 (1-2). – P. 5-11.
- Xerri C. Neuroprotective effects on somatotopic maps resulting from piracetam treatment and environmental enrichment after focal cortical injury / C. Xerri, Y. Zennou-Azougui, J.O. Coq // ILAR J. – 2003. – Vol. 44 (2). – P. 110-124.

УДК 616.831:577.112

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ФЕРМЕНТІВ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У КОРІ ВЕЛИКИХ ПІВКУЛЬ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА МОДЕЛЮВАННЯ ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

Довгань І. М., Мельник Н. О., Лабунець І. Ф., Утко Н. А., Савосько С. І.

Резюме. У статті наведено результати експериментального дослідження по оцінці метаболічних змін у корі мозку при інсульті. Шурам моделювали локальний геморагічний інсульт та вводили лікарські засоби (пірацетам, ліпін з кверцетином та їх комбінація). Біохімічними методами оцінювали активність супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази. Результати досліджень показали збільшення активності каталази і зменшення активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази на тлі інсульту. Введення ліпину з кверцетином позначилося вираженим збільшенням активності глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази.

Ключові слова: геморагічний інсульт, кора мозку, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза.

УДК 616.831:577.112

ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В КОРЕ БОЛЬШИХ ПОЛУШАРИЙ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ГЕМОРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Довгань І. М., Мельник Н. А., Лабунець І. Ф., Утко Н. А., Савосько С. І.

Резюме. В статье приведены результаты экспериментального исследования по оценке метаболических изменений в коре головного мозга при инсульте. Крысам моделировали локальный геморагический инсульт и вводили лекарственные средства (пирацетам, липин с кверцетином и их комбинация). Биохимическими методами оценивали активность супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Результаты исследований показали увеличение активности каталазы и уменьшение активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы на фоне инсульта. Введение липина с кверцетином сказало существенную активацию глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы.

Ключевые слова: геморагический инсульт, кора мозга, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза.

UDC 616.831:577.112

THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT SYSTEM ENZYMES IN THE CEREBRAL CORTEX OF THE BRAIN WITH HEMORRHAGIC STROKE

Dovgan I. M., Melnyk N. O., Labunets I. F., Utko N. A., Savosko S. I.

Abstract. In the experimental study we have used 45 male rats WKY line (average weight 220-250 g). Animals were divided into 5 groups: group 1 – intact rats (n=7); group 2 – rats with hemorrhagic stroke (n=12); group 3 – rats with hemorrhagic stroke which were injected with piracetam (n=8); group 4 – rats with hemorrhagic stroke which were injected with lecithin (Lipin) and quercetin (n=10); group 5 – rats with hemorrhagic stroke which were injected with combination of drugs (n=8). Hemorrhagic stroke was simulated in the right hemisphere of rat's brain by injection of autoblood in the internal capsule. The drugs were injected intraperitoneally 2 hours later after making stroke at the following schemes and doses: piracetam (100 mg/kg, during 10 days), quercetin (7,2 mg/kg, during 5 days), lecithin (Lipin) (10 mg/kg, during 5 days), saline (0,02 ml/day, during 10 days). The activity of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione reductase (GR) in the cerebral cortex were studied. Localization of intracerebral hematoma was examined by histological method.

According to the results of histological study the hematomas in the right internal capsule of the brain were found in 100% of operated rats. The hematoma's size on the front slices was $6,1 \pm 0,4 \text{ mm}^2$.

The biochemical study results in the group of animals with stroke (group 2) identified the enzymes of antioxidant system activity changes. The CAT activity increased comparing with the control (group 1) average by 13,5% ($p < 0,05$), while GPx and GR values were less than 32,2% ($p = 0,05$) and 40,3% ($p < 0,05$). After the SOD activity analysis the statistically significant difference with the control group was not found. In this way we could speak about compensatory activation of free radicals (reactive oxygen species) enzymatic utilization and the violation of glutathione metabolism at the same time, whereas the glutathione is main acceptor of low-cytotoxic molecules.

In the group 3 we marked the normalization of CAT and GR activity. The values of SOD and GPx approached the control ($p = 0,05$). The increased level of GR activity comparing with the group 2 was detected (average 60,7%, $p < 0,01$).

In the group 4 the level of SOD decreased by 14,9% ($p < 0,05$) while the CAT level did not differ from the control. At the same time we found a strong activation of GPx in 3,2 times and GR in 3,1 times ($p < 0,01$).

In the group 5 the tendency to reduction of GPx activity was marked ($p = 0,05$). The activity of other enzymes did not differ from the control group.

Thus, the results of biochemical studies indicate the activity of antioxidant enzymes changes in the brain after stroke. The increased levels of CAT and decreased levels of GR are manifestations of cytoprotective mechanisms imbalance because both of these enzymes are taken part at neutralizing of free radicals through the hydrogen peroxide utilization and restoring the glutathione pool. At the same time using drugs supports the partial recovery while lecithin (Lipin) and quercetin even increase the activity of antioxidant enzymes.

Keywords: hemorrhagic stroke, cerebral cortex, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase.

Рецензент – проф. Непорада К. С.

Стаття надійшла 01.06.2017 року