

## ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ СЕЛЕНУ НА ПОКАЗНИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ЛАНКИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТВАРИН З ГОСТРОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (м. Київ)

<sup>2</sup>Запорізький медичний університет (м. Запоріжжя)

gorchakovan@ukr.net

Дана робота є фрагментом НДР «Експериментальне обґрунтування комбінованого застосування кардіотропних препаратів», № державної реєстрації 0111U009417.

**Вступ.** Препарати селену викликають інтерес у дослідників та клініцистів завдяки широкому спектру своїх біохімічних властивостей, ролі як компоненту ряду ферментних селенопротеїнів, антиоксидантним властивостям, участі у регуляції імунної та інших важливих систем організму [4,7,9]. У медичній практиці головним чином призначають селеніт натрію (селеназу) та йодинат селену [3]. Разом з тим певну цікавість представляють такі його похідні як селеніт цистеїну та селеніт метіоніну, які можуть бути більш активними антиоксидантами ніж селеніт натрію (селеназа). Відомо, що при гострому порушенні мозкового кровообігу (ГПМК) патобіохімічні порушення супроводжуються активацією вільнорадикального та перекисного окиснення ліпідів і значними змінами ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи у тканинах головного мозку і тому завдяки модулюючій дії селену його препарати можуть мати благодійний вплив на ферментативну ланку тіол-дисульфідної системи [1,2,6,8].

**Мета дослідження.** Визначити порівняльний вплив препаратів селену: селеніт-цистеїну, селеніт-метіоніну та селенази на компоненти ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи в тканинах головного мозку щурів з гострою недостатністю мозкового кровообігу.

**Об'єкт і методи дослідження.** Експеримент проведено на 40 самцях щурів лінії Вістар масою 180-220 г, яким під тіопенталовим наркозом проводили двобічну оклюзію загальних сонних артерій. При цьому спостерігається падіння мозкового кровообігу на 50-60% з поступовим відновленням до 85-90% вихідного рівня через 2-3 дні за рахунок компенсаторного включення колатерального кровообігу [5].

Уся експериментальна частина дослідження була проведена згідно з вимогами міжнародних принципів «Європейської конвенції щодо захисту хребет-

них тварин, які використовуються в експерименті та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986 р.) та відповідного Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3446-IV від 21.02.2006 р., м. Київ).

Препарати: селеніт натрію (50 мкг/кг), селеніт цистеїну (30 мкг/кг), селеніт метіоніну (30 мкг/кг) вводили щурам внутрішньоочеревинно 1 раз на добу протягом 4 днів. Для біохімічних досліджень з головного мозку видалляли кров, а також відокремлювали від мозкової оболонки та занурювали досліджувані шматочки у рідкий азот. Ці шматочки подрібнювали та гомогенізували в 10-кратному об'ємі середовища при t 2°C, що містило (в ммольях): сахарози 250, трис-HCL-буферу – 20, ЕДТА – 1 (рН 7,4). Співвідношення компонентів тіол-дисульфідної системи в умовах ішемії головного мозку є вирішальним фактором у розвитку каскаду патобіохімічних реакцій, формуванні мітохондріальної дисфункції, загибелі клітини. Тому при оцінці нейропротективних властивостей препаратів селену нами визначена їх здатність впливати на ферментативну ланку тіол-дисульфідної рівноваги при моделюванні гострого порушення мозкового кровообігу. До ключових ферментів, регулюючих тіол-дисульфідну рівновагу, належить глутатіонредуктаза (ГР), яка відновлює дисульфідний зв'язок окисненого глутатіону до його сульфгідрильної форми за рахунок енергії НАДФ-Н, що утворюється в пентозному циклі. Визначення активності ГР засновано на вимірюванні швидкості окиснення НАДФ-Н, яке реєструється спектрофотометричним методом за зменшенням оптичної щільності при довжині хвилі 340 нм. Глутатіон-S-трансфераза (Г-S-T) є одним з головних ферментів тіол-дисульфідної системи, може нейтралізувати токсичний вплив різних гідрофобних та електрофільних сполук завдяки їх кон'югації з відновленим глутатіоном. Активність Г-S-T визначають за швидкістю утворення глутатіон-5 кон'югатів між глутатіоном та 1-хлор-2,4-нітробензолом. Підвищення концентрації кон'югатів під час реакції реєструється спектрофотометрично при довжині хвилі 340 нм. Глутатіонпероксидаза

**Вплив препаратів селену на стан ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу**

(ГПР) – один з головних ферментів руйнування активних форм кисню, ГПР відновлює за допомогою відновленого глутатіону гідроперекис трет-бутилу. Залишок відновленого трет-бутилу визначають за інтенсивністю забарвлення з натрію нітропрусидом, що має максимум поглинання при довжині хвилі 540 нм [5, 10, 11].

Аналіз нормального розподілення оцінювали за критеріями Колмагорова-Смірнова (Д) і Lilliefors, а також Shapiro-Wilk. У випадку розподілу, що відрізнявся від нормального або аналізу порядкових змінних застосовували U-критерій Манн-Whitney. Результати дослідження обробляли із застосуванням статистичного пакету ліцензійної програми «STATISTICA® for Windows 6.0», а також «Microsoft Excel». Для всіх видів аналізу статистично достовірними вважали різниці при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** У щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу порівняно з контролем зареєстровано пониження активності ГПР та ГР на 77% та 73,3% відповідно (табл.). Крім того спостерігалось також падіння активності Г-S-T на 61%.

Падіння активності вищезазначених ферментів вважається одним з ранніх ознак порушення захисту клітин при ішемічних ураженнях мозкової тканини.

Проведення експериментальної церебропротективної терапії препаратами селену сприяє пониженому інтенсивності оксидативного стресу у нервовій тканині при гострому порушенні мозкового кровообігу. Підвищення рівня антиоксидантних ферментів в ГПР та ГР може захистити мозкову тканину від активних форм кисню та продуктів пероксидації, дозволяє відновити рівновагу та поліпшити редокс регуляцію. Так, селеніт цистеїну відновлює активність ГР в 3,1 рази, селеніт метіоніну та селеназа – в 1,9 рази. ГПР підвищується під впливом селеніту цистеїну в 3,4 рази, селеніту метіоніну – в 2,9 рази, селенази – в 2,2 рази. Г-S-T зростає при введенні селеніту цистеїну в 2,2 рази, селеніту метіоніну – в 1,9 рази, селенази – в 1,8 рази. Незважаючи на відновлювальний вплив всіх препаратів селену на ферментативну ланку тіол-дисульфідної системи, ступінь вираженості ефекту кожного засобу різний. Найбільш суттєві зміни спостерігалися при введенні селеніту цистеїну і селеніту метіоніну, найменш виражені зміни відмічені у групі тварин, яким уведили

Умови експерименту	ГР, ум. од. / хв х г тканин	ГПР, ум. од. / хв х г тканин	Г-S-T, ум. од. / хв х г тканин
Контроль	19,5 ± 1,35	61,8 ± 2,9	15,8 ± 1,07
ГПМК	5,2 ± 0,72*	14,2 ± 1,54*	6,1 ± 0,97*
ГПМК + селеніт цистеїну	16,2 ± 0,71**	47,5 ± 1,75**	13,5 ± 1,22**
ГПМК + селеніт метіоніну	14,8 ± 0,74**	41,9 ± 2,24**	11,7 ± 0,88**
ГПМК + селеназа	10,01 ± 0,85**	31,7 ± 2,19**	10,8 ± 1,12**

**Примітка:** \*  $p < 0,005$  зміни достовірні порівняно з групою контролю; \*\*  $p < 0,05$  зміни достовірні порівняно з групою щурів з ГПМК.

селеназу. При введенні селеніту цистеїну був найбільший ефект стосовно показників ферментативної ланки тіол-дисульфідної ланки щурів, який у подальших дослідженнях може бути пов'язаний з оптимальним співвідношенням між рівнями відновлених і окислених тіольних груп. Важливим є факт ствердження впливу всіх препаратів селену на активність антиоксидантних ферментів, що стверджує наявність в них нейропротекторної дії.

**Висновки**

1. В умовах ГПМК у мозковій тканині щурів спостерігається пониження активності ГПР на 70%, ГР на 73,3%, Г-S-T на 61%.

2. Препарати селену відновлюють показники ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи у щурів з ГПМК. Селеніт цистеїну відновлює активність ГР в 3,1 рази, ГПР в 3,4 рази, Г-S-T в 1,8 раз; селеніт метіоніну підвищує активність ГР в 1,9 раз, ГПР в 2,9 і Г-S-T в 1,9 раз; селеназа відновлює активність ГР в 1,9 раз, ГПР в 2,2 рази, Г-S-T в 1,8 раз.

**Перспектива подальших досліджень.** У подальшому планується встановити порівняльний вплив селеніту цистеїну, селеніту метіоніну, селенази на показники неферментативної ланки тіол-дисульфідної системи у тканинах головного мозку тварин з гострою гнедостатністю мозкового кровообігу.

**Література**

1. Беленичев И. Ф. Ферментативное и неферментативное звено тиол-дисульфидной системы в головном мозге экспериментальных животных с церебральной ишемией : эффекты селеназы / И. Ф. Беленичев, Е. С. Литвиненко // Сучасні аспекти нейрофармакології. – 2015. – Vol. 42, No. 1. – P. 13-18.
2. Беленичев И. Ф. Фармакологическая модуляция соотношений NO и тиолдисульфидной системы – новое направление нейропротекции / И. Ф. Беленичев, С. В. Павлов, Н. В. Бухтиярова [et al.] // Медицина неотложных состояний. – 2015. – Vol. 2, No. 27. – P. 1-9.
3. Поготова Г. А. Дія селенази на показники енергетичного обміну та прооксидантно-оксидантної системи в органах щурів при токсичному гепатиті / Г. А. Пготова, Н. О. Горчакова, І. Ф. Беленічев, І. С. Чекман // Вісник проблем біол. і мед. – 2014. – Т. 2, Вип. 3. – С. 216-220.

4. Степанов Ю. М. Селен как микроэлемент: характеристика и значение для человека / Ю. М. Степанов, В. В. Белицкий, С. В. Косинская // Сучасна гастроентерологія. – 2012. – № 3. – P. 91-96.
5. Чекман И. С. Доклиническое изучение специфической активности потенциальных протективных препаратов. Методические рекомендации / И. С. Чекман, Ю. И. Губский, И. Ф. Беленичев [и др.]. – К, 2010. – 80 с.
6. Burk R. F. Selenoprotein p and apolipoprotein e receptor-2 interact at the blood-brain barrier and also within the brain to maintain an essential selenium pool that protects against neurodegeneration / R. F. Burk, K. E. Hill, A. K. Motley [et al.] // The FASEB Journal. – 2014. – Vol. 28, No. 8. – P. 3579-3588.
7. Colangelo L. A. Selenium exposure and depressive symptoms: the coronary artery risk development in young adults trace element study / L. A. Colangelo, K. He, M. A. Whooley [et al.] // Neurotoxicology. – 2014. – Vol. 41. – P. 167-174.
8. Mehta S. L. Selenium preserves mitochondrial function, stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia / S. L. Mehta, S. Kumari, N. Mendeleev, P. A. Li // BMC Neuroscience. – 2012. – Vol. 13. – P. 79.
9. Rayman M. P. The importance of selenium to human health / M. P. Rayman // The Lancet. – 2015. – Vol. 356, No. 9225. – P. 233-241.
10. Sedlak J. Estimation of total protein – sound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Elman reagent / J. Sedlak, H. Lindsay, I. Anul // Biochem. – 1968. – vol 25. – P. 192-195;
11. Yegen B. Effect of cold-resistant stress on glutathione and lipid peroxide levels in the liver and glandular stomach of rats / B. Yegen, A. Dedeoglu, I. Aynac // Pharmacol Research – 1990. – vol. 22, №1. – P. 45-48.

УДК 615.2-72.4. +615.244

### **ВПЛИВ ПРЕПАРАТІВ СЕЛЕНУ НА ПОКАЗНИКИ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ ЛАНКИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ У ТКАНИНАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ТВАРИН З ГОСТРОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ**

**Ноцек М. С., Горчакова Н. О., Беленічев І. Ф., Пузыренко А. М., Чекман І. С.**

**Резюме.** При гострому порушенні мозкового кровообігу в тканинах мозку щурів на четвертий день спостерігається: зниження активності глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази. Препарати селену відновлюють показники ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи у щурів з гострим порушенням мозкового кровообігу. Селеніт цистеїну, селеніт метіоніну, селеніт натрію диференційовано відновлюють показники ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи у щурів у тканинах мозку (активність глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази, глутатіон-S-трансферази).

**Ключові слова:** селеніт цистеїну, селеніт метіоніну, селеніт натрію, гостре порушення мозкового кровообігу, тіол-дисульфідна система.

УДК 615.2-72.4. +615.244

### **ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ СЕЛЕНА НА ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ЗВЕНА ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ В ТКАНЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЖИВОТНЫХ С ОСТРОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ**

**Ноцек Н. С., Горчакова Н. О., Беленичев И. Ф., Пузыренко А. М., Чекман И. С.**

**Резюме.** При остром нарушении мозгового кровообращения в тканях мозга крыс на четвертый день наблюдается: понижение активности глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы. Препараты селена восстанавливают показатели ферментативного звена тиол-дисульфидной системы у крыс с острым нарушением мозгового кровообращения. Селенит цистеина, селенит метионина, селенит натрия дифференцированно восстанавливают показатели ферментативного звена тиол-дисульфидной системы у крыс в тканях мозга (активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатион-S-трансферазы).

**Ключевые слова:** селенит цистеина, селенит метионина, селенит натрия, острое нарушение мозгового кровообращения, тиол-дисульфидная система.

UDC 615.2-72.4. +615.244

### **THE IMPACT OF SELENIUM DRUGS ON THE PERFORMANCE OF ENZYME LINK OF THIOL DISULFIDE SYSTEM IN THE BRAIN TISSUE OF ANIMALS WITH ACUTE CEREBROVASCULAR INSUFFICIENCY**

**Notsek M. S., Gorchakova N. O., Belenichev I. F., Puzyrenko A. M., Chekman Y. S.**

**Abstract. Introduction.** Selenium drugs are in favor of researchers and clinicians due to the wide range of their biochemical properties. Sodium selenite (selenaza) and selenium iodine are used in medical practice today. However, its derivatives such as cysteine selenite and methionine selenite could be more active antioxidants than sodium selenite. It is known that in case of acute cerebrovascular event (ACE) pathobiochemical violations involve activation of free radical and lipid peroxidation and significant changes in enzymatic link of thiol – disulfide system in the brain tissue and therefore his drugs may have a favorable effect on enzymatic link of thiol – disulfide system through modulating action of selenium.

**Aim of the investigation.** To compare the influence of selenium drugs: cysteine selenite, methionine selenite and sodium selenite on components of enzymatic links of thiol disulfide system in the brain tissue of rats with acute cerebral circulatory insufficiency.

**Objects and methods.** The experiments were conducted on 40 male Wistar rats. Bilateral occlusion of common carotid arteries was performed under general thiopental anesthesia. Drugs: sodium selenite (50 mg / kg), cysteine

selenite (30 mg / kg), methionine selenite (30 mg / kg) were administered intraperitoneally to rats 1 time per day for 4 days.

Determination of the glutathione reductase is based on measuring the rate of NADP<sup>+</sup> oxidation that is registered with spectrophotometer by the decreasing of optical density. Glutathione S-transferase (GST) determined by the rate of formation of glutathione-5 conjugates between glutathione and 1-chloro-2,4-nitrobenzene. Increased concentrations of conjugates during the reaction registered with spectrophotometer. Glutathione peroxidase restores tert-butyl hydroperoxide by means of restored glutathione. The residue of restored tert-butyl determined by the intensity of color with sodium nitroprusside.

*Result results and their discussion.* Experimental cephaloprotective therapy with selenium drugs lowering the intensity of oxidative stress in the nervous tissue during ACE. Increased levels of antioxidant enzymes in the GPR and GR can protect brain tissue from active oxygen forms and peroxidation products, can restore balance and improve redox regulation. Cysteine selenite restores the activity of GR in 3.1 times, methionine selenite and selenaza – in 1,9 times. GPR increases in 3,4 times under the influence of cysteine selenite, methionine selenite – in 2,9 times, selenaza – in 2,2 times. GST increases with the administration of cysteine selenite in 2.2 times, methionine selenite – in 1.9 times, selenaza – in 1.8 times. The most significant changes were observed during administration of cysteine selenite and methionine selenite, least marked changes observed in the group of animals with selenaza. Cysteine selenite has the most significant effect on enzymic link of thiol disulfide system of rats.

*Conclusions:* it was observed decrease of activity of GPR by 70%, GR by 73,3%, GST by 61% in case of ACE in brain tissue of rats. Selenium drugs restore rates of enzymatic link of thiol-disulfide system in rats with ACE.

**Keywords:** sodium selenite, cysteine selenite, methionine selenite, acute cerebral circulatory event, thiol – disulfide system.

*Рецензент – проф. Дев'яткіна Т. О.*

*Стаття надійшла 29.10.2015 року*