

АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Ташкентская медицинская академия, Ургенчский филиал (г.Ургенч, Узбекистан)

Данная работа является фрагментом НИР, № гос. регистрации 054067.

Вступление. Ишемия головного мозга и его осложнение – инсульт, в настоящее время, одним из основных проблем неврологии [4]. Ишемия головного мозга сопровождается не только гипоксией тканей головного мозга, но и усилением генерации активных форм кислорода, окисляющих макромолекулы липидной и белковой природы и образованию низкомолекулярных продуктов их расщепления. Вымывание низкомолекулярных продуктов в периферическую кровь приводит к токсическому поражению внутренних органов, таких как печень и почки, что сопровождается усиленным функционированием детоксикационной системы этих органов. Ишемия головного мозга сопровождается перераспределением кислорода в организме в пользу головного мозга, что приводит к снижению парциального давления кислорода во внутренних органах, в частности в печени. Исследований, посвященных изменениям в антиоксидантной системе мембранных компонентов печени, при экспериментальном ишемическом инсульте весьма ограничены.

Целью настоящего исследования явилось изучение антиокислительной системы гепатоцитов в динамике экспериментальной ишемии и реперфузии головного мозга.

Объект и методы исследования. Работа выполнялась на беспородных крысах-самцах весом 120-130г, находившихся на стандартном рационе вивария. Модель нарушения мозгового кровообращения - ишемии воспроизводилась путем временного клипирования правого ствола безымянной артерии на 20 минут. После устранения клипсы рану послойно ушивали. Подтверждение воспроизведения ишемии осуществлялась морфологическими методами исследования (окраска по методу Ниссля). Контролем служили животные, которым

вскрывали безымянную артерию с последующим ушиванием раны (ложнооперированные животные в количестве 6-8 штук на каждый срок эксперимента). Интактную группу составили животные той же возрастной группы, находившихся в аналогичных условиях вивария (n=9).

Содержание животных и эксперименты проводились согласно положений «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985).

Митохондриальная и микросомальная фракции из гомогената печени разделяли методом дифференциального центрифугирования. Активность супероксиддисмутазы определяли по методу Misra P.H. et al., [9]. и выражали в процентах торможения реакции автоокисления адреналина в щелочной среде (Т%), активность каталазы – по методу Ко-ролюк М.А. и др., [3]. и выражали в ммоль H₂O₂/мг белка*мин. Белок определяли методом Lowry O.H. et al., (1951). Исследования проведены на 1, 3, 6, 12, 24 часа, а также на 3 и 10 сутки после операции. На каждый срок исследования использованы по 7-8 крыс. Статистическую обработку полученных данных, проводили в компьютере с пакетом программ для математической обработки.

Результаты исследований и их обсуждение. Сравнение активности ферментов каталазы и СОД в МХ и МС фракциях печени группы ложнооперированных животных в динамике ишемии реперфузии головного мозга показало отсутствие достоверных изменений по срокам исследования, а также между аналогичными показателями группы интактных крыс, в связи с чем данные результаты объединены как контрольные. Изучение активности ферментов антирадикальной и антипероксидной защиты при ишемии реперфузии показали существенные изменения в активности ферментов антипероксидной и антирадикальной систем в субклеточных фракциях

Таблица 1

Активность СОД в динамике ишемии - реперфузии головного мозга, (M±m)

СОД	Кон-ль	1 ч	3 ч	6 ч	12 ч	24 ч	3 суток	10 суток
МС печени	85,3±4,1	40,2±1,9*	31,0±3,0*	26,4±2,8*	28,0±2,2*	29,1±1,8*	33,2±2,7*	37,0±3,3*
МХ печени	90,0±4,4	87,2±2,2	69,9±1,7*	65,1±1,3*	68,0±1,4*	69,0±1,4*	71,2±1,1*	71,9±2,1*

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю.

Активність каталази в динаміці ішемії-реперфузії головного мозгу, $M \pm m$

Ката-лаза	Конт-роль	1 ч	3 ч	6 ч	12 ч	24ч	3 суток	10 суток
МС печени	21,2±0,5	24,0±0,7	17,9±0,3*	17,0±0,6*	17,5±0,6*	18,0±0,6*	18,4±0,3*	18,8±0,6
МХ печени	62,3±1,3	78,5±2,0*	56,3±1,8*	51,0±2,2*	51,8±2,0*	57,1±1,9*	55,3±1,9	58,4±1,6

Примечание: * - достоверно по отношению к контролю.

печени (табл. 1). В ранние сроки ишемии реперфузии обнаружено резкое снижение активности СОД микросомальной фракции (МС) гепатоцитов, имеющий экстремальный характер с минимумом после 6 часа после реперфузии. Уменьшение активности фермента антирадикальной защиты было в 3,25 раза по сравнению с контролем. В митохондриальной фракции снижение активности было менее выраженным и через 6 часов после реперфузии было в 1,38 раза меньше показателя контроля.

При клинических исследованиях у новорожденных с гипоксически ишемической энцефалопатией в крови обнаружено увеличение активности СОД, сопровождавшееся снижением активности каталазы [7]. Экспериментальные исследования активности СОД в МХ фракции печени крыс при ишемии реперфузии головного мозга показал временную зависимость изменений от сроков реперфузии [1]. Обнаружены определенные временные параметры морфологических изменений в печени после ишемии реперфузии головного мозга в эксперименте [5].

В более поздние сроки исследования (3, 10 суток) отмечалось незначительное увеличение активности СОД ($P < 0,05$) МС фракции печени, активность которой была ниже уровня контроля в 2,56-2,31 раза.

Ишемия с последующей реперфузией приводит к изменениям в системе антирадикальной и антипероксидной активности организма, выраженные как в ткани головного мозга по данным литературы [8], так и в печени (табл. 2). СОД и каталаза, являются мощным антиокислительным тандемом, обеспечивают защиту от супероксиданиона и перекиси водорода, образующихся как внутри клеток, так и во внеклеточном пространстве, поддерживая оптимальный для жизнедеятельности уровень генерации активных форм кислорода (АФК). При этом защита клеточных структур от повреждающего действия АФК, продуцирующихся внутри клетки (эндогенные АФК) и воздействующих извне (экзогенные АФК) организуется различным образом [8].

Активность каталазы в МС фракции изменялась волнообразно: с незначительным увеличением через 1 час после реперфузии и снижением активности в 1,18-1,25 раза относительно контроля через 3-6 часов после ишемии реперфузии, причем, на 3 - 10 сутки наблюдалось восстановление активности фермента антипероксидной защиты. Следовательно, в МС фракции печени изменения активности СОД и каталазы носят однонаправленный характер, и отличаются выраженностью сдвигов.

В МХ фракции наблюдалась аналогичная тенденция, и через 6 часов после реперфузии обнаружена минимальная активность СОД, которая была ниже контроля в 1,38 раза. В последующие сроки исследования отмечалось незначительное увеличение активности СОД ($P > 0,05$), которая к 10 суткам была ниже уровня контроля в 1,25 раза. Активность каталазы в МХ фракции печени после 1 часа реперфузии увеличивалась в 1,26 раза относительно контроля (табл. 2).

В последующие сроки отмечалось снижение активности каталазы с минимумом к 6 часам реперфузии (в 1,22 раза относительно контроля, табл. 2). В последующие сроки исследования уровень активности каталазы достигала контроля, значения, которых были в статистически недостоверных пределах.

Рассматривая механизмы изменений активности ферментов антирадикальной и антипероксидной защиты печени можно отметить, одним из ведущих причин, видимо, является перераспределение кислорода в организме экспериментального животного в пользу пораженного органа. По мнению Петрухина А.С. в ответ на гипоксию в тканях мозга повышается скорость кровотока с увеличением минутного объема, а общий кровоток в первые часы перераспределяется так, чтобы сохранить обеспечение кислородом головной мозг, «обкрадывая» внутренние органы [2]. Определенно, происходит снижение парциального давления в печени, что, видимо и явилось причиной активации образования АФК и соответствующему сдвигу в антиокислительной системе МС и МХ фракций гепатоцитов [6] в различные сроки ишемии реперфузии головного мозга. Видимо, морфологические изменения в печени обнаруженные авторами [5] в ранние сроки ишемии реперфузии головного мозга связано со снижением активности антипероксидной и антирадикальной систем защиты в первые 6 часов после реперфузии

Выводы.

1. В микросомальной фракции печени после ишемии реперфузии головного мозга наблюдалось снижение активности каталазы и супероксиддисмутазы.

2. В митохондриальной фракции печени активность ферментов антипероксидной и антирадикальной защиты снижалось с наибольшим отклонением через 6 часов после реперфузии.

Перспективы дальнейших исследований.

Планируется установить морфологические изменения в печени в отдаленные сроки ишемии реперфузии головного мозга.

Список литературы

1. Ибрагимов К.У. Состояние микросомальной и митохондриальной фракций печени при экспериментальной ишемии мозга у крыс / К.У. Ибрагимов, З.Р. Хайбуллина // Вестник РГМУ. Журнал Всероссийского Государственного медицинского университета. – 2009. - №3. - С. 243.
2. Клиническая детская неврология / Под ред. А.С. Петрухина : Руководство. - М. : ОАО «Изд-тво «Медицина», 2008. - 1088 с.
3. Королюк М.А. Метод определения каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. - №1. - С. 16-19.
4. Пирадов М.А. Интенсивная терапия инсульта: взгляд на проблему / М.А. Пирадов // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2007. - №1(1). - С. 17–22.
5. Сайфиева Х.Д. Морфологические изменения в печени при экспериментальном инсульте / Х.Д. Сайфиева, У.К. Ибрагимов // Вестник РГМУ. Журнал Всероссийского Государственного медицинского университета. – 2009. - №3. - С. 65 - 66.
6. Хайбуллина З.Р. Известные молекулярные механизмы нейронального повреждения при гипоксии мозга плода, обзорная статья / З.Р. Хайбуллина, У.К. Ибрагимова // Медицинский журнал Узбекистана. – 2009. - №2. - С.64-72.
7. Хайбуллина З.Р. Реакция клеточных элементов крови на общую гипоксию организма З.Р. Хайбуллина, У.К. Ибрагимов, С.Р. Салихова // Патология (Ташкент).-2010. - №1. - С. 27 – 36.
8. Хайбуллина З.Р., Современные концепции механизма действия антиоксидантов и некоторые аспекты использования кислорода в живых клетках / З.Р. Хайбуллина, У.К. Ибрагимов, В.П. Аскаръянц // Вестник врача общей практики (Самарканд). – 2010. - № 3-4. - С. 100-102.
9. Mirsa P.H. The role of superoxide anion in the antioxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase / P.H. Mirsa, I. Fridovich // J. Biol. Chem. - 1972. - Vol. 247, №10. - P. 3170-3175.

УДК 616.053.-61601254

АНТИОКСИДАНТНА СИСТЕМА ГЕПАТОЦИТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІШЕМІЧНОМУ ІНСУЛЬТІ

Машаріпов С.М., Курбанова Н.Н.

Резюме. Вивчена антиоксидантна система субклітинних фракцій гепатоцитів при ішемії реперфузії головного мозку щурів. Встановлено найбільше зниження активності супероксиддисмутази й каталази в мітохондріальній і микросомальній фракціях печінки через 6 годин після реперфузії. До 3 і 10 добам виявлена тенденція до відновлення супероксиддисмутази й нормалізація активності каталази.

Ключові слова: ішемія головного мозку, мітохондріальна, микросомальна фракції гепатоцитів, супероксиддисмутаза, каталаза.

УДК 616.053.-61601254

АНТИОКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИШЕМИЧЕСКОМ ИНСУЛЬТЕ

Машарипов С.М., Курбанова Н.Н.

Резюме. Изучена антиоксидантная система субклеточных фракций гепатоцитов при ишемии реперфузии головного мозга крыс. Установлено наибольшее снижение активности супероксиддисмутаза и каталазы в митохондриальной и микросомальной фракциях печени через 6 часов после реперфузии. К 3 и 10 суткам обнаружена тенденция к восстановлению супероксиддисмутаза и нормализация активности каталазы.

Ключевые слова: ишемия головного мозга, митохондриальная, микросомальная фракции гепатоцитов, супероксиддисмутаза, каталаза.

UDC 616.053.-61601254

ANTIOXIDANT SYSTEM OF HEPATOCYTES AFTER EXPERIMENTAL STROKE.

Masharipov S.M., Khurbanova N.N.

Summary. Antioxidant system of hepatocytes subcellular fraction when ischemia reperfusion of rats brain was studied. The greatest decrease of superoxide dismutase and catalase activity in mitochondrial and microsomal fractions of liver 6 hours after reperfusion was established. To the 3 d and 10 th day a tendency to the rehabilitation of superoxide dismutase and normalization of catalase activity was determined.

Key words: stroke, mitochondrial, microsomal fractions of hepatocytes, superoxide dismutase, catalase.

Стаття надійшла 23.05.12 р.

Рецензент – проф. Литвиненко Н.В.