

before the transfer of patients to intensive care ward, 60 min and 120 min after surgery. Evaluation of pain by visual analogue scale (VAS) was performed on the above-mentioned stages and in 6 hours after surgery. The time till the first "saving" injection of analgesic and its quantity during first 24 hours of postoperative period was observed. Incidence of dyspnea in the recovery room was controlled during two hours. Statistical analysis was provided with a program Statistica for Windows version 6.0.

Demographic and clinical data of the patients did not significantly differ between two groups ($p > 0.05$). At all the stages of the research in group Dex 1/0.5 AT was 10-15% lower than in group Dex 0 ($p < 0.05$) and values of the heart rate didn't differ between the groups ($p > 0.05$). For analgesia during surgery fentanyl was used 1.5 times less in group Dex 1/0.5 than in group Dex 0 ($p < 0.05$). For bradycardia and hypotension correction atropine and phenylephrine was used almost with the same frequency both in groups Dex 0 and Dex 1/0.5. After tracheal extubation in group Dex 1/0.5 sedation level of 4 points 15% of patients had and in group Dex 0 – none of patients ($p < 0.05$); after 30 minutes in group Dex 1/0.5 sedation level of 3 points 40% of patients had and in group Dex 0 – 10% of patients ($p < 0.05$); after 60 minutes in group Dex 1/0.5 sedation level of 2 points 80% of patients had and in group Dex 0 – 20% of patients ($p < 0.05$). In group Dex 0 average time for the use of "saving" analgesia was 60 min in 100% of patients, in group Dex 1/0.5 – 360 min appropriately, and it was needed in 85% of patients ($p < 0.05$). Patients of group Dex 0 in the first 2 hours after surgery had 2 times higher incidence of dyspnea than patients from group Dex 1/0.5 ($p < 0.05$). The total dose of trimeperidine during 24 hours in postoperative period also was 1.5 times higher in group Dex 0 than in group Dex 1/0.5 ($p < 0.05$).

So we found that infusion of dexmedetomidine in the loading dose 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BMI for 10 min and maintenance dose of 0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ BMI/h intraoperatively control hemodynamic stress response in patients with obesity to whom non-bariatric laparoscopic surgery is provided under general anesthesia. Dexmedetomidine reduces the need for intraoperative opioid analgesics, prolongs a painless period immediately after operation thereby reducing the total demand for analgesics and incidence of postoperative respiratory depression, making it an ideal adjuvant of anesthesia during laparoscopic surgery in obese patients.

Keywords: obesity, laparoscopic non-bariatric surgery, $\alpha 2$ -agonists, dexmedetomidin.

Рецензент – проф. Дудченко М. О.

Стаття надійшла 12.11.2017 року

DOI 10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-111-117

УДК 615.2.72.4+615.244

¹Горчакова Н. О., ²Бєленічев І. Ф., ²Бухтіярова Н. В.

ВПЛИВ СЕЛЕНВМІСНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ БІЛКІВ ТЕПЛОВОГО ШОКУ ТА ПОКАЗНИКИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ В МОЗКОВІЙ ТКАНИНІ ЩУРІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

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

²Запорізький державний медичний університет (м. Запоріжжя)

gorchakovan@ukr.net

Представлена робота є фрагментом НДР «Експериментальне обґрунтування ефективності органопротекторної дії антиоксидантів рослинного та синтетичного походження», № державної реєстрації 0111U004156.

Вступ. Селенвмісні сполуки володіють органопротекторною дією при різних патологічних станах [5]. Входячи до складу селенопротеїнів, глутатіонпероксидаза (зв'язана у формі селену, підтримує функцію інших ферментів) захищає мітохондрії [9,10]. Надходячи з протеїнами їжі, селен перетворюється не тільки в селенцистеїн, але також в селенметіонін, які беруть участь у створенні системи імунного захисту, обміні лейкотрієну, тромбоксану, простагліну. Селенвмісні сполуки дозволяють здійснювати профілактику зниження когнітивних здібностей, появи злоякісних пухлин і виникнення ішемічної хво-

роби серця, вірусних захворювань. Похідні селену належать до однієї з основних груп антиоксидантних засобів та грають роль в процесах обміну. Попередньо встановлено, що селеніт натрію у вигляді селенази (селеніт натрію) при токсичному гепатиті має захисний вплив щодо показників енергетичного обміну та прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу міокарду, печінки, головного мозку щурів [6]. Також визначено, що селеназа знижувала летальність гербел та відновлювала показники тіол-дисульфідної системи при гострій недостатності мозкового кровообігу [2]. Саме зі зміщенням показників тіол-дисульфідної системи пов'язують з порушенням транспорту оксиду азоту, утворенням пероксинітриду, розвитком оксидативного і нітрозуючого стресів [3,8]. Було попередньо проведено дослідження впливу селенази, селеніту цистеїну, селеніту

метіоніну на ферментативну ланку тіол-дисульфідної системи в мозковій тканині щурів при гострій недостатності мозкового кровообігу: активність глутатіонредуктази, що відновлює дисульфідний зв'язок окисненого глутатіону, глутатіон-S-трансферази, що є одним з ключових ферментів тіол-дисульфідної та антиоксидантної систем та глутатіонпероксидази, яка грає провідну роль щодо руйнування активних форм кисню. Всі сполуки при гострому порушенні мозкового кровообігу відновлювали активність вищезазначених ферментів, але найбільш вираженим ефектом володіє селеніт цистеїну [4]. При проведенні цих досліджень було висловлено припущення, що ступінь активності селенвмісних засобів щодо впливу на показники тіол-дисульфідної системи залежить від співвідношення між відновленими і окисненими компонентами неферментативної ланки цієї системи.

Мета дослідження. Оцінка впливу селенвмісних сполук на вміст білків теплового шоку та неферментативної ланки тіолдисульфідної системи в мозковій тканині щурів при гострому порушенні мозкового кровообігу (ГПМК).

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведені на 40 самцях щурів лінії Вістар масою 180-220 г, яким під тіопенталовим наркозом (40 мг/кг) проводили двобічну оклюзію сонних артерій. Тварин утримували у віварії НМУ ім. О.О. Богомольця згідно положень Європейської конвенції про захист безхребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 2005), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013). При відтворенні патології спостерігали падіння мозкового кровообігу на 50-60% за наступним відновленням до 85-90% через 2-3 дні за рахунок компенсаторних включень колатерального кровообігу [7]. Для вивчення дії препаратів застосовували селеназу – селеніт натрію (Arzperimittel GmbH, Німеччина) в дозі 50 мкг/кг, селеніт цистеїну та селеніт метіоніну в дозах 30 мкг/кг (Sigma, Aldrich) внутрішньоочеревинно 1 раз на добу протягом терміну дослідження (4 доби) для визначення показників тіол-дисульфідної системи та 18 днів при ідентифікації білків теплового шоку. Тваринам контрольної групи протягом експерименту внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин в еквівалентному об'ємі. В якості інтактної групи застосовували хібнооперованих тварин, яким виділяли сонну артерію, але не перев'язували. По закінченню експерименту згідно протоколу дослідження тварин наркотизували тіопенталом натрію (40 мг/кг), декапітували та вилучали головний мозок для біохімічних досліджень. Мозок промивали в 0, 25 М сахарозного буферу (рН 7,4), охолоджену до 20°C та подрібнювали у десятикратному об'ємі буферу. Співвідношення компонентів тіол-дисульфідної системи в умовах ішемії головного мозку є вирішальним фактором у розвитку каскаду біохімічних реакцій, формуванні мітохондріальної дисфункції, загибелі клітин. Тому, крім попередньо визначеного впливу

селенвмісних сполук на ферментативну ланку, нами встановлювався їх вплив на неферментативну ланку тіол-дисульфідної системи. Стан тіол-дисульфідної системи досліджували за рівнем відновлювального та окисненого глутатіону, відновлених і окиснених тіольних груп, вмісту цистеїну, метіоніну, гомоцистеїну. Глутатіон визначає антиоксидантну властивість, підтримує тіоловий статус детоксикації, є донором електронів в реакції відновлення перекисів. Підвищення рівня гомоцистеїну показує розвиток окисного стресу. Цистеїн і метіонін є головними інтермедіантами відновлених тіолів. Крім того, ідентифікували вміст нітротирозину. Нітротирозин є специфічним маркером окисного стресу головного мозку. Дослідження біохімічних маркерів проводили в гомогенаті тканин головного мозку. Для біохімічного дослідження після вилучення з головного мозку видаляли кров, а також відокремлювали від мозкової оболонки та занурювали тканини в рідкий азот. Надалі тканину подрібнювали та гомогенізували в десятикратному об'ємі середовища при температурі 2°C, що містило (в молях): сахарози 250, трис-НСІ-буферу 20, ЕДТА-1 (рН 7,4). Саме співвідношення компонентів тіолдисульфідної системи в умовах ішемії головного мозку є вирішальним у розвитку ланцюга біохімічних реакцій, формуванні мітохондріальної дисфункції, загибелі клітин.

Визначали вміст окисненого та відновленого глутатіону за допомогою флуориметрії при Ex/Em 340-420 нм, проводили розрахунки за калібровочною кривою. Вміст сумарних SH-груп визначали спектрофотометрично за реакцією з 5, 5-дитіобіс-7-нітробензойною кислотою [7]. Дослідження вмісту відновлених інтермедіантів (цистеїну і метіоніну) проводили методом тонкошарової хроматографії, наносячи на лінію старту 0,1 г гомогенату мозкової тканини та стандарти 10, 5М цистеїну та 10, 5М метіоніну, з подальшою спектрофотометрією при довжині хвилі 530 нм. Вміст окиснених та відновлених сульфгідрильних груп ідентифікували спектрофотометрично [1]. Вміст нітротирозину визначали за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу методом ELISA з застосуванням стандартного тест-набору «Nitrotyrosine ELISA KIT». Гомоцистеїн досліджували ензиматичним методом за допомогою діагностичного набору, коли зв'язаний гомоцистеїн відновлювали до вільного гомоцистеїну, який реагував з серином до утворення L-цистеїну, що розщеплюється на гомоцистеїн, піруват і аміак. Надалі піруват під дією лактатдегідрогенази перетворюється на лактат, коферментом якого є НАДН. Відношення НАДН до НАД прямо пропорційне концентрації гомоцистеїну. Розрахунок ведуть за калібровочною кривою (мкмоль/л) [7]. Концентрацію білку теплового шоку HSP70 в цитоплазматичній фракції гомогенату серця визначали методом Вестерн-блот аналізу. Білки розділяли в 10% поліакриловому гелі. Розділ фракцій проводили шляхом електрофорезу при напрузі 100 Вт, коли проби досягали меншого розділу гелів – при напрузі 200 В. Білки з гелю переносили на нітроцелюлярну мембрану при напрузі 100 В та

силі струму 0,35А протягом 1 години. Мембрану розмістили в блокуючий буфер, що містить 1% розчин бичачого сироваткового альбуміну. Після відмивання на шейкері протягом 5 хвилин мембрану пересували в розчин первинних антитіл проти HSP70 (1:500), знову відмивали на шейкері 4 рази по 5 хвилин в 0,1М фосфатного буферу і занурювали в розчин вторинних антитіл (1:1000) для інкубації протягом 2 годин та ще раз відмивали на шейкері 4 рази по 5 хвилин в розчині 0,1М фосфатного буфера. Надалі мембрану занурювали в розчин ExtrAvidin пероксидази в 1% розчині бичачого сироваткового альбуміну (1:1000), інкубували протягом 1 години і промивали. Детекцію HSP70 здійснювали за допомогою декситометрії в програмі Adobe Photoshop. Статистичну оцінку проводили за методом Колмогорова-Смирнова (D) та Shapiro-Wilk (W). Отримані дані були проаналізовані варіаційно-статистичним методом з застосуванням критерію t-Стюдента та параметру Уїтні-Манна. Результати дослідження оброблені з застосуванням статистичного пакету ліцензійної програми «Statistica for Windows 6.0.», а також «SPSS 16.0», «Microsoft Excel 2003». Для всіх видів аналізу статистично значимими вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Результати проведених досліджень вказують на те, що розвиток церебральної ішемії у щурів призводить до зміщення не тільки ферментативної ланки тіол-дисульфідної системи, що було показано раніше, але і неферментативної, яка характеризується зміщенням пула відновлених форм аж до 4 доби експерименту. Так, в мозковій тканині щурів спостерігається падіння вмісту відновлених інтермедіантів: цистеїну в 2,7 раза, метіоніну в 2,3 раза. При цьому зростає рівень показників оксидативного стресу – гомоцистеїну в 2,1 раза та нітрозуючого стресу – нітротирозину в 3,6 раз (табл. 1).

Паралельно зростає вміст рівня окисненого глутатіону в 2,3 рази та суміші окисних сульфгідрильних груп в 4,9 раз. В той же час падає вміст відновленого глутатіону в 6,7 разів, сума відновлених сульфгідрильних груп в 3,9 раз (табл. 2).

Пониження рівня відновленого глутатіону в тканинах мозку щурів з ГПМК може бути наслідком порушення його синтезу, що пов'язано з порушенням тканьового дихання при ішемії. Це, в свою чергу, викликає зменшення рівня АТФ, який необхідний для синтезу глутатіону. Іншою причиною, що веде до падіння вмісту внутрішньоклітинного глутатіону, може бути дефіцит рівня цистеїну, внаслідок його актив-

Таблиця 1.

Вплив селенвмісних засобів на стан неферментативної ланки тіол-дисульфідної системи в тканинах головного мозку щурів з ГПМК

Умови експерименту	Гомоцистеїн, ммоль/г тканини	Цистеїн, ммоль/г тканини	Метіонін, ммоль/г тканини	Нітротирозин, у.о./мг білку
Хибнооперовані щури (інтактні)	5,6±0,52	31,5±1,63	28,6±1,49	10,6±0,8
Щури з ГПМК (контроль)	25,9±2,1*	11,4±0,74*	12,5±0,82*	38,3±1,66*
ГПМК+селеніт цистеїну	12,2±0,89**	26,5±0,93**	25,3±1,14**	22,2±1,1*
ГПМК+селеніт метіоніну	14,6±0,82**	22,6±1,53**	33,7±1,38**	25,6±0,98**
ГПМК+селеніт натрію	18,4±0,9**	17,7±1,1**	19,4±1,6**	26,8±1,2**

Примітка: тут і надалі * $p < 0,05$ щодо хибнооперованих; ** $p < 0,05$ щодо ГПМК.

ного споживання в якості антиоксиданта. Пониження вмісту білків теплового шоку, що спостерігається на 18 добу в мозковій тканині в 2 рази свідчить про інтенсифікацію вільнорадикального окиснення, зміщенню тіол-дисульфідної рівноваги, розвитку ітрозуючого стресу та глутаматної ексайтотоксичності (табл. 3).

Таблиця 2.

Вплив селенвмісних засобів на вміст глутатіону та суму тіолів в тканинах головного мозку щурів з ГПМК

Умови експерименту	Відновлені тіоли, ммоль/г білку	Окиснені тіоли, ммоль/г білку	Глутатіон відновлений, ммоль/г тканини	Глутатіон окиснений, ммоль/г тканини
Хибнооперовані щури (інтактні)	19,1±1,8	3,5±0,2	4,3±0,83	0,33±0,08
Щури з ГПМК (контроль)	4,8±0,62*	17,2±1,64*	0,62±0,1*	0,76±0,1*
ГПМК+селеніт цистеїну	15,2±0,87**	5,5±0,68**	3,24±0,12**	0,35±0,05**
ГПМК+селеніт метіоніну	12,9±0,65**	7,1±0,93**	3,05±0,2**	0,4±0,06**
ГПМК+селеніт натрію	10,8±0,46**	8,4±0,01**	2,3±0,15**	0,5±0,07**

Проведення церебропротекторної терапії щурам з ГПМК сприяє пониженьню інтенсивності оксидативного стресу в нервовій тканині. При цьому на 4 добу збільшується рівень відновленого глутатіону як і активності пов'язаних з його обміном ферментів – глутатіонпероксидази і глутатіонредуктази, що було встановлено раніше, захищає мозок від активних форм кисню, продуктів пероксидації і певною мірою

Таблиця 3.

Вплив селенвмісних засобів на рівень HSP70 в тканинах головного мозку щурів з ГПМК

Умови експерименту	HSP70, у.о./г білку
Хибнооперовані щури (інтактні)	15,5±0,36
Щури з ГПМК (контроль)	6,4±0,35*
ГПМК+селеніт цистеїну	21,7±0,28**
ГПМК+селеніт метіоніну	18,3±0,3**
ГПМК+селеніт натрію	11,5±1,38**

дозволяє відновлювати рівновагу і поліпшити регуляцію.

Селенвміщуючі засоби відновлюють рівень інтермедіантів – цистеїну і метіоніну в тканинах мозку щурів, однак ступінь вираженості змін в залежності від засобу в кожній групі відрізнялися. Найбільш суттєві зміни отримані після застосування селеніту цистеїну і селеніту метіоніну, менш виражені – при введенні селеніту натрію. При введенні селеніту цистеїну спостерігалася найбільш оптимальне співвідношення між рівнями відновлених і окиснених тиольних груп, а також відновленого і окисненого глутатіону, що свідчить про активну мобілізацію тиол-дисульфідної системи в нейтралізації продуктів вільнорадикального окиснення. Підвищення функціональності тиол-дисульфідної системи при ГПМК може сприяти особливо під впливом селеніту цистеїну підвищенню біодоступності оксиду азоту, пониженню цитотоксичності дериватів оксиду азоту, що проявляється пониженням рівня нітротирозину. Падіння рівня гомоцистеїну під впливом селенвміщуючих засобів, особливо селеніту цистеїну, також свідчить про зменшення явищ оксидативного і нітрозуючого стресу при ГПМК та підвищення стійкості нервової тканини до явищ ішемії. Модуляція рівня ендogenous відновленого глутатіону, сприяє регуляції експресії білків теплового шоку в клітинах мозкової тканини. Згідно даним літературних джерел, білки теплового шоку грають захисну роль при ГПМК, їх зростання супроводжується пригніченням інтенсифікації процесів вільнорадикального окиснення.

Курсове введення всіх селенвмісних сполук протягом 18 діб сприяє нормалізації рівня HSP70, що свідчить про їх протекторні властивості і здібність запобігати пригніченню експресії гену HSP70 в нейронах. При введенні селеніту метіоніну концентрація HSP70 в гомогенаті головного мозку щурів підвищилася в 2,8 рази, селеніту цистеїну – в 3,4 рази. Отримані дані свідчать про більшу активацію експресії гену HSP70 в нейронах під дією селеніту цистеїну. В зв'язку з тим, що цей білок належить до шаперонів, підвищення його рівня грає значну роль в нормалізації життєдіяльності клітин та попереджає розвиток апоптозу і некрозу в умовах ГПМК. Більшість захисних функцій HSP70 пов'язана з шапероновою активністю, тобто здатністю впізнавати пошкоджені і заново синтезовані поліпептиди та вправляти їх структуру опосередковано, є дані щодо регулюючого впливу білків теплового шоку на явище мітохондріальної дисфункції, яка розвивається при ішемічному пошкодженні головного мозку. Однією з функцій HSP70 є індукція пролонгації життя стабільної форми HIF-1 α , що пов'язано з реакціями пристосування в клітині і може сприяти підтримці активності компенсаторного АТФ-малат-аспартатного човникового механізму. Таким чином, однією з ланок нейропротективного ефекту селенвміщуючих засобів, особливо селеніту цистеїну є здатність стабілізувати тиол-дисульфідну рівновагу та вміст білків теплового шоку. Найбільшу ефективність стосовно біохімічних

досліджень виявляє селеніт цистеїну завдяки наявності в його структурі тиолової групи, триазолового кільця та залишку селену. В основі ефективності селеніту цистеїну є здатність цистеїну впливати на активність аеробного гліколізу за рахунок збереження продукції енергії на трикарбонів ділянці і змінювати активність дикарбонів ділянки, стабілізуючи енергетичний метаболізм при ішемії мозку. Залишок метіоніну перетворюється в карнітин, який грає роль в процесі утворення ацетилкоензиму А з жирних кислот. Механізм переносу довголанцюгових жирних кислот через внутрішньомітохондріальну мембрану в мітохондріальний матрикс відбувається за участю карнітину та особистої ферментної системи. Посилення мітохондріального енергетичного метаболізму, що викликає карнітин, запобігає утворенню пероксинітриду та інших вільних радикалів в умовах гіпоксії. Залишок селену в тканинах мозку модулює афінність глутамінових рецепторів, особливо NMDA, що важливо при глутаматній «ексайтотоксичності», яка має місце при гіпоксії і веде до підвищення внутрішньоклітинної концентрації Ca²⁺, активації NO-синтази, інтенсивному утворенню NO та пероксинітриду (ONOO), що впливає на загибель клітин. Понижуючи гіперзбудливість глутаматних рецепторів, селен зменшує викид збуджуючих амінокислот (глутамат, аспартат) нейтралізуючи прояви глутаматної «ексайтотоксичності». Паралельно селен має властивість підвищувати експресію глутатіонпероксидази.

Висновки

1. При ГПМК в тканинах мозку на 4 добу спостерігаються зміни неферментативної ланки показників тиол-дисульфідної системи, а саме пониження вмісту цистеїну в 2,7 рази, метіоніну в 2,3 рази, рівня глутатіону відновленого в 7 раз, суміш відновлених тиольних груп в 3,9 раз. При цьому зростає рівень гомоцистеїну в 2 рази, нітротирозину в 3,6 раз, окисненого глутатіону в 2,3 рази, сумі окиснених тиолів в 4,9 раз. Також знижується вміст білку теплового шоку в 2,4 рази на 18 добу.

2. Внутрішньоочеревинне введення селенвмісних засобів – селеніту цистеїну, селеніту метіоніну, селеніту натрію на 4 добу моделювання ГПМК відновлює вміст показників неферментативної ланки тиол-дисульфідної системи. Нормалізація рівня білку теплового шоку HSP70 відбувається на 18 добу. При курсовому введенні селенвмісних засобів нормалізувалась концентрація білка HSP70 в гомогенаті головного мозку: під впливом селеніту цистеїну показник зростає в 3,4 рази, селеніту метіоніну в 2,8 рази, селеніту натрію в 2,1 рази.

Перспективи подальших досліджень. Призначення селенвмісних засобів здійснює ендogenous нейропротекцію при ГПМК, що вказує на актуальність подальшого вивчення фармакодинаміки похідних селену на інших моделях патологічних процесів, що супроводжуються проявами ішемії мозку.

Література

1. Alekseev V.V. Meditsinskie laboratorne tehnologii: rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike: v 2 t. / V.V. Alekseev, A.I. Karpischenko. – M., 2012. – 30 s.
2. Belenichev I.F. Neyroprotektivnyie efektyi pri modulyatsii glutacionovoy sistemyi golovnoy mozga: vliyaniye na letalnost, nevrologicheskyy defitsit, oksidativnyy stress v usloviyah eksperimentalnoy ONMK / I.F. Belenichev, E.S. Litvinenko // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2016. – Vip. 2 (3). – S. 94-99.
3. Kolesnik Yu.M. Tiol-disulfidnoye ravnovesiye – opredelyayuschiy faktor rezistentnosti neyronov k nitroziruyuschemu stressu v usloviyah ishemii mozga (obzor literatury) / Yu.M. Kolesnik, I.S. Chekman, I.F. Belenichev [ta in.] // Zhurnal NAMN Ukrainy. – 2013. – Vip. 19, № 1. – S. 3-11.
4. Notsek M.S. Vplyv preparativ selenu na pokazniki fermentativnoy lanky tiol-disulfidnoy sistemy u tkaninah golovnoy mozku tvarin z gostroyu nedostatnistyu mozkovogo krovoobigu / M.S. Notsek, N.O. Gorchakova, I.F. Belenichev [ta in.] // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2015. – Vip. 4 (2). – S. 202-205.
5. Pogotova G.A. Gepatotropni zasobi: organoprotekturna diya (oglyad literatury) / G.A. Pogotova, N.O. Gorchakova, I.F. Belenichev, I.S. Chekman // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2015. – Vip. 1. – S. 19-27.
6. Pogotova G.A. Diya selenazi na pokazniki energetichnoy obminu ta prooksidantno-antioksidantnoy sistemy v organah schuriv pri toksichnomu gepatiti / G.A. Pogotova, N.O. Gorchakova, I.F. Belenichev, I.S. Chekman // Visnik problem biologiyi i meditsini. – 2014. – Vip. 3 (2). – S. 216-220.
7. Chekman I.S. Dokllynychnye vivchennya spetsifichnoy aktivnosti potentsyynih likarskih zasobiv pervinnoy ta vtorinnoy neyroproteksiyi: metodichni rekomendatsiyi / I.S. Chekman, I.F. Belenichev, O.O. Nagorna [ta in.]. – Kyiv, 2016. – 93 s.
8. Belenichev I.F. The thiol-disulfide balance and the nitric oxide system in the brain tissue of rats subjected to experimental acute impairment of cerebral blood flow: The therapeutic effects of nootropic drugs / I.F. Belenichev, S.V. Gorbacheva, A.V. Demchenko, N.V. Bukhtiyarova // Neurochemical Journal. – 2014. – Vol. 8, № 1. – P. 24-27.
9. Mehta S.L. Selenium preserves mitochondrial function, stimulates mitochondrial biogenesis, and reduces infarct volume after focal cerebral ischemia / S.L. Mehta, S. Kumari, N. Mendelev, P.A. Li // BMC neuroscience. – 2012. – T. 13, № 1. – P. 79.
10. Rahmanto A.S. Selenium-containing amino acids as direct and indirect antioxidants / A.S. Rahmanto, M.J. Davies // IUBMB life. – 2012. – T. 64, № 11. – P. 863-871.

ВПЛИВ СЕЛЕНВІСНИХ ЗАСОБІВ НА РІВЕНЬ БІЛКІВ ТЕПЛООВОГО ШОКУ ТА ПОКАЗНИКИ ТІОЛ-ДИСУЛЬФІДНОЇ СИСТЕМИ В МОЗКОВІЙ ТКАНІНІ ЩУРІВ В УМОВАХ ГОСТРОГО ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

Горчакова Н. О., Беленічев І. Ф., Бухтіярова Н. В.

Резюме. Селенвісні сполуки володіють органопротекторною, антиоксидантною дією при ураженні різних систем і органів, в тому числі відносно тканин головного мозку. Попередньо була встановлена захисна, метаболітотропна дія селеніту натрію стосовно показників енергетичного обміну, прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в органах тварин при токсичному гепатиті. Також була показана роль селеніту натрію в захисті показників тіол-дисульфідної системи при гострому порушенні мозкового кровообігу.

Мета роботи – оцінити вплив селенвісних сполук та вміст білків теплового шоку на неферментативну ланку тіол-дисульфідної системи в мозковій тканині щурів при гострому порушенні мозкового кровообігу.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти проведені на самцях щурів лінії Вістар масою 180-220 г, яким під тіопенталовим наркозом проводили двобічну оклюзію сонних артерій. В мозковій тканині щурів згідно Методичним рекомендаціям ДЕЦ МОЗ України визначали вміст показників неферментативної ланки тіол-дисульфідної системи, а саме відновлених інтермедіантів (цистеїну, метіоніну), маркерів оксидативного стресу (гомоцистеїну і нітротирозину), відновленого і окисненого глутатіону, відновлених та окиснених тіолів. Ідентифікували також рівень білків теплового шоку HSP70. Внутрішньоочеревинно вводили селеніт натрію в дозі 50 мг/кг, селеніт цистеїну та селеніт метіоніну в дозах 30 мг/кг протягом 4 днів для визначення дії препаратів на показники тіол-дисульфідної системи і 18 днів для ідентифікації білків теплового шоку.

Результати дослідження. Встановлено, що при гострому порушенні мозкового кровообігу в тканинах мозку на 4 добу спостерігаються зміни показників неферментативної ланки тіол-дисульфідної системи, а саме пониження вмісту цистеїну, метіоніну, глутатіону відновленого, відновлених тіолових груп при підвищенні рівня гомоцистеїну, нітротирозину, окисненого глутатіону та суми окиснених тіолових груп. На 18 добу ідентифікували достовірне пониження білків теплового шоку. Селенвісні засоби селеніт цистеїну більшою мірою, а також селеніт метіоніну та селеніт натрію на 4 добу моделювання гострого порушення мозкового кровообігу відновлюють вміст показників неферментативної ланки тіол-дисульфідної системи, а на 18 добу рівень білків теплового шоку. Однією з ланок нейропротективного ефекту селенвісних засобів, особливо селеніту цистеїну, є здатність стабілізувати тіол-дисульфідну рівновагу та вміст білків теплового шоку.

Ключові слова: селенвісні засоби, гостре порушення мозкового кровообігу, тіол-дисульфідна система, білки теплового шоку.

ВЛИЯНИЕ СЕЛЕНСОДЕРЖАЩИХ СРЕДСТВ НА УРОВЕНЬ БЕЛКОВ ТЕПЛООВОГО ШОКА И ПОКАЗАТЕЛИ ТИОЛ-ДИСУЛЬФИДНОЙ СИСТЕМЫ В МОЗГОВОЙ ТКАНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО НАРУШЕНИЯ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Горчакова Н. А., Беленичев И. Ф., Бухтиярова Н. В.

Резюме. Селенсодержащие соединения обладают органопротекторным действием при повреждении разных систем и органов, в том числе относительно тканей головного мозга. Предварительно было установлено защитное, метаболитотропное действие селенита натрия относительно показателей энергетического обмена прооксидантно-антиоксидантного гомеостаза в органах животных при токсическом гепатите. Также была показана роль селенита натрия в защите показателей тиол-дисульфидной системы при остром нарушении мозгового кровообращения.

Цель работы – оценить влияние селенсодержащих соединений на содержание белков теплового шока на неферментативное звено тиол-дисульфидной системы в мозговой ткани крыс при остром нарушении мозгового кровообращения.

Объект и методы исследования. Эксперименты проведены на самцах крыс линии Вистар массой 180-220 г, которым под тиопенталовым наркозом проводили двустороннюю окклюзию сонных артерий. В мозговой ткани крыс согласно Методическим рекомендациям ДЭЦ МОЗ Украины определяли содержание показателей неферментативного звена тиол-дисульфидной системы, а именно восстановленных интермедиантов (цистеина, метионина), маркеров оксидативного стресса (гомоцистеина и нитротирозина), восстановленного и окисленного глутатиона, восстановленных и окисленных тиолов. Идентифицировали также уровень белков теплового шока HSP70. Внутривенно вводили селенит натрия в дозе 50 мкг/кг, селенит цистеина и селенит метионина в дозах 30 мкг/кг на протяжении 4 дней при установлении действия препаратов на показатели тиол-дисульфидной системы и 18 дней для идентификации белков теплового шока.

Результаты исследования. Установлено, что при остром нарушении мозгового кровообращения в тканях мозга на 4 день отмечаются изменения показателей неферментативного звена тиол-дисульфидной системы, а именно понижение содержания цистеина, метионина, глутатиона восстановленного, восстановленных тиоловых групп при повышении уровня гомоцистеина, нитротирозина, окисленного глутатиона и суммы окисленных тиоловых групп. На 18 день идентифицировали уровень белков теплового шока. Одним из звеньев нейропротективного эффекта селенсодержащих средств, особенно селенита цистеина является способность стабилизировать тиол-дисульфидное равновесие и содержание белков теплового шока.

Ключевые слова: селенсодержащие средства, острое нарушение мозгового кровообращения, тиол-дисульфидная система, белки теплового шока.

INFLUENCE OF THE COMPOUNDS CONTAINING OF SELENIUM ON THE HEAT SHOCK PROTEINS' LEVEL AND THE MARKERS OF THIOL-DISULFIDE SYSTEM IN THE RATS' BRAIN TISSUE IN ACUTE CEREBROVASCULAR INSUFFICIENCY

Gorchakova N. A., Belenichev I. F., Buchtyarova N. V.

Abstract. The compounds containing selenium have organoprotective, antioxidant action in the damage of different systems and organs including the brain tissue. Previously it was stated the protective metabolitotropic action of sodium selenite, cysteinum selenite, methioninum selenite on the markers of energetic metabolism, prooxidant-antioxidant homeostasis in the rats organs in toxic hepatitis. Also it was shown sodium selenite role in the thiol-disulfide system protection in acute cerebrovascular insufficiency.

The changes of the thiol-disulfides markers was connected with the nitrogeniumoxide transport' damage, with peroxyxynitrite formation, with oxidative and nitrosive stresses development. Early it was stated the influence of the compounds containing selenium on the enzymic link of the thiol-disulfide system in the rats' brain tissue in acute cerebrovascular insufficiency – the activity of glutathione reductase, glutathione-S-transferase, glutathione peroxidase. The compounds containing selenium restored the activities of antioxidant enzymes.

Aim of the investigation – estimate influence of the compounds containing selenium on the heat shock proteins' level and the markers of nonenzymic link of thiol-disulfide system in the rats' brain tissue in acute cerebrovascular insufficiency.

Object and methods. The experiments were conducted on 40 male Wistar rats. Bilateral occlusion of common carotid arteries was performed under general thiopental-sodium anesthesia. In the rats' brain tissue accordingly Methodical recommendation of the State Expert center of the Ukrainian Ministry of Health the content of nonenzymic markers of thiol-disulfide system have been identified. There were investigated such markers as the contain of rebuilt intermediates (cysteine, methionine), markers of oxidative stress (homocysteine, nitrotyrosine), rebuilt and oxidative glutathione, rebuilt and oxidative thiol groups, the heat shock proteins' level (HSP70). Sodium selenite in 50 mkg/kg, cysteine selenite and methioninum selenite in 30 mkg/kg have been administered intraperitoneally during 4 days in the case of identification of the thiol-disulfide markers and during 18 days in the case of investigation of the heat shock proteins' level.

Results. It was shown that in acute cerebrovascular insufficiency in the brain tissue on the 4th day the markers of nonenzymic link of the thiol-disulfide system have been changed. The content of cysteine, methionine, rebuilt glutathione, rebuilt thiol groups sum have been decreased. The level of homocysteine, nitrotyrosine, oxidative

glutathione, oxidative thiol groups sum has been evaluated. In the 18th day of investigation the content of heat shock proteins' level has been fallen also. The drugs containing selenium restore the content of the thiol-disulfide system markers of non-enzymic link on the 4th day and the heat shock proteins' level on the 18th day. Cysteine selenite had the most expressive effect on all markers of thiol-disulfide system and heat shock proteins' level. It was conjugated with the structure of cysteine selenite. Cysteine selenite contains of thiol groups, triazol ring and selenium. It may also influence on the activity of aerobic glycolysis and other markers of energetic metabolism expressively. Cysteine selenite changes the activity of the compounds on the dicarbonic and tricarbonic regions.

So the compounds containing selenium have neuroprotective properties in the acute cerebrovascular insufficiency.

Keywords: compounds containing of selenium, acute cerebrovascular insufficiency, thiol-disulfide system, heat shock proteins level.

Рецензент – проф. Литвиненко Н. В.

Стаття надійшла 07.11.2017 року

DOI 10.29254/2077-4214-2017-4-3-141-117-122

УДК 616.45-001.1/3:616-005.1-036.11:615.001.5

Дев'яткіна Т. О., Важнича О. М., Власенко Н. О.

СТРЕСОРНІ МЕХАНІЗМИ ГОСТРОЇ КРОВОВТРАТИ ТА ЇХ ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

pharma.umsa.poltava@gmail.com

Робота була фрагментом планової ініціативної НДР «Пошук засобів та біологічно активних речовин з числа похідних 2-оксоіндолу та 3-оксипіридину для фармакокорекції адаптивних процесів при порушеннях гомеостазу різної етіології» (№ державної реєстрації 0111U004879).

Вступ. Крововтрата являє собою комплекс компенсаторних і патологічних реакцій що виникають у відповідь на кровотечу [11, 12, 17]. Кровотеча супроводжує травми, операції, пологи; вона виникає при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, буває ускладненням антикоагулянтної та фібринолітичної терапії [17]. Неконтрольована кровотеча викликає значну кількість смертних випадків, пов'язаних із тяжкою травмою, і є провідною причиною смерті в цій ситуації, яку можна попередити [16].

Зміни функцій організму при гострій крововтраті мають універсальний адаптивний, або точніше компенсаторний характер. Різниця між цими поняттями полягає в тому, що адаптація має місце тоді, коли відбувається значне посилення інтенсивності зовнішнього фактору, але напруження пристосувальних систем запобігає розвитку патології [11]. Компенсація розвивається за дії патогенних факторів, коли наявне ушкодження, а показники гомеостазу виходять за межі норми. Основу адаптації і компенсації становлять одні й ті ж механізми, зокрема стрес-реалізуючі системи. Лімітація їх активності інгібіторами центральної нервової системи, зокрема загальними анестетиками, нейролептиками, транквілізаторами, наркотичними анальгетиками, становить суть класичної стреспротекції [14]. Хоча гостра крововтрата доволі часто зустрічається в клініці і достатньо вивчена, роль згаданої вище стреспротекції в модифікації розвитку її компенса-

торних реакцій досліджена недостатньо і потребує подальшої уваги.

Мета роботи – вивчити вплив лікарських засобів зі стреспротективними властивостями на перебіг компенсаторних реакцій при гострій експериментальній крововтраті.

Об'єкт і методи дослідження. Досліди було виконано на 99 білих статевозрілих щурах-самцях, яких утримували в стандартних умовах віварію на раціоні змішаного тилу та вільному доступі до води. Проведення експериментів не викликало заперечень комісії з біоетики ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія».

Експерименти виконані з дотриманням вимог Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей, (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006).

Згрупування дослідів мало наступний вигляд:

1. Гостра крововтрата як контрольна патологія;
2. Гостра крововтрата з введенням мексидолу;
3. Гостра крововтрата з введенням натрію оксидутирату. У всіх серіях експериментів дослідження показників проводили через 3, 24 і 72 год та 5 діб від моменту вилучення крові. Кожній серії відповідала група інтактних тварин (контроль), показники якої приймали за вихідний рівень на початку дослідження. Строки дослідження обирали виходячи з даних літератури про тривалість фаз компенсаторних реакцій при гострій крововтраті [11].

Гостру крововтрату моделювали шляхом пункції серця й вилучення 25% об'єму циркулюючої крові під кетаміновим наркозом (1,5-2 мг/кг, внутрішньочеревинно) [5].