

- human disease / Miles S. L. McFarland M., R. M. Niles // - Nutrition Reviews. – 2014, Vol. 72 (11), P. 720-734.
15. Orlov A. Cases Mathematics, Probability and Statistics / A. Orlov // - Basic facts. MZ-Press, - 2004, Moscow. – 455 p.
16. Posokhova K. A. Influence of corvutin-containing compounds on myocardium status in diabetes mellitus type 2. / K. A. Posokhova, I. P. Stechyshyn, V. V. Pidhirnyy // - J. Achievements of Clin. and Exper. Med. – 2014, Vol.2, P. 17-21.
17. Sergeeva I. E. Research of functional features of cells of the immune system in patients with generalized periodontitis / I. E. Sergeeva // - Zaporozhye Med. Journal. – 2010, Vol.12 (3), P. 48-50.
18. Williams R. J. Flavonoids: antioxidants or signalling molecules? (review) / R. J. Williams, J.P. Spencer, C. Rice-Evans // - Free Radical Biology & Medicine. 2004; Vol.36 (7): 838-849.
3. Yip J. K. Association between oral bisphosphonate use and dental implant failure among middle-aged women / J. K. Yip, L. N. Borrell, S. C. Cho [et al.] // - J. Clin. Periodontol. – 2012, Vol.39 (4), P. 408-414.

Реферати

ПОРУШЕННЯ ГУМОРАЛЬНОЇ ЛАНКИ ІМУННОЇ РЕАКТИВНОСТІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ ТА КОРЕКЦІЯ ЇХ ФЛАВОНОЛОМ

Демкович А. С., Бондаренко Ю. І., Гасюк П. А.

У статті вивчалися порушення гуморальної ланки імунного захисту організму (імуноглобуліни класів А, М, G, концентрацію в сироватці крові циркулюючих імунних комплексів (ЦІК)) на 7-у та 14-ту доби розвитку експериментального бактеріально-імунного пародонтиту, а також можливість корекції їх під впливом корвітину (кверцетину). Застосування його впродовж 7-ми днів внутрішньом'язово в дозі 100 мг/кг позитивно вплинуло на перебіг запального процесу при даній модельованій патології. Паралельно проводилось визначення вмісту ЦІК в сироватці крові як важливої ланки патогенезу імунного ураження за умови експериментального запалення в тканинах пародонта. Застосування корвітину привело до зниження рівня ЦІК в сироватці крові, порівняно з тваринами, яким не вводили даний препарат. Таким чином, доведено, що флавоноїд корвітин, впливаючи на імунні процеси, здатний обмежувати запальну реакцію в пародонтальному комплексі за даної патології.

Ключові слова: пародонтит, імуноглобуліни, циркулюючі імунні комплекси, імунний статус, корвітин.

Стаття надійшла 28.08.2017 р.

НАРУШЕНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ЗВЕНА ИММУННОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ И КОРЕКЦИЯ ИХ ФЛАВОНОЛОМ

Демкович А. Е., Бондаренко Ю. И., Гасюк П. А.

В статье изучались нарушения гуморального звена иммунной защиты организма (иммуноглобулины классов А, М, G, концентрацию в сыворотке крови циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК)) на 7 и 14 день развития экспериментального бактериально-иммунного пародонтита, а также возможность коррекции их под влиянием корвитина (кверцетина). Применение его в течение 7-ми дней внутримышечно в дозе 100 мг / кг положительно повлияло на ход воспалительного процесса при данной моделируемой патологии. Паралельно проводилось определение содержания ЦИК в сыворотке крови как важного звена патогенеза иммунного поражения при экспериментальном воспалении в тканях пародонта. Применение корвитина привело к снижению уровня ЦИК в сыворотке крови по сравнению с животными, которым не вводили этот препарат. Таким образом, доказано, что флавоноид корвитин, влияя на иммунные процессы, способен ограничивать воспалительную реакцию в пародонтальном комплексе при данной патологии.

Ключевые слова: пародонтит, иммуноглобулины, циркулирующие иммунные комплексы, иммунный статус, корвитин.

Рецензент Запорожець Т.М.

DOI 10.26724 / 2079-8334-2017-3-61-100-107

УДК 616.833-003.93:577.112

І. М. Довгань, Н. О. Мельник, І. Ф. Лабунець, Н. А. Утко, С. І. Савосько
Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Лабораторія експериментального моделювання, відділ клітинних і тканинних технологій, ДУ "Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН України", м. Київ

АКТИВНІСТЬ АНТИОКСИДАНТНИХ ФЕРМЕНТІВ У СІДНИЧНОМУ НЕРВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ МОДЕЛЮВАННЯ ГЕМОРАГІЧНОГО ІНСУЛЬТУ

e-mail: savosko_s@ukr.net

Досліджено біохімічні зміни у сідничому нерві лабораторних щурів за умов геморагічного інсульту та введення лікарських засобів (пірацетам, кверцетин, ліпін). Встановлено демієлінізацію у сідничому нерві щурів з інсультом та збільшення активності супероксиддисмутази. Введення пірацетаму, ліпину та кверцетину достовірно відновлювало функціонування системи ферментів обміну глутатіону (глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза).

Ключові слова: геморагічний інсульт, мозок, сідничий нерв, демієлінізація, супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза.

Робота є фрагментом НДР «Органи нервової, імунної та сечостатевої систем в умовах експериментального пошкодження», № державної реєстрації 0112U001413.

Ішемічне ураження мозку та інсульт є основними причинами смерті і тяжких неврологічних розладів. Гіпоксія і гіпоглікемія, які при цьому розвиваються, є причинами загибелі нейронів у анатомічних структурах головного мозку. Як показано у наших попередніх дослідженнях [8], інсульт не обмежується лише деструктивними змінами у корі мозку, а нейродегенеративні зміни

антероградно розповсюджуються до сегментів спинного мозку і сідничого нерва. Причина та механізм цього явища залишилися остаточно не дослідженими, але імовірно ішемічне ураження нейрона може ініціювати каскад загибелі наступних нейронів через синаптичні зв'язки. Частково дозволяє зрозуміти ці процеси теорія ексайтотоксичності, що пояснює загибель нейронів у наслідок надмірного вивільнення кальцію та збудливих нейромедіаторів у синапсах. Показано, що цей механізм лежить в основі ішемічного ураження та деяких нейродегенеративних захворюваннях [31].

В залежності від подій, які призводять до руйнування нейронів, розділяють первинну і вторинну загибель нейронів [14]. При первинній загибелі некроз нейронів обумовлений безпосереднім ураженням через гіпоксію. Вторинна загибель нейронів є наслідком кількох механізмів, таких як набряк, ексайтотоксичність, накопичення внутрішньоклітинного кальцію і надмірне утворення вільних радикалів. Вказані механізми взаємодоповнюють один одного, але гіперпродукція вільних радикалів є обов'язковим чинником розвитку цих патологічних механізмів загибелі нейронів.

Як відомо, гіпоксія спричинює утворення вільних радикалів, які окиснюють ліпідні компоненти клітинних структур, денатурують протеїни, що призводить до деструкції органел і загибелі нейронів [3]. Вільні радикали не лише є наслідком гіпоксії, але їх утворення продовжується після реперфузії. Прогресуюче збільшення концентрації цих цитотоксичних молекул є патогенетичним чинником збільшення об'єму ділянки некрозу мозку. Тому дослідження цих порушень та способи впливу на них є актуальним і перспективним.

Механізми окислювального стресу і стан антиоксидантної системи при інсульті досить докладно описано у ряді робіт [1, 13, 25]. Отримано значну кількість даних щодо змін активності ферментів антиоксидантної системи (каталази, супероксиддисмутази, глутатіон пероксидази, глутатіон редуктази) у корі мозку [5, 11, 16]. Стан ферментів антиоксидантної системи можна визначити і у периферійній нервовій системі. Так, найбільш зручним об'єктом для таких досліджень є сідничий нерв, враховуючи його анатомічні характеристики, зокрема розміри. В окремих роботах показано зміни активності ряду ферментів у сідничому нерві, зокрема на тлі цукрового діабету і пошкодження нерва [10, 32]. Проте зміни ферментативної системи цитопротекції у периферійній нервовій системі при антероградній нейродегенерації не досліджувались і тому залишаються недостатньо зрозумілими.

На сьогодні розроблено значну кількість лікарських засобів для боротьби з ішемією, окиснювальним стресом і запаленням при інсульті. Метаболічний вплив кверцетину на мозок щурів з геморагічним інсультом описано у експериментальній роботі [20], але нейропротекторну дію комбінації кверцетину з ліпіном (фосфотидилхоліном) в порівнянні з пірацетамом не досліджено.

Метою роботи було визначити в експерименті зміни активності ферментів антиоксидантної системи у сідничому нерві на тлі церебрального інсульту та введення препаратів (пірацетаму, кверцетину з ліпіном).

Матеріал та методи дослідження. Дослідження проведено 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 (і.р., 50 мг/кг). Розподіл дослідних груп наведено у таблиці 1.

Таблиця 1

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

В роботі використовували лікарські засоби, які можуть впливати на перебіг інсульту і є природними антиоксидантами. Лікарські засоби вводили внутрішньоочеревинно (і.р.) 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 сідничий нерв. Біологічні зразки (100 мг) 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 g протягом 20 хв, за допомогою відомих спектрофотометричних методів з використанням спектрофотометра μ Quant, Bio-Tek, (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 голубий [15].

В експериментальних групах тварин нами досліджена активність ключових ферментів антиоксидантного захисту організму, таких як супероксиддисмутаза (SOD), каталаза, глутатіонпероксидаза (GPx) та глутатіонредуктаза (GR) [19]. Активація SOD є першою ланкою антиоксидантного захисту; цей фермент переводить супероксидний аніон-радикал в електро-нейтральну форму H_2O_2 , подальше перетворення якої до H_2O контролюється каталазою і GPx.

Каталазу (CAT) активність визначали за методом Aebi Н. [2]. Метод вимірювання активності каталази базується на здібності каталази утилізувати пероксид водню, концентрацію якого вимірюють на спектрофотометрі. Активність ферменту виражали в мікромольх утилізованої H_2O_2 на 1 мг білка за 1 хв (мкмоль·хв⁻¹·мг⁻¹).

Активність супероксиддисмутази (SOD) визначали за методом Mirsa Н.Р. [17]. Про активність SOD судили за ступенем інгібування окислення адреналіну. Активність СОД виражали в умовних одиницях з розрахунку на 1 мг білка і 1 хв (од·хв⁻¹·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 наномольх окисненого NADPH на 1 мг білка за 1 хв (нмоль·хв⁻¹·мг⁻¹) [22].

Для підтвердження локалізації ділянки крововиливу проводили гістологічне дослідження фронтальних зрізів мозку. Для цього головний мозок щурів (зразки із яких проби проби 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.

Сідничий нерв виділяли на рівні верхньої третини стегна і поміщали в 10% нейтральний формалін, а потім на кріотомі виготовляли зрізи товщиною 15-20 мкм. Із гістологічних методик забарвлення використовували імпрегнацію азотнокислим сріблом, толуїдиновим синім [12].

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 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 та їх обговорення. Морфологічні дослідження засвідчили структурні зміни сідничого нерва щурів на 10 добу після моделювання геморагічного інсульту у правій гемісфері великого мозку. Метод імпрегнації азотнокислим сріблом дозволив виявити загальний характер цих змін. У правому та лівому нерві встановлено зменшення ступеня імпрегнації нервових волокон, зменшення діаметру окремих волокон, ознаки дегенерації та фрагментації. Одночасно реєстрували активовані ядра нейролемоцитів (рис. 1). Ці зміни є проявом розвитку низхідних нейродегенеративних змін у сідничому нерві та реактивних змін нейролемоцитів у ділянках демієлінізації. Порушень загальної організації сідничого нерва не виявлено, окремі фасцикули нерва чітко реєстрували. Однак, вздовж всього сідничого нерва відмічали значну кількість мастоцитів в стані дегрануляції, що свідчить про місцеві функціональні зміни, зокрема імунні реакції.

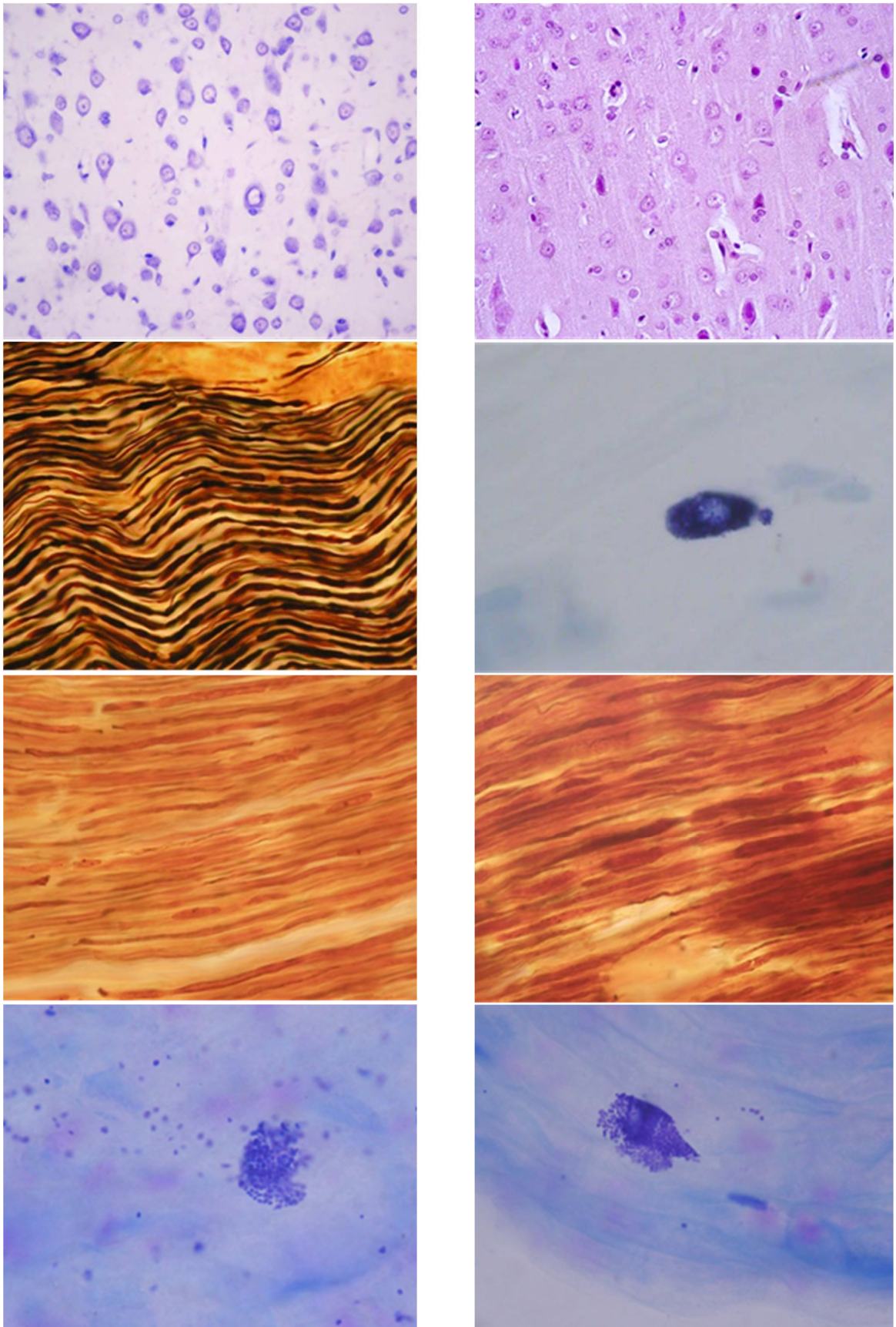


Рис. 1. Морфологічні зміни сідничого нерва шурів на 10 добу після геморагічного інсульту. Примітка: 1 – неушкоджена кора мозку інтактних тварин (за Ніслем, x400); 2 – дегенеративні зміни у корі мозку тварин з інсультом (гематоксилін-еозин, x400); 3 – інтактний сідничий нерв (імпрегнація азотнокислим сріблом, x400); 4 – тканинний базофіл у інтактному нерві (за Ніслем, x1000); 5,6 – дегенерація нервових волокон у нерві тварин з інсультом (імпрегнація азотнокислим сріблом, x1000); 7,8 – активація і дегрануляція тканинних базофілів у нерві тварин з інсультом (за Ніслем, x1000).

Результати біохімічних досліджень свідчать про зміни метаболічних процесів у сідничому нерві на тлі інсульту. Так, у групі 2 встановлено збільшення активності SOD, CAT і GR на 46,7% ($p < 0,05$), 19,9% ($p > 0,05$) і 37,1% ($p > 0,05$) (рис. 2).

У групі 3 і 4 реєстрували аналогічні зміни активності ферментів, але додатково встановлено збільшення активності GPx щодо контрольної групи та групи 2 в середньому на 53-72% ($p < 0,05$). При комбінованому застосуванні лікарських засобів (група 4) рівень активності ферментів, які метаболізують глутатіон (GPx і GR) повернувся до контрольних значень, а SOD не змінився порівняно з групою порівняння (група 2). Середня активність SOD залишилась більшою від контрольних значень на 29,4% ($p < 0,05$). При цьому рівень CAT був навіть менших, ніж у контролю.

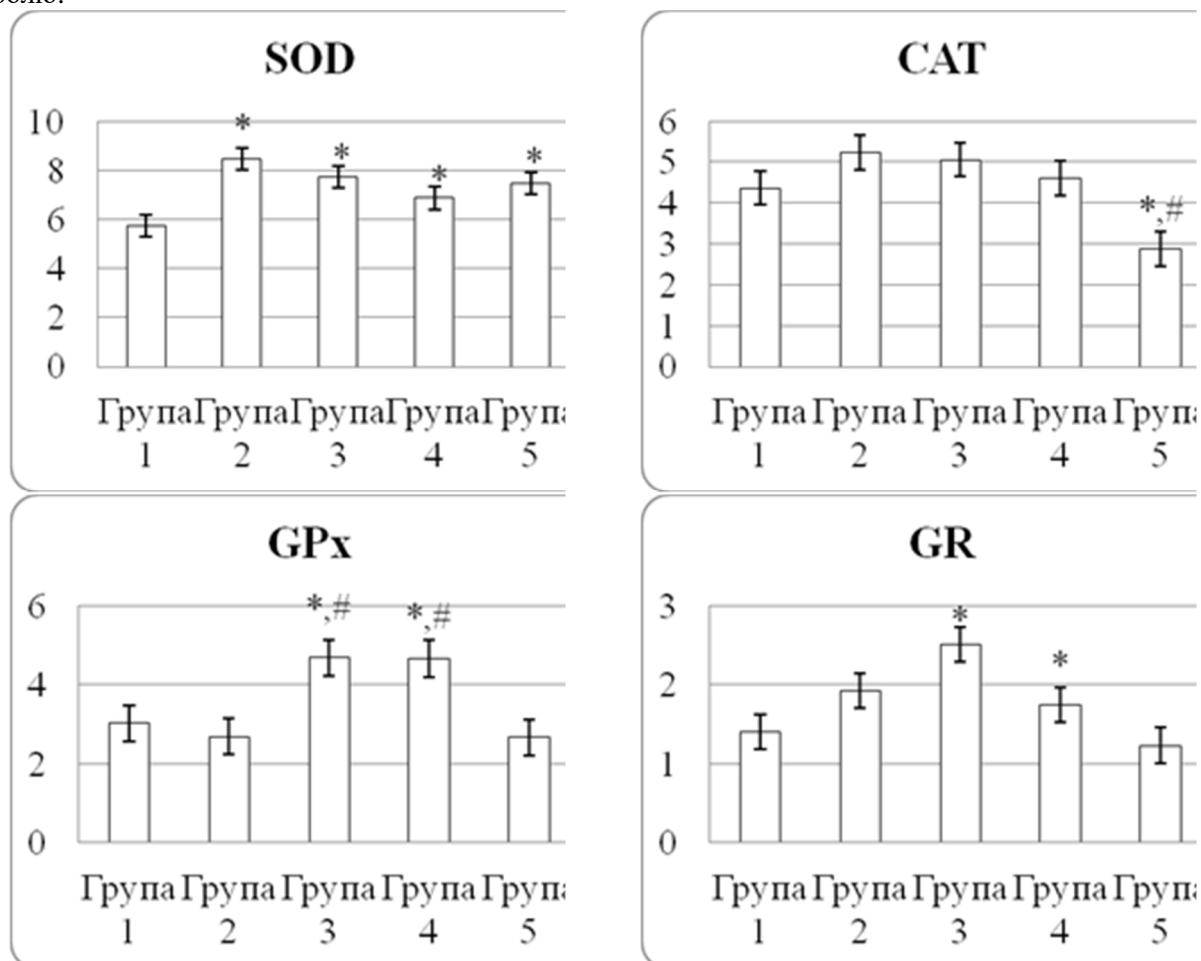


Рис. 2. Біохімічні показники сідничого нерва шурів на 10 добу після геморагічного інсульту. Дані представлені у вигляді $M \pm m$; * - достовірно до контрольної групи (група 1) $p < 0,05$; # - достовірно до групи з інсультом (група 2) $p < 0,05$; ^ - достовірно до групи з інсультом (група 2) $p = 0,05$.

Отримані дані вказують на активацію SOD і тенденцію збільшення активності CAT і GR у сідничому нерві на тлі низхідної нейродегенерації при інсульті. При цьому на тлі застосування пірацетаму та ліпіну з кверцетином відмічено корекцію показників активності ферментів антиоксидантної системи, які метаболізують глутатіон, що вказує на стимуляцію клітинних механізмів на продукцію ендogenous антиоксиданту глутатіону.

Нервові клітини є вкрай чутливими до вільних радикалів через високий вміст ненасичених жирних кислот, які входять до складу сфінголіпідів мієлінових оболонок. Ці сполуки є субстрати для перекисного окислення ліпідів [36], тому швидке накопичення вільних радикалів викликає пошкодження мієліну, ліпідних мембран, загибелі нервових клітин та є причиною розвитку нейродегенеративних змін [30]. У раніше проведених нами дослідженнях встановлено, що локальний інсульт не обмежується лише зоною крововиливу, а структурні порушення прогресують на контралатеральну півкулю мозку [24] та антероградно просуються до сегментів спинного мозку і навіть відмічаються у сідничому нерві [8].

Транснейрональна дегенерація полягає у загибелі постсинаптичного нейрона, але у роботах авторів є суперечливі дані щодо цього явища. Так, дегенеративні зміни відмічали на пізній стадії черепно-мозкової травми між різними зонами кори мозку у межах однієї півкулі [37], у терміни

від 2 тижнів до декількох місяців у стовбурі мозку після гострого ішемічного інсульту [29]. При цьому інші автори вказують на недостатню кількість доказів щоб стверджувати про антероградну дегенерацію у L-5 сегментах спинного мозку [28]. Але в якості загального висновку автори погоджуються з тим, що ці зміни слід розглядати, як відображення прогресивних структурних порушень у результаті ураження пірамідного тракту.

Аналіз цитологічних механізмів розвитку нейродегенерації засвідчив декілька основних медіаторів загибелі нейронів [33]. Різке збільшення внутрішньоклітинного кальцію у постсинаптичному нейронів і поява високої концентрації активних форм кисню викликають деструкцію цитоскелету та ініціюють апоптоз цих клітин [35]. З огляду на те, що важливість збереження рівноваги між реакціями пероксидації та нейтралізації вільних радикалів у головному мозку описано у багатьох роботах [5], цікавим було виявити ці зміни у периферійному нерві, як кінцевій ланці пірамідного тракту.

У експериментальних роботах наведено різні дані щодо змін активності ферментів антиоксидантної системи при інсульті. Вони часто є суперечливими. Зокрема, у одних роботах відмічають зростання активності глутатіон пероксидази, супероксиддисмутази і каталази у головному мозку, а в інших роботах активність ферментів залишалась без змін, або навіть зменшувалась [6, 11, 16]. Навіть на тлі застосування лікарських засобів активність цих систем могла зменшуватись щодо контрольних значень, що залишається остаточно незрозумілим і тому потребує додаткового аналізу. Очевидно, що показники активності залежать від експериментальної моделі (ішемія, ішемія-реперфузія, інсульт) та об'єму ураженої тканини мозку.

Дослідження цих змін є важливим для розуміння та пояснення причин розвитку антероградної нейродегенерації. Зрозумілим є те, що значний об'єм ішемічно ураженої тканини головного мозку та його прогресування призводить до зменшення функціонування метаболічних процесів в органі, в тому числі і зменшенні рівня і активності антиоксидантних ферментів. Зниження активності SOD безпосередньо пов'язано з накопиченням супероксидного аніону. Порушення механізму утилізації цього аніону призводить до утворення іншого окислювача – пероксинітриду (ONOO-), який взаємодіє з білками, окиснюючи їх амінокислотні групи [9]. Прогресуюче накопичення пероксинітриду порушує активний центр самого ферменту, що позначається на його активності. Це доповнюється утворенням інших вільних радикалів, що також впливає на активність інших ферментів антиоксидантного захисту.

Причина зниження активності CAT може бути пояснена аналогічними подіями з СОД. Крім того, оксид азоту може безпосередньо зв'язатися з Fe-порфіриновий комплексом CAT, утворюючи похідні азоту [18].

Робота ферментативної системи обміну глутатіону особливо важлива для розуміння ендогенного потенціалу органів і тканин до протидії механізмів пероксидації. Ендогенний SH-вмісний трипептид глутатіон ефективно захищає клітини від впливу активних форм кисню і тому підтримка достатнього рівня цієї сполуки є необхідною умовою для успішної утилізації вільних радикалів [27]. При цьому глутатіон безпосередньо нейтралізує новоутворені радикали або вторинні похідні від порушеної ферментативної системи, таких як CAT і SOD.

Крім CAT перекис водню утилізує GPx. Активність GPx залежить від вмісту відновленого глутатіону, концентрація якого підтримується рівнем GR, тому нормальне функціонування цих ферментів забезпечує ендогенні цитопротекторні механізми.

Аналіз змін активності ферментів антиоксидантного захисту дозволив визначити терапевтичні мішені та розробити шляхи впливу на них. Так, встановлено, що використання природних антиоксидантів призводить до зменшення рівня окислення і, як наслідок – збільшує кількість структурно неушкоджених антиоксидантних ферментів та їх каталітичну активність [3, 26]. Цей механізм є універсальним для ферментів антиоксидантної системи і шляхів впливу на ці механізми. У нашому дослідженні ми оцінювали зміни активності антиоксидантних ферментів у сідничому нерві при інсульті та на тлі введення лікарських засобів, які можуть впливати на перебіг інсульту – пірацетам, фосфотидилхолін і кверцетин. Їх терапевтичну дію описано у ряді робіт [1, 7, 13, 21, 23, 25].

Фосфотидилхолін є компонентами клітинних мембран і може виступати в якості емульгуючого середовища для транспорту молекул кверцетину до мембран. Крім того фосфотидилхолін також окислюється і є субстратом для активних форм кисню [4]. Застосовуючи фосфотидилхолін можна зменшити концентрацію вільних радикалів, що полегшить роботу кверцетину та ендогенних ферментативних систем. У проведених експериментах встановлено, що комбінація антиоксидантів кверцетину і фосфотидилхоліну істотно вплинула на рівень активності

GPx і GR у сідничому нерві, тобто на ферменти, які пов'язані з глутатіоном. Аналогічний вплив відмічено щодо пірацетаму. У окремих роботах на тлі введення пірацетаму відмічено зміни SOD, CAT і GPx у корі та гіпокампі мозку [34], але цитофізіологічний механізм впливу на периферійні нерви в стані демієлінізації потребує подальшого дослідження.

В якості узагальнюючого висновку слід відзначити, що рівень активності досліджуваних ферментів у групах щурів з інсультом є проявом компенсаторних і ендогенних механізмів цитопротекції у периферійній нервовій системі у відповідь на ураження анатомічних утворень у головному мозку, що формують пірамідний тракт та антероградну нейродегенерацію. Морфологічні та молекулярні механізми антероградної нейродегенерації та способи її попередження є предметом подальших досліджень, але, звичайно, кверцетин і фософтидилхолін, на рівні як і пірацетам, можуть вплинути на нейродегенеративні процеси при інсульті.

Висновки

1. У щурів з геморагічним інсультом на 10-ту добу експерименту встановлено демієлінізацію нервових волокон у сідничому нерві і активацією супероксиддисмутази.
2. Введення щурам з інсультом пірацетаму, кверцетину з ліпіном супроводжувалося збільшенням активності супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази.
3. При комбінованому введенні пірацетаму з ліпіном і кверцетином активність супероксиддисмутази залишався підвищеним, каталази зменшувався, а рівень ферментів обміну глутатіону (глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза) не мав статистично значущої різниці порівняно з контрольною групою.

Перспективи подальших досліджень. Результати біохімічних досліджень можуть бути використані для наукового обґрунтування патогенезу демієлінуючих змін у нервовій системі на тлі інсульту та удосконалення підходів до їх фармакологічної корекції.

Список літератури

1. Aristarkhova S.A. Effect of lecithin on liver microsomal lipid peroxidation / S.A. Aristarkhova, E.B. Burlakova, N.I. Sheludchenko // *Biokhimiia*. – 1979. – Vol. 44(1). – P. 125-129.
2. Aebi H. Catalase in vitro / H. Aebi // *Meth. Enzymol.* – 1984. – Vol. 105. – P. 121-126
3. 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.
4. Awwad I.A. The possible neuroprotective effects of amlodipine, magnesium sulphate and vitamin e against cerebral ischemia and ischemia/ reperfusion injury in albino rats / I.A. Awwad, A.A. Mobasher, A.M.A. Awadallah, R.S. Amin. Egypt // *Soc. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2008. – Vol. 29(2). – P. 429-443.
5. Armogida M. The protective role of catalase against cerebral ischemia in vitro and in vivo / M. Armogida, A. Spalloni, D. Amantea [et al.] // *Int J Immunopathol Pharmacol.* – 2011. – Vol. 24(3). – P. 735-747.
6. Ahmed E. Mitochondrial targeted antioxidant in cerebral ischemia / E. Ahmed, T. Donovan, L. Yujiao, Q. Zhang // *Journal of neurology and neuroscience.* – 2015. – Vol. 6(2). – P. 17.
7. De Deyn P.P. Treatment of acute ischemic stroke with piracetam. Members of the piracetam in acute stroke study (PASS) group / P.P. De Deyn, J.D. Reuck, W. Deberdt, R. Vlietinck, J.M. Orgogozo // *Stroke.* – 1997. – Vol. 28(12). – P. 2347-2352.
8. Drel V. Protective effects of polyphenolics in red wine on diabetes associated oxidative/nitrative stress in streptozotocin diabetic rats / V. Drel, N. Sybirna. // *Cell Biol. Int.* – 2010. – Vol. 34. – P. 1147-1153.
9. Dovgan I.M. Doslidzhennia systemnykh deheneratyvnykh ta demielinizuiuchykh zmin nervovoi systemy za umov lokalnoho tserebralnoho krovovylyvu / I. M. Dovgan, N. O. Melnyk, T. M. Oliinyk, [et al.] // *Visnyk morfolohii.* – 2016. – Vol. 22, № 2. – S. 247-253. Gnatush A. The antioxidant effect of natural polyphenolic complexes of grape wine in the rat kidneys under streptozotocin-induced diabetes mellitus / A. Gnatush, V. Drel, N. Sybirna // *Visn. Lviv. un-tu. Ser. biol.* – 2011. – Vyp. 57. – S. 68-76.
10. İşlekel S. Alterations in superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase activities in experimental cerebral ischemia-reperfusion / S. İşlekel, H. İşlekel, G. Güner, N. Ozdamar // *Res Exp Med (Berl).* – 1999. – Vol. 199(3). – P. 167-176.
11. Kolomyitsev A.K. Bystryiy metod impregnatsii azotokislyim serebrom elementov perifericheskoy nervnoy sistemyi, prigodnyiy dlya parafinovyih i tselloidinyih srezov / A.K. Kolomyitsev, Yu.B. Chaykovskiy, T.L. Tereschenko // *Arhiv anatomii, gistologii i embriologii.* – 1981. – T. 81, № 8. – S. 93-96.
12. 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.
13. Lipton S. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders / S. Lipton, P. Rosenber // *NEJM.* – 1994. – Vol. 330. – P. 613-622.
14. Lei X. Neuroprotective effects of quercetin in a mouse model of brain ischemic/reperfusion injury via anti-apoptotic mechanisms based on the Akt pathway / X. Lei, H. Chao, Z. Zhang [et al.] // *Molecular Medicine Reports.* – 2015. – Vol. 12. – P. 3688-3696.
15. 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.
16. Michowiz S.D. Effect of ischemia induced by middle cerebral artery occlusion on superoxide dismutase activity in rat brain / S.D. Michowiz, E. Melamed, E. Pikarsky, Z.H. Rappaport // *Stroke.* – 1990. – Vol. 21(11). – P. 1613-1617. 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.

17. Montilla P. Red wine prevents brain oxidative stress and nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats / P. Montilla, M. Barcos, M. Munoz [et al.] // *Biochem. Mol. Biol.* – 2005. – Vol. 38, № 5. – P. 539–544.
18. Oliyynik T.M. Metabolichni zmini kori velikogo mozku shchuriv pislya modelyuvannya gemorragichnogo insultu / T.M. Oliyynik, S.I. Savosko, Yu.B. Chaykovskiy // *Visnik problem biologiyi i meditsini.* – 2015. – Vip. 2(3). – S. 193-198.
19. Ozkan S. The effect of piracetam on brain damage and serum nitric oxide levels in dogs submitted to hemorrhagic shock / S. Ozkan, I. Ikizceli, E.M. Sözüer [et al.] // *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg.* – 2008. – Vol. 14(4). – P. 277-283.
20. 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.
21. Rivera F. Reduction of ischemic brain damage and increase of glutathione by a liposomal preparation of quercetin in permanent focal ischemia in rats / F. Rivera, G. Costa, A. Abin [et al.] // *Neurotox Res.* – 2008. – Vol. 13(2). – P. 105-114.
22. Savosko S.I. Features of histostructural changes in rat cerebral cortex in hemorrhagic stroke modeling / S.I. Savosko, J.B. Chaikovskiy, N.Kh. Pogorela [et al.] // *International Journal of Physiology and Pathophysiology.* – 2013. – Vol. 4, № 2. – P. 40.
23. Shi F. Curative effect of soybean lecithin on cerebral infarction / F. Shi, J. Zhou, D. Meng // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* – 2001. – Vol. 81(21). – P. 1301-1303.
24. Shirley R. Oxidative Stress and the Use of Antioxidants in Stroke / R. Shirley, E.N.J. Ord, L.M. Work // *Antioxidants.* – 2014. – Vol. 3(3). – P. 472-501.
25. Sybirna N. O. Doslidzhennia okremykh biokhimichnykh pokaznykiv za umov oksydatyvnoho stresu / N. O. Sybirna, O. M. Maievska, M. L. Barska // *Lviv: Vydavnychiy tsentr LNU im. I. Franka, 2006.* – 60 s.
26. Terao S. Upper motor neuron lesions in stroke patients do not induce anterograde transneuronal degeneration in spinal anterior horn cells Terao S, Li M, Hashizume Y [et al.] // *Stroke.* – 1997. – Vol. 28(12). – P. 2553-2556.
27. Thomalla G. Time course of wallerian degeneration after ischaemic stroke revealed by diffusion tensor imaging / G. Thomalla, V. Glauche, C. Weiller [et al.] // *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry.* – 2005. – Vol. 76. – P. 266-268.
28. Uttara B. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options / B. Uttara, A.V. Singh, P. Zamboni [et al.] // *Current Neuropharmacology.* – 2009. – Vol. 7(1). – P. 65-74.
29. Van Den Bosch L. The role of excitotoxicity in the pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis / L. Van Den Bosch, P. Van Damme, E. Bogaert [et al.] // *Biochim Biophys Acta.* – 2006. – Vol. 1762(11-12). – P. 1068-1082.
30. Varija D. Prolonged constriction of sciatic nerve affecting oxidative stressors and antioxidant enzymes in rat / D. Varija, K. P. Kumar, K. P. Reddy [et al.] // *Indian J Med Res.* – 2009. – Vol. 129. – P. 587-592.
31. Wang J. T. Axon degeneration: molecular mechanisms of a self-destruction pathway / J. T. Wang, Z. A. Medress, B. A. Barres // *J Cell Biol Jan.* – 2012. – Vol. 196(1). – P. 7-18.
32. Wattanathorn J. Zingiber officinale Mitigates Brain Damage and Improves Memory Impairment in Focal Cerebral Ischemic Rat / J. Wattanathorn, J. Jittiwat, T. Tongun [et al.] // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM.* – 2011;2011:429505.
33. You Y. Anterograde degeneration along the visual pathway after optic nerve injury / Y. You, V.K. Gupta, S.L. Graham [et al.] // *PLoS ONE.* – 2012. – P. 7(12): e52061.
34. Yurkova I.L. Free-radical reactions of glycerolipids and sphingolipids / I. L. Yurkova // *Russian Chemical Reviews.* – 2012. – Vol. 81, Issue 2. – P. 175-190.
35. Zappoli R. Frontal and parietal cortical ablations and diaschisis-like effects on auditory neurocognitive potentials evocable from apparently intact ipsilateral association areas in humans: five case reports / R. Zappoli, F. Zappoli, A. Picchicchio [et al.] // *Int J Psychophysiol.* – 2002. – Vol. 44(2). – P. 117-142.

Реферати

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В СЕДАЛИЩНОМ НЕРВЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГЕМОРАГИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

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

Исследованы биохимические изменения в седалищном нерве лабораторных крыс в условиях гемorragического инсульта и введения лекарственных средств (пирacetam, кверцетин, липин). Установлено демиелинизацию в седалищном нерве крыс с инсультом и увеличение активности супероксиддисмутазы. Введение пирacetama, липина и кверцетина достоверно восстанавливало функционирование системы ферментов обмена глутатиона (глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза).

Ключевые слова: гемorragический инсульт, мозг, седалищный нерв, демиелинизация, супероксиддисмутазы, каталаза, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза.

Стаття надійшла 8.08.2017 р.

THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN RAT SCIATIC NERVE IN SIMULATED HEMORRHAGIC STROKE

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

The biochemical changes in the sciatic nerve in laboratory rats under hemorrhagic stroke and administering drugs (piracetam, quercetin, lipin) were studied. The demyelination and increased superoxide dismutase activity were established in the rat sciatic nerve following a stroke. The piracetam, lipin and quercetin introduction significantly restored the functioning of the enzyme system of glutathione metabolism (glutathione peroxidase, glutathione reductase).

Key words: hemorrhagic stroke, brain, sciatic nerve, demyelination, superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase.

Рецензент Чайковський Ю.Б.