

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

СОСТОЯНИЕ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС В УСЛОВИЯХ ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ

*Бородинский А.Н., Максимович Н.Е., Дремза И. К., Троян Э.И.,
Максимович Е.Н.*

УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
ИФБ НАНРБ,
г. Гродно, Республика Беларусь

Современные принципы лечения ишемических повреждений мозга направлены на устранение дефицита АТФ, коррекцию развивающегося ацидоза, ингибирование глутамат-кальциевого каскада, перекисного окисления липидов, ферментов катаболического действия («Диагностика и лечение инсульта». Рекомендации Минздрава РБ, 2008). Как известно терапевтические мероприятия направлены на восстановление кровообращения, что приводит к развитию реперфузионного синдрома, который является совокупным следствием пролонгирования ишемического повреждения тканей, формирования дополнительной альтерации тканей факторами реперфузии и реоксигенации. Известно, что постокклюзионная реперфузия наряду с основным – репаративным, восстановительным эффектом, также оказывает и повреждающее воздействие на ткани организма, т. е. имеет место пролонгирование и потенцирование повреждения реперфузированного органа после имевшей место ишемии. Энергетический дефицит в условиях ишемии мозга на начальных этапах вызывает ряд функциональных изменений: формируется ионный дисбаланс, ацидоз, повреждение рецепторного аппарата клеток, нарушается генерация биопотенциалов, наблюдается инактивация ферментов, в том числе антиоксидантной природы, страдают биосинтетические процессы.

Однако, следует отметить, что вопросы патогенеза реперфузионных повреждений головного мозга недостаточно исследованы, отсутствует комплексный терапевтический подход для их коррекции, направленный на активизацию возможных механизмов восстановления и, прежде всего, восстановления биоэнергетической функции нейронов.

Классические представления о развитии дегенеративных процессов в нейронах при развитии ПРС базируются на представлениях, лежащих в основе теории оксидативного стресса (Traystman R. J., 1991, Zweier J. L., 1994, Halliwell B., 1995, Shimizu H., 1997). Данные последних лет подтверждают и детализируют данную точку зрения, хотя и не дают исчер-

пывающей информации о ее механизмах. Возобновление потока кислорода в ишемизированную ткань на фоне повреждения компонентов дыхательной цепи сопровождается генерацией активных форм кислорода в митохондриях (Piantadosi C. A., 1996). Основными источниками реакционно-способных метаболитов при постишемическом реперфузионном синдроме являются эндотелиальные клетки, нейроны, активированные нейтрофилы, микроглиальные и паренхиматозные клетки, а одним из источников супероксиданиона при недостатке кислорода является ксантиноксидазная реакция (Fellman V., 1997, Mc Cord, 1968, Saugstad O. D., 1993). Этому же способствует образование активных кислородных радикалов НАДФН-оксидазным комплексом нейтрофилов аккумулируемых в сосудах ишемизированной и реперфузируемой ткани (Etzioni A., 1996, Yanaka K., 1996).

Цель работы – изучить динамику изменений параметров углеводного обмена, имеющих отношение к биоэнергетике головного мозга, у крыс в условиях реперфузии.

Материалы и методы исследований.

Проведены исследования состояния углеводного обмена (содержание пирувата, лактата) при моделировании его ишемии/реперфузии.

Эксперименты выполнены на 22 крысах линии Wistar массой 200-250 г. Животные находились на стандартном рационе вивария.

Проведены две серии исследований. Первую серию (n=10) составили животные контрольной группы. Вторую серию – животные опытной группы (ишемия/реперфузия), n=12. Ишемию-реперфузию головного мозга моделировали путем наложения и последующего снятия сосудистых зажимов на общие сонные артерии в условиях наркоза (в/в тиопентал натрия, 50 мг/кг массы тела). Исследования проведены через 1 час (ранний постреперфузионный период) и через 1 сутки (поздний постреперфузионный период) после возобновления мозгового кровотока.

Для исследований параметров углеводного обмена в головном мозге крыс осуществляли его забор после декапитации животных, неперфузированный головной мозг извлекали из черепной коробки на холоду (0-4° C), осушали фильтровальной бумагой, взвешивали и помещали в ледяную среду выделения (объемом 50 мл), а затем замораживали и хранили в жидком азоте.

Исследование концентрации лактата и пирувата осуществляли 20%-ных хлорнокислых гомогенатах головного мозга. Концентрацию пирувата и лактата определяли по образованию восстановленной или окисленной формы НАД, что эквивалентно количеству окисленного лактата или восстановленного пирувата. Регистрацию проводили спектрофотометрически при длине волны 340 нм на спектрофотометре «Specord UV-VIS» (Aisen P., 1968).

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы «Statistica 6,0». После проверки данных на нормальность распределения по критерию Шапиро-Уилка использовали непараметрические методы статистики: рассчитывали медиану, межквартильный интервал (25-

й и 75-й процентилях). Различия между группами устанавливали с помощью критерия Манна-Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований.

С помощью ферментативных методов установлены средние концентрации пирувата и лактата в мозге интактных животных ($0,137 \pm 0,014$ и $1,25 \pm 0,15$ мкмоль на 1 г сырой массы ткани), соответственно. Об активации анаэробных гликолитических процессов в условиях ишемии/реперфузии мозга (1 час) свидетельствовало резкое возрастание содержания лактата (почти в 2,3 раза) в гомогенатах мозга ($p < 0,001$), при одновременном снижении содержания пирувата ($p < 0,01$). Коэффициент лактат/пируват при этом существенно повышался по сравнению с таковым показателем ложнооперированных животных. Как известно, ЛДГ катализирует обратимую реакцию взаимопревращения лактата и пирувата и обладает высокой активностью. В условиях гипоксии повышается скорость поглощения пирувата и превращения его в молочную кислоту, что подтверждается полученными данными. В течение суточного реперфузионного периода содержание лактата в гомогенатах мозга уменьшалось ($p < 0,01$) по сравнению с ранним периодом ишемии/реперфузии, но превышал показатель у интактных животных. Одновременно при этом еще больше падало содержание пирувата по сравнению с его уровнем у контрольных животных ($p < 0,001$), что приводило к дальнейшему возрастанию отношения – лактат/пируват.

Заключение. Анализируя полученные результаты можно заключить, что в течение 1-часовой ишемии и последующих 1-часового (раннего) и 1-суточного (позднего) реперфузионных периодов развиваются существенные нарушения углеводного обмена, проявляющиеся в уменьшении активности кислородзависимых механизмов и компенсаторной активации анаэробных механизмов энергообразования в головном мозге.

Очевидно, что в течение реперфузионного периода развивается повреждение как ферментов цикла Кребса, так и комплексов электротранспортной цепи митохондрий образующимися свободными радикалами кислорода вследствие утечки электронов из комплексов, что в конечном итоге приводит к снижению включения пирувата в аэробный энергообмен митохондриями и активации его превращения в лактат.

Снижение концентрации пирувата в поздний реперфузионный период (1 сутки) может быть связано с постепенным восстановлением активности цикла Кребса и более активным включением субстрата в аэробный энергообмен, а также с высокой активностью лактатдегидрогеназы и превращением пирувата в лактат и, возможно, со снижением активности гексокиназной реакции.

Работа выполнена при поддержке гранта БРФФИ № Б11ОБ-122 от 15 апреля 2011 года.