

АКТИВАЦИЯ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ – ТИПОВОЙ ПРОЦЕСС ДЕЗИНТЕГРАЦИИ НЕРВНЫХ КЛЕТОК ПРИ ИШЕМИИ МОЗГА И В ПРОЦЕССЕ ЕГО РЕПЕРФУЗИИ

Бульон В.В., Хныченко Л.К., Сапронов Н.А., Коваленко А.Л.,
Алексеева Л.Е., Романцов М.Г., Чеснокова Н.П., Бизенкова М.Н.

*Отдел нейрофармакологии НИИ экспериментальной медицины РАМН,
Научно-технологическая фармацевтическая фирма «Полисан», Санкт-Петербург,
Саратовский государственный медицинский университет, Саратов*

В опытах на белых крысах с экспериментальной ишемией головного мозга отмечены выраженная активация процессов липопероксидации, недостаточность антиоксидантной системы, о чем свидетельствовали избыточное накопление в гомогенатах мозга малонового диальдегида (МДА), диеновых конъюгатов, недостаточность активности супероксиддисмутазы (СОД), падение уровня восстановленного глутатиона. В процессе реперфузии мозга, к 3-им суткам наблюдения возникало прогрессирующее возрастание уровня МДА на фоне выраженного дефицита восстановленного глутатиона. Активация процессов липопероксидации – важный патогенетический фактор повреждения структур головного мозга при развитии ишемии, а также в процессе его реперфузии.

Расстройство мозгового кровообращения является одной из наиболее частых причин нарушения структуры и функции головного мозга.

Как известно, нарушения церебрального кровотока могут быть следствием системных или локальных сдвигов гемодинамики, таких как гипертензия и гипотензия, тромбоз, эмболия, кровоизлияние, отек и спазм сосудов. Причем, ангиоспазм в сосудах головного мозга имеет типичную локализацию, развивается главным образом в магистральных артериях, в то время как более мелкие ветвления пиальных артерий реагируют на ишемию мозга компенсаторной вазодилатацией [2,3]. Механизмы компенсаторной вазодилатации, также как и характер метаболических сдвигов в динамике реперфузии предварительно ишемизированного мозга, остаются в значительной мере не изученными.

Несмотря на различие этиологических факторов и пусковых механизмов развития ишемии головного мозга, одним из эфферентных звеньев нарушения структуры и функции нейронов, является образование активных форм кислорода с последующей индукцией свободнорадикальных реакций дестабилизации биологических мембран клеток [2,6].

Образование активных форм кислорода идет непрерывно и в условиях нормы, а процессы свободнорадикального окисления являются необходимым этапом различных метаболических процессов (Зайцев В.Г., Закревский В.И., 1998). Причем, образование активных форм кислорода может происходить в процессе переноса электронов в митохондриальной дыхательной цепи, в

реакциях, катализирующих оксидацию, в реакциях микросомального окисления с участием цитохром Р-450, в реакциях неферментативного окисления веществ (гемоглобина, адреналина и др.), в биологических системах с наличием ионов металлов с переменной валентностью и т.д. (Казимирко В.К., Мальцев В.И., 2004).

Тем не менее, чрезмерное образование активных форм кислорода приводит к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и соответственно к развитию дезинтеграции биологических мембран – цитоплазматических, лизосомальных, митохондриальных, дефициту АТФ, подавлению энергозависимых реакций в клетках, окислению SH-групп ферментов, инактивации глутатиона и дезорганизации нуклеиновых кислот и белков [3,6].

В связи с этим очевидна значимость экспериментальных исследований, направленных на изучение состояния процессов липопероксидации и активности антиоксидантных систем ишемизированного головного мозга, а также на поиск новых эффективных способов медикаментозной коррекции указанных метаболических расстройств.

Цель

Изучение содержания промежуточных продуктов липопероксидации - малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК), а также активности супероксиддисмутазы (СОД) и уровня восстановленного глутатиона в гомогенатах ишемизированного мозга и в процессе его реперфузии.

Материалы и методы исследования

Эксперименты поставлены на 50 беспородных белых крысах - самцах массой 250 – 300г. Ишемическое повреждение мозга моделировали частичным пережатием общих сонных артерий. Под эфирным наркозом проводили разрез кожи на передней поверхности шеи, освобождали от окружающих тканей общие сонные артерии и накладывали на них металлические зажимы, частично ограничивая мозговой кровоток в течение 90 мин. Затем зажимы снимали, обеспечивая реперфузию мозга.

Изучение метаболических сдвигов проведено в тканях коры головного мозга спустя 90 мин. с момента развития ишемии мозга, а также в условиях реперфузии головного мозга спустя 24 и 72 часа после снятия зажимов.

О состоянии процессов липопероксидации судили по содержанию в гомогенатах коры головного мозга МДА [5] и ДК [7].

О состоянии свободнорадикального окисления и активности антиоксидантной системы судили по уровню восстановленного глутатиона [1,4] – активного перехватчика гидроксильных радикалов, и по активности СОД [1], ускоряющей в десятки раз спонтанную дисмутацию супероксидного анион-радикала.

Результаты исследований были подвергнуты статистическому анализу с помощью программ Statistica 99 (Версия 5.5 А, «Statsoft, Inc», г. Москва, 1999); «Microsoft Excel, 97 SR-1» (Microsoft, 1997). Проведен расчет коэффициентов линейной корреляции (Реброва О.Ю., 2003).

Результаты и их обсуждение

Как показали результаты исследований, уже спустя 90 мин с момента развития ишемии возникла активация процессов липопероксидации в структурах коры головного мозга, о чем свидетельствовало избыточное накопление ДК ($p < 0.001$, рис. 1) и МДА ($p < 0.001$, рис. 1).

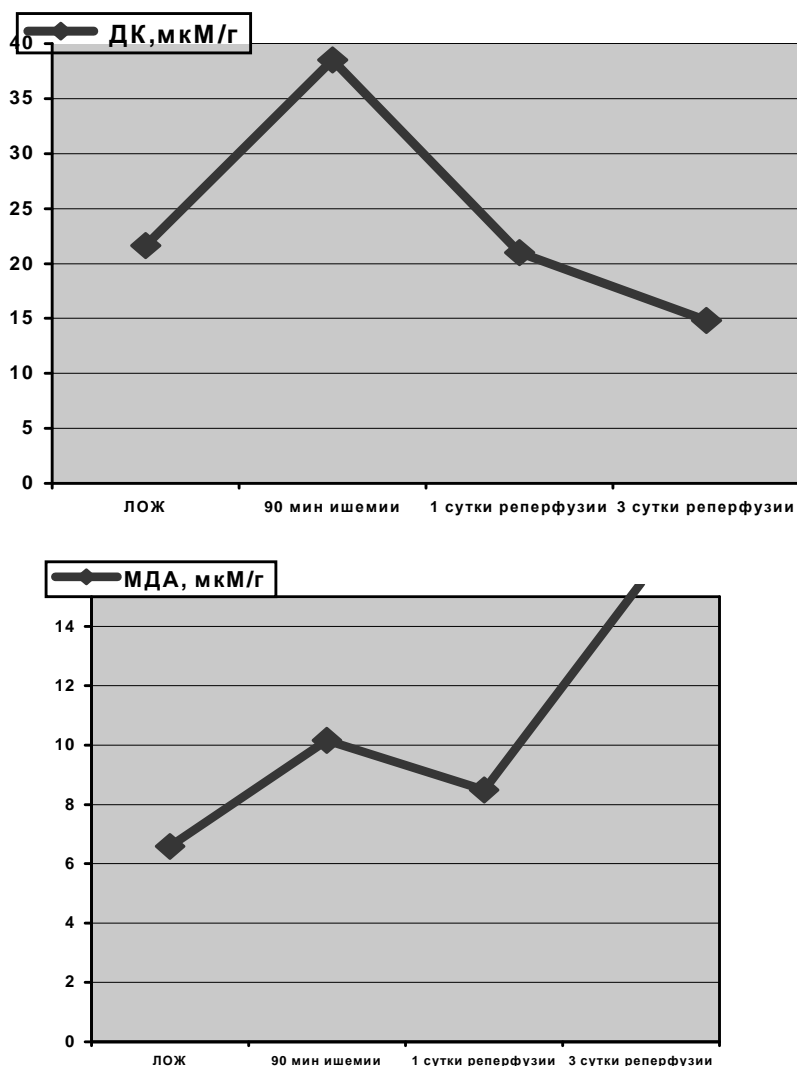


Рисунок 1. Содержание ДК и МДА в гомогенатах ишемизированного мозга и на фоне его реперфузии

Примечание: ЛОЖ – ложнооперированные животные. Степень достоверности полученных данных указаны в тексте.

Касаясь механизмов развития этого явления, следует отметить, что в условиях гипоксии АФК вступают во взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (ПНЖК) – важнейшими компонентами фосфолипидов биологических мембран. Причем, легче всего подвергается свободнорадикальному окислению арахидоновая кислота, имеющая наибольшее количество двойных связей. Отрыв ионов водорода от ПНЖК легче всего происходит в α – положении по отношению к двойной связи, что приводит к перемещению этой двойной связи с образованием ДК (Фархутдинов Р.Ф., Бикбулишов Н.Г., 1983; Иванов И.И., 1984; Петрович Ю.А., Гуткин Д.В. 1986).

В процессе дальнейшей окислительной дегенерации гидроперекисей липидов в клетке образуются высокотоксичные продукты ПОЛ – альдегиды, кетоны, спирты, накопление которых приводит к гибели клеток [6].

В последующих наблюдениях исследовано содержание промежуточных продуктов липопероксидации в процессе реперфузии головного мозга.

Как оказалось, спустя 24 часа с момента развития реперфузии содержание ДК в гомогенатах мозга нормализовалось ($p > 0.1$, рис. 1), в то время как уровень МДА заметно превышал показатели контроля ($p < 0.001$, рис. 1).

Спустя 3 суток с момента реперфузии мозга уровень ДК в гомогенатах мозга продолжал снижаться не только по отношению к показателям предыдущего периода наблюдения ($p < 0.01$, рис. 1), но и по отношению к показателям контроля. В тоже время, уровень МДА продолжил значительно возрастать ($p < 0.001$, рис. 1) как по отношению к показателям предыдущей группы наблюдения (1 сутки реперфузии), так и к уровню МДА на фоне экспериментальной ишемии мозга через 90 мин.

Таким образом, в процессе реперфузии предварительно ишемизированного мозга прогрессировали интенсификация ПОЛ и избыточное накопление высокотоксичного продукта МДА. Последнее убедительно свидетельствует о целесообразности использования в условиях ре-

перфузии предварительно ишемизированных структур мозга антиоксидантов.

Касаясь механизмов активации процессов липопероксидации в ишемизированном мозге, а также в процессе его реперфузии, необходимо остановиться на динамике изменений показателей активности СОД и уровня восстановленного глутатиона при изучении патологии.

Как оказалось, спустя 90 мин с момента развития ишемии мозга активность СОД резко снижалась ($p < 0.001$, рис. 2), спустя 1 сутки с момента реперфузии активность этого фермента оставалась низкой по сравнению с показателями контроля ($p < 0.001$, рис. 2), как и в группе животных с 90 мин ишемией мозга. Лишь к 3 суткам реперфузии активность СОД нормализовалась ($p > 0.1$, рис. 2).

Таким образом, прогрессирующая активация ПОЛ и избыточное накопление МДА в гомогенатах мозга к 3 суткам наблюдения не связаны с недостаточностью дисмутации супероксидного анион-радикала. Как известно, универсальной ловушкой свободных радикалов является восстановленный глутатион, так называемый «тиоловый щит», оберегающий SH – группы структурных и ферментных белков клеток от повреждающего действия окислителей, в том числе и свободных радикалов.

Как оказалось, спустя 90 мин с момента развития ишемии уровень восстановленного глутатиона в гомогенатах мозга резко снижался по сравнению с показателями контроля ($p < 0.001$, рис. 2), оставаясь на таком же низком уровне и спустя 1 сутки с момента реперфузии ($p < 0.001$, рис. 2). Спустя 3 суток после начала реперфузии уровень восстановленного глутатиона еще более снижался ($p < 0.001$, рис. 2) по сравнению с показателями контроля и предыдущих серий наблюдений. Причем, была обнаружена отрицательная корреляция между возрастанием уровня МДА и снижением содержанием восстановленного глутатиона в гомогенатах мозга. Полученные данные свидетельствуют о целесообразности включения в комплексную терапию при ишемическом повреждении головного мозга и его реперфузии донаторов SH – групп.

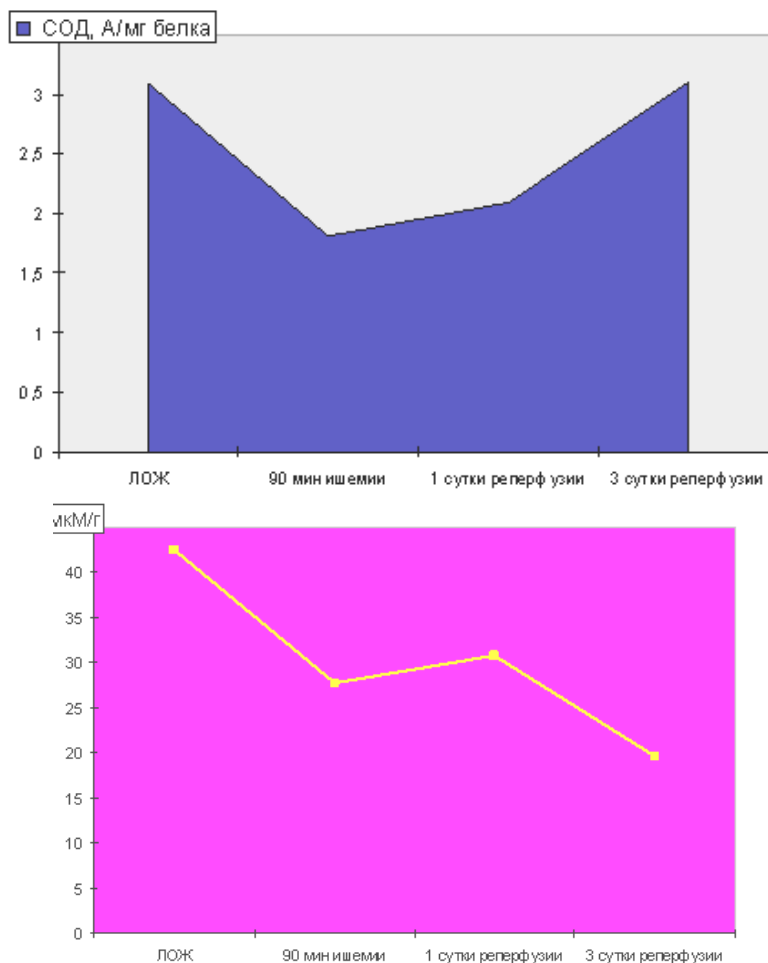


Рисунок 2. Содержание СОД и восстановленного глутатиона в гомогенатах ишемизированного мозга и на фоне его реперфузии

Примечание: ЛОЖ – ложнооперированные животные. Степень достоверности полученных данных указаны в тексте.

Выводы:

1. Характерными метаболическими сдвигами в ишемизированных структурах коры головного мозга является избыточное накопление МДА, ДК при одновременном снижении активности СОД и восстановленного глутатиона.

2. В процессе реперфузии предварительно ишемизированного мозга возникает прогрессирующая к 3 суткам наблюдения активация процессов липопероксидации, о чем свидетельствует избыточное накопление МДА, а также истощение системы антирадикальной защиты клеток, на что указывает низкий уровень восстановленного глутатиона.

3. В комплексной терапии патологических состояний, характеризующихся нарушением кровообращения головного мозга, последовательной сменой реакций ишемии и реперфузии, целесообразно использование эффективных мембранопротекторов, антиоксидантов, антиагрегантов, донаторов SH - групп.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Дубинина Е.Е., Сальникова Л.А., Ефимова Л.Д. Лабораторное дело, №10, 1983. – с. 30-33.
2. Зайчик А.Ш., Гурилов Л.П. Основы общей патологии. Часть 2. / А.Ш. Зайчик, Л.П. Гурилов. – Основы патохимии. – СПб.: ЭЛБИ, 2000. – 687с. – с.363-364.
3. Патологическая физиология и биохимия: Учебное пособие для ВУЗов / - М.: Издательство «Экзамен». 2005. – 480с. – с.140-151.
4. Путилина Ф.Е. Методы биохимических исследований – ЛГУ, Ленинград, 1982. – с.183-187.
5. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Современные методы в биохимии. - М.: Москва, 1977. - с.66-68.
6. Типовые патологические процессы / Н.П. Чеснокова: Монография / - Издательство Саратовского медицинского университета. 2004. – 400 с. - с. 132-136.
7. Ennor A. and H.Rosenberg. Biochem J. 51, 1952. – 606- 610.

**THE ACTIVATION OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES
AS THE UNIT PROCESS OF NERVE CELLS DECOMPOSITION AT CEREBRUM ISCHEMIA
IN THE COURSE OF ITS REPERFUSION**

Bulion V.V., Khnychenko L.K., Sapronov N.A.,

Kovalenko A.L., Alekseyeva L.E., Romantsov M.G., Chesnokova N.P., Bizenkova M.N.

*The department of neuropharmacology of experimental medicine scientific research institute of RAMS,
scientific-technological pharmaceutical company "Polysan", St.Petersburg,
Saratov state medical university, Saratov*

In the experiments on white rats with experimental ischemia of cerebrum the marked lipoperoxidation processes activation, the deficiency of antioxidant system are seen, and the excess accumulation of malonic dialdehyde (MDA), diene conjugates in cerebrum homogenates, the superoxide dismutase (SOD) activity deficiency, the drop in reduced glutathione level were a witness to the mentioned process. In the course of cerebrum reperfusion by the third day of observation the progressive MDA level increase with marked reduced glutathione deficiency arose. The lipoperoxidation processes activation is an important pathogenetic factor of cerebrum structures injuries at ischemia development and also in the course of its reperfusion.