

# ВПЛИВ ГОСТРОЇ ГІПОКСІЇ НА ВМІСТ ОКИСНЮВАЛЬНО-МОДИФІКОВАНИХ БІЛКІВ У БАЗАЛЬНИХ ЯДРАХ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЗА РІЗНОЇ ЕПІФІЗАРНОЇ АКТИВНОСТІ

*І.Ю. Сопова, М.В. Амаріуца*

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

**Ключові слова:**  
окиснювально-модифіковані білки, базальні ядра, епіфізарна активність, гостра гіпоксія.

Клінічна та експериментальна патологія Т.17, №3 (65), Ч.2.- С.114-118.

DOI:10.24061/1727-4338.XVII.3.65.2018.168

E-mail:sopova.i.yu@gmail.com

**Мета роботи** - дослідити вміст окиснювально-модифікованих білків як один з "маркерів" розвитку патологічного процесу за дії гострої гіпоксії як стресуючого фактору на тлі різної функціональної активності епіфізу в базальних ядрах головного мозку (хвостате ядро, бліда куля, прилегле ядро перегородки, амігдала). **Матеріали та методи.** Робота виконана на 96 щурах-самцях ювенільного віку. Шляхом утримання тварин впродовж тижня за умов постійного освітлення моделювали гіпофункцію епіфізу, за умов постійної темряви - гіперфункцію. Контроль знаходився за звичайного режиму освітлення: природня зміна світлової та темної фаз. Частина контролю та "дослідних" тварин зазнавали дії гострої гіпоксії, яку моделювали у модифікованій барокамері шляхом імітації підйому щурів на висоту 12 000 м. Через 30 хвилин після дії гіпоксії проводили декапітацію тварин. Для дослідження забирали структури мозку: хвостате ядро, бліду кулю, прилегле ядро перегородки, амігдаларний комплекс. Вміст окиснювально-модифікованих білків визначали за рівнем альдегід- і кетон- динітрофенілгідразонів нейтрального характеру, що реєстрували при 370 нм, та основного характеру (430 нм). Отримані експериментальні дані оброблено методами варіаційної статистики за допомогою пакета програм "STATISTICA 5.0.", проаналізовано з використанням t-критерію Ст'юдента.

**Результати.** Аналіз результатів дослідження показав, що у базальних ядрах мозку тварин із зміненою активністю епіфізу під впливом гострої гіпоксії переважно (винятком є тільки бліда куля) спостерігалось більше зростання вмісту окиснених білків, ніж у базальних ядрах мозку тварин із звичайною епіфізарною активністю.

**Висновки.** Епіфізарна активність є важливим фактором, що може коригувати дію інших чинників, зокрема на структури мозку. Зміна активності епіфізу модулює вплив гострої гіпоксії на метаболізм у базальних ядрах головного мозку, супроводжуючись переважно ще більшим збільшенням продуктів білкової пероксидації у цих регіонах мозку, ніж після дії гіпоксії у щурів із звичайною активністю епіфізу.

**Ключевые слова:**  
окисленно-модифицированные белки, базальные ядра, эпилептическая активность, острая гипоксия.

Клиническая и экспериментальная патология Т.17, №3 (65), Ч.2.- С.114-118.

## ВЛИЯНИЕ ОСТРОЙ ГИПОКСИИ НА СОДЕРЖАНИЕ ОКИСЛЕННО-МОДИФИЦИРОВАННЫХ БЕЛКОВ В БАЗАЛЬНЫХ ЯДРАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА В УСЛОВИЯХ РАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЭПИФИЗА

*И. Ю. Сопова, М. В. Амаріуца*

**Цель работы** - исследовать содержание окисленно-модифицированных белков как один из "маркеров" развития патологического процесса в условиях острой гипоксии как стрессующего фактора на фоне разной функциональной активности эпилепсиза в базальных ядрах головного мозга (хвостатое ядро, бледный шар, прилежащее ядро перегородки, миндалина).

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 96 крысах-самцах ювенильного возраста. Путем содержания животных в течение недели в условиях постоянного освещения моделировали гипофункцию эпилепсиза, в условиях постоянной темноты - гиперфункцию. Контроль находился в обычных условиях освещения: естественная смена световой и темной фаз. Часть контроля и "опытных" животных подвергались действию острой гипоксии, которую моделировали в модифицированной барокамере путем имитации подъема крыс на высоту 12 000 м. Через 30 минут после действия гипоксии проводили декапитацию животных. Для исследования извлекали структуры мозга: хвостатое ядро, бледный шар, прилежащее ядро перегородки, амигдаларный комплекс. Содержание окисленно-модифицированных белков определяли по уровню альдегид- и кетон- динитрофенілгидразонов нейтрального характера, которые регистрировали при 370 нм, и основного характера (430 нм). Полученные экспериментальные данные обработаны методами вариационной статистики с помощью пакета программ "STATISTICA 5.0.", проанализировано с помощью пакета программ "STATISTICA 5.0.", проанализировано с помощью t-критерия Ст'юдента.

зоровані з використанням *t*-критерія Стьюдента.

**Результати.** Аналіз результатів дослідження показав, що в базальних ядрах мозгу живих тварин з зміненою активністю епіфіза під впливом гострої гіпоксії переважно (виключенням є тільки блідий шар) спостерігався більший ріст вмісту окислених білків, ніж в базальних ядрах мозгу тварин з нормальною епіфізарною активністю.

**Висновки.** Епіфізарна активність є важливою складовою, яка може коригувати дію інших факторів, зокрема на структуру мозку. Зміна активності епіфіза модулює вплив гострої гіпоксії на метаболізм в базальних ядрах головного мозку, супроводжуючись переважно ще більшим збільшенням продуктів білкової пероксидації в цих регіонах мозку, ніж після дії гіпоксії у тварин з нормальною активністю епіфіза.

#### THE INFLUENCE OF ACUTE HYPOXIA ON THE LEVEL OF OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS IN BRAIN BASAL GANGLIA UNDER CONDITIONS OF VARIOUS PINEAL ACTIVITY

I. Yu. Sopova, M. V. Amariutsa

**Objective** - to study the level of oxidized modified proteins as one of the markers of pathological process under the conditions of acute hypoxia influence as a stress-inducing factor against the background of various pineal functional activity in brain basal ganglia (the caudate nucleus, the nucleus accumbens, the globus pallidus, and the amygdale).

**Material and methods.** Research was conducted on 96 juvenile male rats. Pineal hypofunction was modeled by maintenance of rats under conditions of constant lighting, pineal hyperfunction - under conditions of constant darkness for one week. Control group was kept in usual lighting regimen: natural change of light and dark phases. A part of control and experimental animals was subjected to acute hypoxia, modeled in a modified pressure chamber by imitation the lifting of rats on a height of 12 000 m. Decapitation of animals was performed 30 min after the influence of acute hypoxia. Brain structures were taken for the research: the caudate nucleus, the nucleus accumbens, the globus pallidus, and the amygdale. The level of oxidized modified proteins was determined by the content of aldehyde- and ketone- dinitrophenylhydrazones of neutral character at 370 nm, and of alkaline character - at 430 nm. Obtained experimental data were analyzed using Student's *t*-test and processed by methods of variation statistics in "STATISTICA 5.0" software.

**Results.** Analysis of the research results has shown, that in the brain basal ganglia of rats with varied pineal activity under the influence of predominantly acute hypoxia (exception is only the globus pallidus) more significant increase in OMP level than in the brain basal ganglia of rats with normal pineal activity was observed.

**Conclusion.** Pineal activity is an important constituent able to modify the influence of other factors, in particular on brain structures. Change in pineal activity modulates the influence of acute hypoxia on the metabolism in brain basal ganglia, which is accompanied mainly by an increase in protein peroxidation products in these brain regions, in comparison with hypoxia effect in rats with normal pineal activity.

#### Key words:

oxidatively modified proteins, basal ganglia, pineal activity, acute hypoxia.

Clinical and experimental pathology. Vol. 17, №3 (65), P.2.- P.114-118.

#### Вступ

Епіфіз є залозою внутрішньої секреції, що виконує роль нейроендокринного трансдуктора, трансформуючи нервові сигнали про стан зовнішньої освітленості у гормональну відповідь, здійснюючи таким чином ендокринне забезпечення життєво важливих біоритмів. Зміна функціональної активності епіфізу призводить до порушення синхронізації різноманітних фізіологічних функцій організму, що відіграє суттєву роль у механізмах розвитку стресових станів [1,7]. Десинхроноз вважається раннім критерієм розвитку дистрес-синдрому.

Вплив епіфізу реалізується за рахунок прямої чи опосередкованої зміни функції мозкових структур та ендокринних залоз шляхом секреції біологічно активних речовин, зокрема гормону мелатоніну [6]. Як встановлено порівняно нещодавно, у реалізації відповіді на гор-

мон беруть участь спеціалізовані мелатонінові рецептори. Їхню високу щільність виявлено у гіпоталамічних центрах регуляції ендокринної активності, а також у базальних гангліях переднього мозку та лімбічних структурах. Зокрема, у серії досліджень показана участь стріатуму в організації добового періодизму і короткоперіодних коливань поведінки [2], що підтверджує наявність мозкових структур-посередників для епіфізу, які б мали здатність трансформувати сигнали, що до них надходять у конкретні дії, добре організовані у часі. Вочевидь, збереження нормального функціонального стану цих структур мозку є необхідною умовою раціональної тактики існування організму в екстремальних ситуаціях.

Одним з широко розповсюджених явищ, що виникає в організмі людини внаслідок розвитку екстремаль-

них ситуацій, є гіпоксія. Органом-мішенню гіпоксії є головний мозок, високочутливими до нестачі кисню, зокрема, є базальні ядра головного мозку [8]. За гіпоксії в них розвивається цілий комплекс взаємопов'язаних внутрішньо- та позаклітинних процесів.

Отже, зважаючи на все вищенаведене, дослідження стану базальних ядер за різної функціональної активності пінеальної залози, за впливу різноманітних патологічних чинників, у тому числі за дії гіпоксії, є особливо доцільним.

### Мета роботи

Дослідити вміст окиснювально-модифікованих білків (ОМБ) як один з "маркерів" розвитку патологічного процесу внаслідок дії гострої гіпоксії як стресуючого фактору на тлі різної функціональної активності епіфізу в базальних ядрах - структурах головного мозку, в яких виявлено високу щільність мелатонінових рецепторів та які є чутливими до дії гіпоксії.

### Матеріал і методи дослідження

Робота виконана на 96 щурах-самцях ювенільного віку. Шляхом утримання тварин впродовж тижня за умов постійного освітлення моделювали гіпофункцію епіфізу, за умов постійної темряви - гіперфункцію. Контрольні тварини знаходилися за звичайного режиму освітлення: природня зміна світлової та темної фаз. Частина контролю та "дослідних" тварин зазнавали дії гострої гіпоксії, яку моделювали у модифікованій барокамері шляхом імітації підйому шурів на висоту 12 000 м, на якій утримували до другого агонального вдиху, після чого "опускали на нульову висоту" [3]. Через 30 хвилин після дії гіпоксії проводили декапітацію тварин.

Для дослідження забирали структури мозку: хвостате ядро, бліду кулю, прилегле ядро перегородки, амігдаларний комплекс. Гомогенати мозку готували у 0,05 М трис-НСІ буфері (рН 7,4). Наважки структур отримували шляхом об'єднання проб від 2-х тварин.

Вміст ОМБ визначали за рівнем альдегід- і кетондинітрофенілгідрозонів нейтрального характеру, що реєстрували фотокалориметрією при 370 нм, та основного характеру (430 нм) [5].

Отримані експериментальні дані оброблено методами варіаційної статистики за допомогою пакета про-

грам "STATISTICA 5.0.", проаналізовано з використанням t-критерію Ст'юдента [4]. Статистично вірогідними вважали зміни при  $p < 0.05$ .

Експерименти на тваринах проведено відповідно до положень Хельсинської Декларації 1975 року, переглянутої та доповненої у 2002 році. У роботі дотримані сучасні правила утримання та використання лабораторних тварин, що відповідають принципам Європейської Конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей (Страсбург, 2005).

### Результати та їх обговорення

Проведені нами дослідження показали, що моделювання дії усіх досліджуваних чинників (змінена епіфізарна активність, гостра гіпоксія, змінена епіфізарна активність+гостра гіпоксія) призводить до зростання вмісту ОМБ у базальних ядрах головного мозку шурів (табл.1,2).

Так, внаслідок збільшення активності епіфізу вміст продуктів ОМБ нейтрального характеру порівняно з показниками контролю зростає в усіх досліджуваних структурах: у прилеглому ядрі перегородки на 24,4%, хвостатому ядрі - на 25,3%, палідумі - на 52,6%, в амігдаларному комплексі - на 68%. Також за підвищеної активності шишкоподібної залози збільшувалась концентрація продуктів ОМБ основного характеру: у прилеглому ядрі - на 64,7%, хвостатому - на 34,1%, блідій кулі - на 16,5%, в амігдалі - на 64,0%.

У зв'язку з низькою активністю епіфізу вміст окиснених білків збільшувався у прилеглому ядрі перегородки на 17,6% (ОМБ нейтрального характеру) та на 57,1% (ОМБ основного характеру), у хвостатому ядрі на 55,2% (ОМБ основного характеру), блідій кулі на 12,1% (ОМБ основного характеру).

Гостра гіпоксія супроводжувалася помірним збільшенням альдегід- і кетонпохідних нейтрального характеру у базальних ядрах мозку шурів: у прилеглому ядрі перегородки - на 20,6%, палідумі - на 30,6%. Вміст продуктів ОМБ основного характеру внаслідок гіпоксії також збільшувався у цих структурах головного мозку (відповідно на 28,5% та 48,2%).

Через поєднану дію гіперфункції та гіпоксії приріст альдегід- і кетонпохідних нейтрального характеру у

Таблиця 1

Вплив гострої гіпоксії на вміст альдегід- і кетонпохідних нейтрального характеру в базальних ядрах мозку за різної епіфізарної активності ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Групи тварин	Вміст динітрофенілгідрозонів, ммоль/г білка			
	прилегле ядро	хвостате ядро	бліда куля	амігдала
Інтактні	7,8±0,32	8,3±0,30	7,4±0,39	7,5±0,30
Гіпоксія	9,4±0,48*	9,4±0,52	9,7±0,33*	7,9±0,34
Гіперфункція епіфізу	9,7±0,33*	10,4±0,37*	11,3±0,80*	12,6±0,75*
Гіпофункція епіфізу	9,2±0,35*	9,1±0,25	7,8±0,39	7,1±0,20
Гіперфункція епіфізу + гіпоксія	10,3±0,30*	11,8±0,65*#	10,4±0,45*	11,6±0,72*#
Гіпофункція епіфізу + гіпоксія	13,9±0,84*#	10,3±0,47*#	8,0±0,47#	12,0±0,71*#

Примітка. \* –  $p < 0,05$  порівняно з інтактними; # –  $p < 0,05$  порівняно з гіпоксією

Таблиця 2

Вплив гострої гіпоксії на вміст альдегідо- і кетонпохідних основного характеру в базальних ядрах мозку за різної епіфізарної активності (M±m, n=8)

Групи тварин	Вміст динітрофенілгідрозонів, ммоль/г білка			
	прилегле ядро	хвостате ядро	бліда куля	амігдала
Інтактні	3,1±0,08	3,6±0,17	3,3±0,10	3,1±0,17
Гіпоксія	4,0±0,07*	3,9±0,10	4,9±0,15*	3,3±0,07
Гіперфункція епіфізу	5,1±0,30*	4,9±0,22*	3,8±0,19*	5,1±0,26*
Гіпофункція епіфізу	4,9±0,14*	5,7±0,14*	3,7±0,11*	3,3±0,11
Гіперфункція епіфізу + гіпоксія	4,5±0,08*#	5,3±0,28*#	4,0±0,20*#	5,7±0,14*#
Гіпофункція епіфізу + гіпоксія	5,0±0,21*#	4,0±0,17	4,3±0,14*#	3,4±0,14

Примітка. \* – p<0,05 порівняно з інтактними; # – p<0,05 порівняно з гіпоксією

базальних ядер становив: у прилеглому ядрі - 78,7%, хвостатому - 14,5%, палідумі - 40,5%, амідгалі - 54,4% від рівня інтактних тварин. Аналогічно для показників ОМБ основного характеру: у прилеглому ядрі - 43,3%, хвостатому - 45,6%, палідумі - 22,9%, амідгалі - 82,6%.

Внаслідок поєданого впливу гіпофункції та гіпоксії накопичення ОМБ нейтрального характеру спостерігалось у таких досліджуваних структурах: у прилеглому ядрі (78,7%), хвостатому ядрі (23,8%), амідгалі (61,6%) порівняно з інтактними тваринами. Накопичення ОМБ основного характеру через дію цих чинників порівняно з контролем відбувалося у прилеглому ядрі (61,3%) та блідій кулі (58,3%).

Аналіз результатів дослідження показав, що у базальних ядрах мозку тварин із зміненою активністю епіфізу під впливом гострої гіпоксії переважно (винятком є тільки бліда куля) спостерігалось більше зростання вмісту ОМБ, ніж у базальних ядрах мозку тварин із звичайною епіфізарною активністю (табл.1,2).

### Висновки

Як надмірна активність шишкоподібної залози, так і її пригнічення позначаються на метаболічних процесах у базальних ядрах, про що засвідчує накопичення окиснених білків у цих структурах головного мозку.

У той же час, як демонструють наші дослідження, епіфізарна активність є важливим фактором, що може коригувати дію інших чинників, зокрема на структури мозку, тим більше на так звані мозкові структури-посередники. Зміна активності епіфізу модулює вплив гострої гіпоксії на метаболізм у базальних ядрах головного мозку, супроводжуючись переважно ще більшим зростанням вмісту продуктів білкової пероксидації у цих регіонах мозку, ніж після дії гіпоксії у щурів із незмінною активністю епіфізу.

З іншого боку, враховуючи існуюче уявлення про пінеальну залозу як ендogenous адаптогена, значення секреції мелатоніну, варто зазначити, що наскільки суттєвим чи критичним є вплив саме збільшення чи пригнічення епіфізарної активності на чутливість до гострого стресу, зокрема на чутливість до гострої гіпоксії, доцільно робити висновки, тільки на підставі дослідження зміни більше ніж одного біохімічного показника, оцінюючи зміни декількох взаємопов'язаних між собою

"маркерів" розвитку патологічного процесу.

### Перспективи подальших досліджень

Враховуючи, що зміна функціональної активності епіфізу призводить до порушення синхронізації різноманітних фізіологічних функцій організму, що, у свою чергу, відіграє суттєву роль у механізмах розвитку дистрес-синдрому, поглиблене дослідження дії патологічних чинників на тлі різної функціональної активності епіфізу, вважається нам доцільним.

### Список літератури

1. Анисимов ВН. Мелатонин. Роль в организме, применение в клинике. Санкт-Петербург: Система; 2007. 40 с.
2. Арушанян ЭБ, Батурин ВА, Ованесов КБ. Основы хрономедицины и хронофармакологии: учеб. пособ. для студентов. Ставрополь; 2016. 148 с.
3. Березовский ВА, редактор. Гипоксия и индивидуальные особенности реактивности. Киев: Наукова думка; 1978. 216 с.
4. Гойко ОВ. Практичне використання пакета STATISTICA для аналізу медико-біологічних даних: навч. посіб. Київ; 2004. 75 с.
5. Мещишен ІФ. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові. Буковинський медичний вісник. 1998;2(1):156-8.
6. Рапопорт СИ, редактор. Мелатонин: перспективы применения в клинике. Москва: ИМА-ПРЕСС; 2012. 176 с.
7. Vinogradova IA, Anisimov VN, Bukalev AV, Semenchenko AV, Zabezinski MA. Circadian disruption induced by light-at-night accelerates aging and promotes tumorigenesis in rats. *Aging*. 2009;1(10):855-65. doi: 10.18632/aging.100092
8. Sopova IYu, Zamorskii II. Effect of acute hypoxia on the intensity of free-radical processes in the basal nuclei of the brain and behavior in rats in the open field test in conditions of an altered photoperiod. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2012; 42 (8): 806-11.

### References

1. Anisimov VN. Melatonin. Rol' v organizme, primeneniye v klinike [Melatonin. Role in the body, use in the clinic]. Sankt-Peterburg: Sistema; 2007. 40 p. (in Russian).
2. Arushanyan EB, Baturin VA, Ovanesov KB. Osnovy khronomeditsiny i khronofarmakologii [Basics of chronomedicine and chronopharmacology]: ucheb. posob. dlya studentov. Stavropol'; 2016. 148 p. (in Russian).
3. Berезovskiy VA, redaktor. Gipoksiya i individual'nye osobennosti reaktivnosti [Hypoxia and individual characteristics of reactivity]. Kiev: Naukova dumka; 1978. 216 p. (in Russian).
4. Hoiko OV. Praktychne vykorystannia paketa STATISTICA dlia analizu medyko-biologichnykh danykh [The practical use of the STATISTICA package for the analysis of medical and biological data]: navch. posib. Kiev; 2004. 75 p. (in Ukrainian).

5. Meschyshen IF. Metod vyznachennia oksyliuval'noi modyfikatsii bilykh plazmy (syrovatky) krovi [Method of determination of oxidative modification of plasma proteins (serum)]. Bukovinian Medical Herald. 1998;2(1):156-8. (in Ukrainian).

6. Rapoport SI, redaktor. Melatonin: perspektivy primeneniya v klinike [Melatonin: prospects for use in the clinic]. Moscow: IMA-PRESS; 2012. 176 p. (in Russian).

7. Vinogradova IA, Anisimov VN, Bukalev AV, Semchenko

AV, Zabezhinski MA. Circadian disruption induced by light-at-night accelerates aging and promotes tumorigenesis in rats. Aging. 2009;1(10):855-65. doi: 10.18632/aging.100092

8. Sopova IYu, Zamorskii II. Effect of acute hypoxia on the intensity of free-radical processes in the basal nuclei of the brain and behavior in rats in the open field test in conditions of an altered photoperiod. Neuroscience and Behavioral Physiology. 2012; 42 (8): 806-11.

### **Відомості про авторів:**

Сопова І. Ю. - к. мед. н., асистент кафедри фармакології Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

Амаріуца М. В. - студентка 9 групи, III курсу медичного факультету №1 Вищого державного навчального закладу України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

### **Сведения об авторах:**

Сопова И. Ю. - к. мед. н., ассистент кафедры фармакологии Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

Амариуца М. В. - студентка 9 группы, III курса медицинского факультета №1 Высшего государственного учебного заведения Украины "Буковинский государственный медицинский университет", г. Черновцы

### **Information about authors:**

Sopova I. Yu., PhD - assistant professor of pharmacology department of Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Amariutsa M. V. - student of group 9 III year of medical faculty №1 of Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

*Стаття надійшла до редакції 20.05.2018*

*Рецензент – доц. О.В.Ясінська*

*© І. Ю. Сопова, М. В. Амаріуца, 2018*