

УДК: 615.21:616:831-005.4

Возможности предотвращения неврологических осложнений сахарного диабета рецепторным антагонистом интерлейкина-1 А.С.Супрун

*Национальный фармацевтический университет (Харьков, Украина)
alexey_suprun@rambler.ru*

На модели аллоксанового диабета у крыс изучено влияние тиоцетама и рецепторного антагониста интерлейкина-1 (РАИЛ-1) (7,5 мг/кг) на показатели окислительной модификации белков (ОМБ), показатели тиол-дисульфидной системы (ТДС) и энергетического метаболизма. Установлено, что развитие гипергликемии у экспериментальных животных сопровождалось повышением уровней маркеров ОМБ – АФГ и КФГ, снижением активности энзимов ТДС (глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы), разнонаправленными сдвигами тиол-дисульфидного равновесия (повышение уровней окисленных форм глутатиона и тиолов на фоне резкого снижения их восстановленных форм) и ростом нейротоксичных показателей гомоцистеина и нитротирозина. Доказано, что курсовое введение тиоцетама и РАИЛ-1 способствовало стабилизации показателей ОМБ и ТДС, нормализации активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, снижению уровней гомоцистеина и нитротирозина, максимальная активность отмечена у РАИЛ-1. Проведено ранжирование изученных показателей, в условиях развития аллоксанового диабета определены наиболее значимые изменения этих параметров, степень их коррекции при экспериментальной терапии тиоцетамом и РАИЛ-1, и выявлены значимые корреляции.

Ключевые слова: *интерлейкин-1, рецепторный антагонист интерлейкина-1, экспериментальный сахарный диабет, тиол-дисульфидная система, окислительная модификация белков.*

Можливості запобігання неврологічних ускладнень цукрового діабету рецепторним антагоністом інтерлейкіну-1 О.С.Супрун

На моделі алоксанового діабету у щурів вивчено вплив тиоцетама і рецепторного антагоніста інтерлейкіну-1 (РАИЛ-1) (7,5 мг/кг) на показники окислювальної модифікації білків (ОМБ), показники тиол-дисульфідної системи (ТДС) та енергетичного метаболізму. Встановлено, що розвиток гіперглікемії у експериментальних тварин супроводжувався підвищенням рівнів маркерів ОМБ – АФГ і КФГ, зниженням активності ензимів ТДС (глутатионпероксидази і глутатионредуктази), різноспрямованими зрушеннями тиол-дисульфідної рівноваги (підвищення рівнів окислених форм глутатіону і тиолів на тлі різкого зниження їх відновлених форм) і зростанням рівнів нейротоксичних гомоцистеїну і нітротирозину. Доведено, що курсове введення тиоцетама і РАИЛ-1 сприяло стабілізації показників ОМБ і ТДС, нормалізації активності глутатионпероксидази і глутатионредуктази, зниженню рівнів гомоцистеїну і нітротирозину, максимальна активність відзначена у РАИЛ-1. Проведено ранжування вивчених показників, в умовах розвитку алоксанового діабету визначені найбільш значимі зміни цих параметрів, ступінь їх корекції при експериментальній терапії тиоцетамом і РАИЛ-1 та виявлено значущі кореляції.

Ключові слова: *інтерлейкін-1, рецепторний антагоніст інтерлейкіну-1, експериментальний цукровий діабет, тиол-дисульфідна система, окислювальна модифікація білків.*

Opportunity for receptor antagonist of interleukin-1 to prevent neurological complication of pancreatic diabetes A.S.Suprun

On the model of alloxan diabetes in rats there was studied the effect of thioacetam and receptor antagonist of interleukin-1 (RAIL-1) (7.5 mg/kg) on the performance of oxidative modification of proteins (OMP), thiol-disulfide system (TDS) and energy metabolism. It was founded that development of hyperglycemia in experimental animals was accompanied with increase of levels of OMP markers – AFG and CFK, decrease of activity of enzymes of TDS (glutathionperoxidase and glutathionreductase), multiway changes in thiol-disulphide balance (increased levels of oxidized glutathione and thiols on a background of sharp decrease of their oxidative forms) and increase of neurotoxic homocysteine and nitrotyrosine. It was proved that the course of administration of thioacetam and RAIL-1 contributed to the stabilization of indicators of OMP and TDS, normalization of activity of glutathionperoxidase and glutathionreductase, decrease of levels of homocysteine and nitrotyrosine, the maximum activity was observed in RAIL-1. Ranging of studied parameters was made; at development of alloxan diabetes there were identified the most significant changes in these parameters and degree of their correction in experimental therapy with thioacetam and RAIL-1, and significant correlations were found.

Key words: *interleukin-1, receptor antagonist of interleukin-1, experimental pancreatic diabetes, thiol-disulfide system, oxidative modification of proteins.*

Введение

Среди основных причин летальности и стойкой утраты трудоспособности специалисты выделяют цереброваскулярную болезнь как проявление диабетических макроангиопатий при сахарном диабете. Сахарный диабет (СД) входит в число 7 главных причин смертности населения в большинстве стран мира и занимает среди непосредственных причин смерти третье место после сердечно-сосудистых и онкологических заболеваний (Nathan et al., 2009). Распространенность СД высока на всех континентах и в различных возрастных и расовых популяциях, и имеет стойкую тенденцию к росту – в Украине за последние 10 лет количество больных сахарным диабетом увеличилось более чем в 1,5 раза и составляет около 1 млн. человек, поэтому решение проблем терапии СД поставлено на уровень государственных задач (Дедов, 2010). В настоящее время во всем мире накоплены доказательства того, что эффективный контроль диабета может свести к минимуму развитие многих связанных с ним осложнений. Продолжительность жизни больного и его работоспособность определяют, в первую очередь, диабетические микро- и макроангиопатии: нефропатия, ретинопатия, гангрена, инфаркт миокарда, инсульт. Относительный риск развития инсульта у лиц с СД в 1,8–6 раз выше по сравнению с лицами без СД. В исследовании MRFIT (Multiple Risk Factor Intervention Trial – изучение значимости множественных факторов риска) риск смерти от инсульта среди пациентов с СД был в 2,8 раза выше по сравнению с пациентами без СД, при этом риск смерти от ишемического инсульта был выше в 3,8 раза, от субарахноидального кровоизлияния – в 1,1 раза и от внутримозгового кровоизлияния – в 1,5 раза (Stamler et al., 1993).

Высокая частота осложнений СД обусловлена нарушениями тканевого метаболизма с масштабным повреждением микрокапиллярного русла органов, что приводит к формированию мультиорганный патологии, в том числе неврологических осложнений СД: микро- и макроангиопатий, энцефалопатий, нарушений мозгового кровообращения, дистальных невропатий (Аметов, 2011). При СД дефицит инсулина приводит к нарушению обмена углеводов, жиров и белков, провоцирует гипергликемию, инсулинорезистентность и энергодефицит, активацию синтеза активных форм кислорода (АФК), свободных радикалов и продуктов перекисного окисления липидов, т.е. формирует патофизиологическую картину оксидативного стресса. Оксидативный стресс характеризуется интенсификацией процессов свободно-радикального окисления на фоне снижения активности системы антиоксидантной системы, при этом АФК «атакуют» белки, липиды и нуклеиновые кислоты клеток и вызывают их окислительную модификацию (Манухина и др., 2007). Поэтому главной задачей эффективной терапии и профилактики неврологических осложнений СД является блокирование взаимообусловленных механизмов прогрессирования СД – сосудистых, метаболических и феномена оксидативного стресса, в связи с чем все большее внимание уделяется препаратам с антиоксидантным действием.

Для антиоксидантной системы важное значение имеют окислительно-восстановительные реакции, в ходе которых тиоловые группы легко окисляются с образованием, как правило, дисульфидных группировок, и вновь регенерируют при их восстановительном расщеплении – обратимая тиол-дисульфидная система (ТДС). Интермедиаты ТДС обладают транспортными свойствами в отношении оксида азота (NO), тем самым повышая его биодоступность, кроме того, многие тиолы – глутатион, цистеин, метионин способны значительно ограничивать цитотоксичность NO и его дериватов, увеличивая шанс нейрона выжить при ишемии (Колесник и др., 2013).

Трансммиттерами межклеточного взаимодействия в норме и при патологии, которые формируют сеть коммуникативных сигналов между клетками иммунной системы и клетками других органов и тканей и обеспечивают в очаге ишемии/гипоксии как повреждающее действие, так и систему жизнеспособности клеток, являются цитокины (интерлейкины, интерфероны и т.д.). Цитокины – многофункциональные растворимые полипептидные медиаторы, которые подразделяют на провоспалительные (интерлейкины – IL-1, IL-6, IL-8, фактор некроза опухолей – FNO α и др.) и регуляторные (факторы роста, IL-10, IL-4). По современным представлениям, характер иммунного ответа и особенности развития патофизиологических изменений при ишемически/гипоксических тканевых расстройствах зависит от преимущественной активации субпопуляций Т-лимфоцитов, синтеза ими цитокинов различных типов и формирования «цитокинового каскада», а именно соотношения провоспалительных и противовоспалительных цитокинов. Так, в условиях ишемического повреждения ткани мозга активированная микроглия начинает продуцировать провоспалительные цитокины, в первую очередь интерлейкин-1 (IL-1), который способствует увеличению отека мозговой ткани, размера инфарктной зоны, количества адгезированных к

эндотелию и инфильтрующихся в область ишемии нейтрофилов. Это индуцирует и поддерживает воспалительную реакцию в очаге ишемии и ведет к отсроченным нейрональным потерям. Установлено, что у больных с острым ишемическим инсультом уже в первые 2–5 часов в плазме крови и спинномозговой жидкости увеличиваются концентрации IL-1 β и FNO α на фоне недостаточности противовоспалительных и трофических факторов. Доказано, что даже незначительное увеличение концентрации провоспалительных факторов способствует ухудшению клинического состояния пациентов, хронизации процесса, повышает вероятность тяжелых постинсультных осложнений и инвалидизации (Кетлинский, Симбирцев, 2008).

В ответ на экспрессию IL-1 секретируется рецепторный антагонист интерлейкина-1 (IL-1ra), который ингибирует эффекты IL-1 путем конкурентного связывания специфических мембранных рецепторов. Это способствует выживаемости нейронов и уменьшает процессы постишемического рубцевания. Следовательно, эффективным перспективным звеном в комплексной терапии постишемических неврологических осложнений при СД может стать применение цитокиновых препаратов, в том числе IL-1ra.

Цель исследования – изучение динамики показателей ТДС, энергетического метаболизма, ОМБ и морфометрических параметров в тканях головного мозга крыс с экспериментальным СД при применении церебропротектора метаболического действия тиоцетама и цитокинового препарата – рекомбинантного рецепторного антагониста интерлейкина-1 (IL-1ra).

Материалы и методы исследования

Рецепторный антагонист интерлейкина-1 (РАИЛ-1) получен в Санкт-Петербургском НИИ особо чистых биопрепаратов путем генной трансформации бактерий *E. coli*. Исследования проводились на 50 белых крысах линии Вистар массой 250–300 г, содержащихся в стандартных условиях вивария и распределенных на 4 группы по десять животных в каждой (Доклинические исследования ..., 2002). Первая группа – интактные животные, вторая – животные с экспериментальным сахарным диабетом (СД, контроль), третья – животные с СД, которым вводили тиоцетам в дозе 500 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки (группа СД+Тиоцетам); четвертая – животные с СД, которым вводили РАИЛ-1 в дозе 7,5 мг/кг внутримышечно 1 раз в сутки (группа СД+РАИЛ-1). Животным первой и второй групп на протяжении исследования в соответствующем объеме внутримышечно вводили стерильный физиологический раствор. Экспериментальный диабет моделировали с помощью однократного подкожного введения водного раствора аллоксана моногидрата (Sigma, США) в дозе 150 мг/кг в виде 5% раствора в ацетатном буфере, pH 4,5. Введение данного вещества осуществляли после предварительной 24-часовой депривации пищи, при сохраненном доступе к воде. С целью формирования полного и стабильного диабета животных содержали на протяжении 11 суток на стандартной диете. Уровень глюкозы крови определялся на 11 сутки после введения аллоксана с помощью глюкометра Optium Omega (Abbot Diabetes Care Inc., США). Для последующих исследований использованы только животные с повышенным уровнем глюкозы (>11 ммоль/л).

Материалом для биохимических исследований явились фрагменты ткани головного мозга, находящиеся в области среднемозговой артерии и гомогенизированные в жидком азоте. Цитозольную фракцию выделяли методом дифференциального центрифугирования (15000 g) при температуре +4°C на 0,15 М фосфатном буфере, pH 7,8. Безбелковый экстракт получали добавлением точного количества гомогената ткани мозга в хлорную кислоту (0,6 М) с последующей нейтрализацией 5,0 М калия карбонатом. Для изучения активности тиол-дисульфидной системы в гомогенате головного мозга крыс определяли уровни восстановленных и окисленных тиолов и глутатиона, активность глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Содержание суммарных SH-групп определяли спектрофотометрически (Камышников, 2003). Концентрацию глутатиона окисленного и восстановленного определяли флюорометрически (Кулинский и др., 2005). Активность ферментов тиол-дисульфидной системы – глутатионпероксидазы (ГП) и глутатионредуктазы (ГР) – определяли спектрофотометрически (Асатиани, 1969). Нитротирозин определяли твердофазным иммуносорбентным методом с помощью набора фирмы ELISA, содержание цистеина, гомоцистеина в гомогенате определяли хроматографически (Камышников, 2003). Также в гомогенате мозга биохимическими методами определяли содержание продуктов окислительной модификации белка по уровню альдегидных (АФГ) и карбоксильных (КФГ) продуктов (Дубкіна, 2001). Статистическую обработку данных производили с помощью пакета программы «Statistica 6.0», сравнительный анализ

в группах проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA для множественных сравнений. Статистически значимыми считали отличия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В нашем исследовании ишемическое поражение ткани головного мозга экспериментальных животных с экспериментальным СД сопровождалось увеличением в гомогенате мозга маркеров ОМБ – альдегидфенилгидразонов (АФГ) и кетонфенилгидразонов (КФГ), которые образуются в условиях оксидативного стресса (рис. 1). В нашем исследовании развитие аллоксанового диабета сопровождалось выраженным повышением уровней АФГ и КФГ – на 131% ($p < 0,001$) и 124% ($p < 0,001$) соответственно.

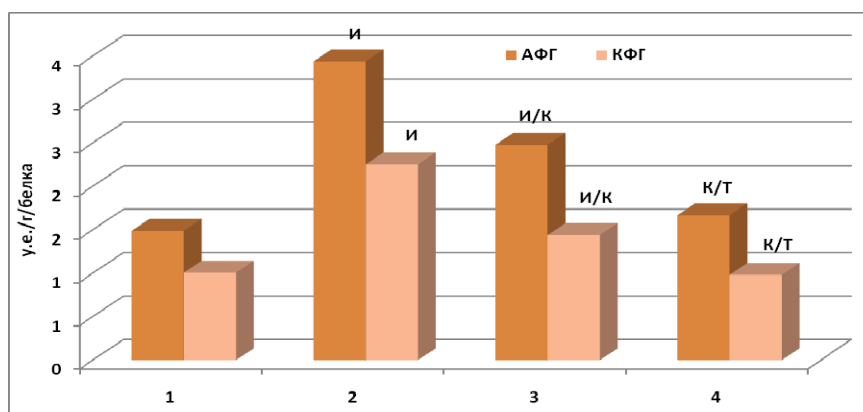


Рис. 1. Содержание альдегидных (АФГ) и карбоксильных (КФГ) продуктов в тканях головного мозга крыс с СД

Примечания к рис. 1–4: 1 – интактные крысы; 2 – сахарный диабет; 3 – сахарный диабет + Тиоцетам; 4 – сахарный диабет + РАИЛ-1. Статистически достоверные отличия ($p < 0,05$) относительно интактных крыс отмечены знаками «И», относительно крыс с сахарным диабетом – знаками «К», относительно крыс группы СД+Тиоцетам – знаками «Т».

При формировании аллоксанового диабета у животных отмечена стабильное снижение активности ферментов тиол-дисульфидной системы в гомогенате мозга экспериментальных животных – ГР на 79% ($p < 0,001$) и ГП на 76% ($p < 0,001$) по сравнению с группой интактных животных (рис. 2).

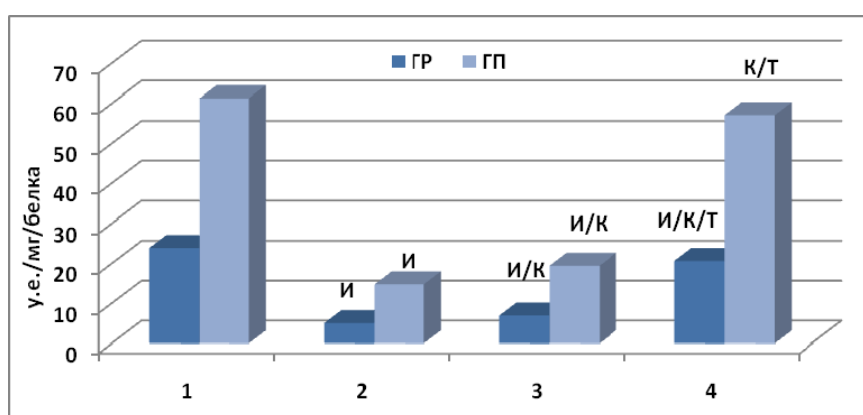


Рис. 2. Активность глутатионредуктазы (ГР) и глутатионпероксидазы (ГП) в тканях головного мозга крыс с СД

Развитие СД сопровождалось нарушением тиол-дисульфидного равновесия и выраженными дискордантными сдвигами – резким снижением относительно показателей интактных животных

восстановленных форм тиолов и глутатиона на фоне повышения уровней окисленных тиолов в 5,7 раза ($p < 0,001$) и уровней окисленных форм глутатиона в 2,7 раза ($p < 0,001$), что подтверждает формирование выраженных нарушений внутриклеточного пула глутатиона (рис. 3).

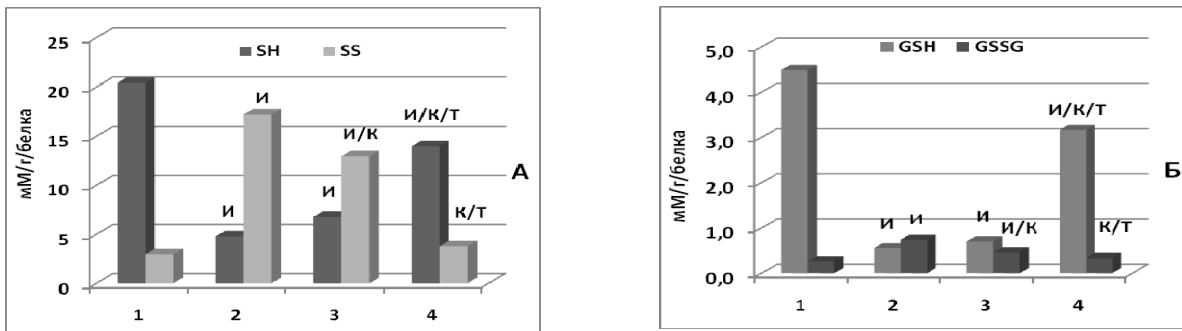


Рис. 3. Показатели восстановленных (SH) и окисленных (SS) тиолов (А), восстановленных (GSH) и окисленных (GSSG) форм глутатиона (Б) в тканях головного мозга крыс с СД

Формирование аллоксан-индуцированного диабета сопровождалось также снижением относительно интакта уровней цистеина на 64% ($p < 0,001$) на фоне резкого подъема уровней потенциальных нейротоксических веществ – гомоцистеина (в 5,1 раза, $p < 0,001$) и нитротирозина (в 6 раз, $p < 0,001$), что подтверждает развитие окислительного и нитрозирующего стресса в тканях головного мозга крыс с экспериментальным СД (рис. 4).

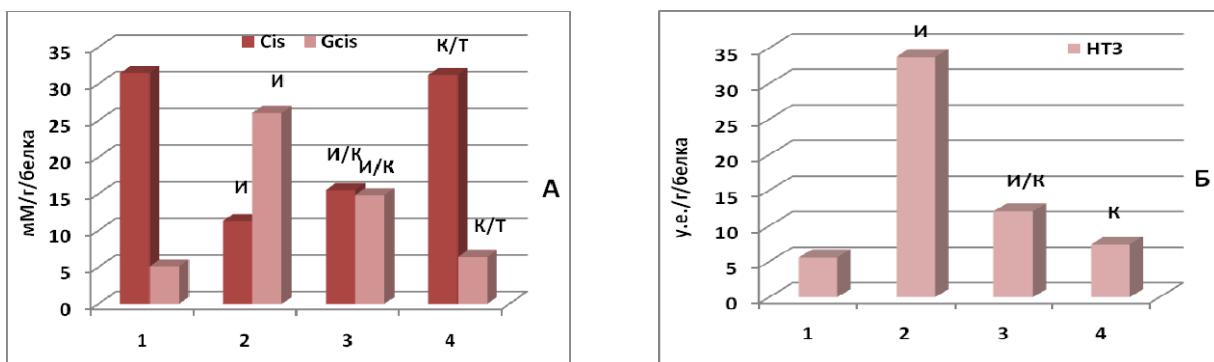


Рис. 4. Содержание цистеина (Cis), гомоцистеина (Gcis) (А) и нитротирозина (НТЗ) (Б) в тканях головного мозга крыс с СД

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что экспериментальная терапия тиоцетамом и РАИЛ-1 оказала влияние на тиол-дисульфидное соотношение (рис. 1–4). На фоне введения Тиоцетама у экспериментальных животных отмечено достоверное снижение маркеров ОМБ, (снижение КФГ на 36% ($p < 0,001$)), а также блокирование образования окисленных форм глутатиона на 25% ($p < 0,01$) и тиолов на 39% ($p < 0,001$) на фоне повышения уровней их восстановленных форм – соответственно на 27% и 43% ($p < 0,01$) и повышения активности ГР и ГП на 32–37 % относительно контрольных показателей.

Курсовое введение РАИЛ-1 животным с СД способствовало наиболее значимой стабилизации окислительной модификации белков и снижению их маркеров в ткани головного мозга более чем в 2 раза ($p < 0,001$), при этом показатель КФГ практически достиг показателей интактных животных. На фоне введения РАИЛ-1 отмечено также выраженное влияние на тиол-дисульфидное равновесие – восстанавливается состояние энзимов ТДС (активность ГР и ГП повышается почти в 4 раза ($p < 0,001$)), при этом активно повысились уровни восстановленных форм глутатиона и тиолов (до 70% от показателей интакта) и снизились уровни окисленных форм глутатиона и тиолов соответственно

на 55% ($p < 0,001$) и 78% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными. Применение РАИЛ-1 также привело к практически равнозначному снижению в тканях мозга уровней нейротоксичных гомоцистеина и нитротирозина соответственно на 75% ($p < 0,001$) и 78% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольными, при этом уровни цистеина восстановились практически до показателей интактных животных. У животных группы Тиоцетама отмечена подобная динамика этих показателей, но менее выраженная.

Выявленные достоверные отличия вышеуказанных показателей не демонстрируют степень этих отличий. Для решения этого вопроса был использован нормированный t -критерий (Генкин, Гублер, 1964). При анализе степени отличия от норматива показателей у интактных крыс были выделены три кластера отличий. В первый кластер с очень выраженными отличиями ($t > 40,0$) вошли два показателя: Cis ($t = 66,5$) и ГР ($t = 43,4$). Второй кластер – кластер с выраженными отличиями от контроля ($40,0 > t > 20,0$) – составили таких пять параметров: КФГ ($t = 31,8$), НТЗ ($t = 28,9$), SH ($t = 26,7$), АФГ ($t = 26,3$) и SS ($t = 26,2$). Третий кластер представил признаки с умеренными и незначительными отклонениями от норматива ($20,0 > t > 12,1$). К ним относятся: GSSG ($t = 18,5$), Gcis ($t = 15,9$), GSH ($t = 13,9$) и ГР ($t = 9,9$).

Использование среднеарифметических значений t -критерия позволяет провести комплексную оценку степени отклонения от норматива отдельных компонент показателей состояния тканей мозга при аллоксан-индуцированном диабете. С этой целью все изучаемые показатели в зависимости от их участия в каскаде патофизиологических изменений при СД и формирования неврологических осложнений были распределены на пять групп: в 1-ю группу вошли показатели, отражающие степень выраженности оксидативного стресса (АФГ, КФГ), во 2-ю – показатели, характеризующие состояние энзимов ТДС (ГР, ГП), в 3-ю – показатели, отражающие состояние восстановленных форм компонентов ТДС (SH, GSH), в 4-ю – показатели, характеризующие состояние окисленных форм компонентов ТДС (SS, GSSG), в 5-ю – показатели, позволяющие судить о метаболизме и транспорте NO и отражающие состояние системы NO и его дериватов (Cis, Gcis, НТЗ).

Полученные данные свидетельствуют, что доминирующими показателями функционального состояния тканей мозга у крыс явились показатели, характеризующие состояние системы NO ($t = 37,13$). Значения этих параметров настолько велики, что даже в среднеарифметическом выражении превышают пороговое значение достоверных отличий в 3,7 раза ($t = 9,87$, $p < 0,05$). Вторыми по степени отличий от пороговых достоверных значений расположились показатели, отражающие степень выраженности оксидативного стресса, которые отличаются от пороговых значений практически в 3 раза ($t = 29,03$). Далее следуют показатели, характеризующие состояние энзимов ТДС ($t = 26,61$). Менее всего значимыми оказались показатели, характеризующие состояние окисленных ($t = 22,43$) и восстановленных форм компонентов ТДС ($t = 20,33$). Согласно полученным корреляциям для физиологического состояния тканей мозга у крыс характерны стабильный метаболизм и транспорт NO (Cis, Gcis, НТЗ), что предупреждает развитие оксидативного стресса (АФГ, КФГ), сочетается с достаточной активностью энзимов ТДС (ГР, ГП) и необходимым соотношением окисленных форм компонентов ТДС (SS, GSSG) и их восстановленных форм (SH, GSH).

Определение степени отличия изучаемых показателей у крыс с СД относительно контрольных показало, что наибольшие нарушения отмечены для оксидантно-антиоксидантных процессов с преобладанием первых. Так, увеличение содержания позднего маркера окислительной модификации белков КФГ занимает первый ранг ($t = 47,8$). Анализ результатов нашего исследования показал, что доминирующим видом нарушения показателей функционального состояния тканей мозга у крыс с СД явились показатели, которые отражают степень выраженности оксидативного стресса ($t = 34,9$) и превышают пороговое значение достоверных отличий практически в 3 раза ($t = 12,095$, $p < 0,05$). Далее по степени отклонения располагаются показатели, характеризующие состояние энзимов ТДС ($t = 30,61$) и состояние восстановленных форм компонентов ТДС ($t = 29,11$). Менее всего нарушенными оказались показатели, характеризующие состояние системы NO ($t = 18,39$) и окисленных форм компонентов ТДС ($t = 15,08$). Полученные корреляции позволяют сделать вывод, что для СД характерна активизация оксидативного стресса (АФГ, КФГ), сочетающаяся с изменениями ТДС – снижением активности энзимов (ГР, ГП) и уровней восстановленных форм тиолов и глутатиона, нарушениями метаболизма и транспорта NO и повышением окисленных форм компонентов ТДС.

Анализ экспериментальной терапии показал, что доминирующими показателями состояния тканей мозга у крыс с СД на фоне введения тиоцетама явились показатели, характеризующие состояние системы NO ($t = 46,87$). Следующими по степени отличий от пороговых достоверных значений расположились показатели, характеризующие состояние энзимов ТДС ($t = 27,77$) и показатели,

отражающие степень выраженности оксидативного стресса ($t=30,89$). Менее всего значимыми оказались показатели, характеризующие состояние восстановленных ($t=16,94$) и окисленных форм компонентов ТДС ($t=15,22$). Эти соотношения изученных показателей приближаются к структуре изученных показателей у интактных животных. Так, первый ранг занимает уровень Cis ($t=51,1$), что, вероятно, отражает особенности механизма действия тиоцетама (за счет входящего в его состав антиоксиданта тиотриазолина) по оказыванию защитного действия в отношении транспорта NO , что тем самым повышает его биодоступность за счет сохранения достаточного количества для защиты и транспорта NO -тиосодержащих молекул. Полученные данные согласуются с результатами изучения нейропротективной активности Тиоцетама (Беленичев и др., 2009).

Назначение РАИЛ-1 также существенно изменило соотношение изученных параметров в тканях головного мозга у экспериментальных животных. Доминирующими показателями при формировании аллоксан-индуцированного диабета в группе РАИЛ-1 явились показатели, характеризующие состояние восстановленных форм ТДС ($t=41,48$), и показатели, характеризующие состояние энзимов ТДС ($t=40,79$). Следующими расположились показатели, характеризующие состояние окисленных форм компонентов ТДС ($t=3,91$), и показатели, характеризующие состояние системы NO ($t=35,6$). Менее всего значимыми оказались показатели, отражающие степень выраженности оксидативного стресса ($t=20,74$). Полученные корреляции позволяют сделать вывод, что в условиях экспериментальной гипергликемии РАИЛ-1 оказывает выраженное влияние на стабилизацию уровней восстановленных тиолов и глутатиона путем активизации ГР и ГП, что приводит к снижению уровней окисленных интермедиатов ТДС, нормализации метаболизма и транспорта NO и блокирует последствие оксидативного стресса.

Таким образом, при ишемическом поражении ткани мозга на модели аллоксан-индуцированного диабета у крыс наблюдаются активация свободно-радикальных процессов, а именно окислительной модификации белков, сдвиг равновесия ТДС за счет значительного снижения активности энзимов ТДС (ГР и ГП) и ее восстановленных интермедиатов на фоне роста окисленных форм. Снижение уровня восстановленного глутатиона в тканях мозга, обнаруженное нами у крыс с аллоксановым диабетом, может быть следствием нарушения его синтеза, связанного с нарушением тканевого дыхания, обусловленного как гипоксией, так и сахарным диабетом. Это, в свою очередь, приводит к уменьшению уровня АТФ, необходимой для синтеза глутатиона. Кроме того, недостаточный уровень восстановленного глутатиона в условиях ишемии не способен блокировать взаимодействие NO с супероксид-анионом с последующим образованием пероксинитрита. Результаты нашего исследования подтверждают, что сдвиг равновесия ТДС сопровождается нарушениями метаболизма и транспорта NO и приводит к резкому повышению уровней нейротоксичных гомоцистеина и нитротирозина. Подобные патобиохимические изменения приводят к существенным функциональным изменениям в клетках головного мозга и часто являются необратимыми, что клинически проявляется неврологическими осложнениями СД.

Для эффективной терапии СД и предупреждения его неврологических осложнений необходимо искать средства для прерывания патогенетического постгипоксического каскада в тканях головного мозга на максимально ранних этапах, в том числе на этапе формирования диспропорции оксидантно-антиоксидантных процессов, что позволит добиться максимального протективного эффекта. Стабилизация функционирования антиоксидантной системы глутатиона и ГП/ГР ферментов позволит защитить ткани головного мозга от проявлений оксидативного и нитрозирующего стресса, а именно предупредить деполяризацию и дестабилизацию внутренней мембраны митохондрий с последующим формированием митохондриальной дисфункции, энергетического дисбаланса и иных постишемических последствий. РАИЛ-1 в условиях экспериментальной гипергликемии достоверно уменьшал негативное воздействие в тканях головного мозга окислительной модификации белков, способствовал нормализации активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, стабилизации уровней восстановленного глутатиона, нормализации метаболизма и транспорта NO , блокируя тем самым последствие оксидативного и нитрозирующего стрессов.

Выводы

1. Постишемическое поражение ткани головного мозга экспериментальных животных на модели аллоксан-индуцированного диабета сопровождалось выраженной активацией окислительной модификации белков (увеличение в гомогенате мозга маркеров АФГ и КФГ), снижением активности ГР и ГП, дискордантными сдвигами тиол-дисульфидного равновесия (снижение уровней

восстановленного глутатиона и тиолов на фоне значительного роста их окисленных форм), ростом нейротоксичных гомоцистеина и нитротирозина.

2. Курсовое применение тиоцетама и РАИЛ-1 способствовало снижению активности реакций свободно-радикального окисления в тканях головного мозга крыс с СД.

3. Активность РАИЛ-1 в отношении стабилизации активности ГР и ГП и ингибирования проявлений оксидативного и нитрозилирующего стресса превышает таковые тиоцетама.

Список литературы

Аметов А.С. Сахарный диабет. Проблемы и решения. Руководство. – М., 2011. – 680с. /Ametov A.S. Sakharnyy diabet. Problemy i resheniya. Rukovodstvo. – M., 2011. – 680s./

Асатиани В.С. Ферментные методы анализа. – М.: Наука, 1969. – 739с. /Asatiani V.S. Fermentnyye metody analiza. – M.: Nauka, 1969. – 739s./

Беленичев И.Ф., Черный В.И., Колесник Ю.М. и др. Рациональная нейропротекция. – Донецк: Изд. дом Заславский, 2009. – 261с. /Belenichev I.F., Cherniy V.I., Kolesnik Yu.M. i dr. Ratsional'naya neyroprotektsiya. – Donetsk: Izd. dom Zaslavskiy, 2009. – 261s./

Генкин А.А., Гублер Е.В. Применение последовательного статистического анализа для дифференциальной диагностики и использование этого метода для различения двух форм ожоговой болезни // Применение математических методов в биологии. – Л.: Изд-во ЛГУ, 1964. – Вып.1. – С.174–176. /Genkin A.A., Gubler Ye.V. Primeneniye posledovatel'nogo statisticheskogo analiza dlya differentsial'noy diagnostiki i ispol'zovaniye etogo metoda dlya razlicheniya dvukh form ozhogovoy bolezni // Primeneniye matematicheskikh metodov v biologii. – L.: Izd-vo LGU, 1964. – Vip.1. – S.174–176./

Дедов И.И. Сахарный диабет: развитие технологий в диагностике, лечении и профилактике (плерная лекция) // Сахарный диабет. – 2010. – №3 (48). – С. 6–13. /Dedov I.I. Sakharnyy diabet: razvitiye tekhnologiy v diagnostike, lechenii i profilaktike (plenarnaya leksiya) // Sakharnyy diabet. – 2010. – №3 (48). – S. 6–13./

Доклинические исследования лекарственных средств: Методические рекомендации / Под ред. А.В.Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 567с. /Doklinicheskiye issledovaniya lekarstvennykh sredstv: Metodicheskiye rekomendatsii / Pod red. A.V.Stefanova. – K.: Avitsenna, 2002. – 567s./

Дубкіна О.Ю. Окислювальний стрес і окислювальна модифікація білків // Мед. хімія. – 2001. – Т.3, №2. – С. 43–45. /Dubkina O.Yu. Okyslyval'nyy stres i okyslyval'na modyfikatsiya bil'kiv // Med. khimiya. – 2001. – T.3, №2. – S. 43–45./

Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика. – Минск, 2003. – 345с. /Kamyshnikov V.S. Kliniko-biokhimitseskaya laboratornaya diagnostika. – Minsk, 2003. – 345s./

Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. – СПб.: Фолиант, 2008. – 552с. /Ketlinskiy S.A., Simbirtsev A.S. Tsitokiny. – SPb.: Foliyant, 2008. – 552s./

Колесник Ю.М., Чекман И.С., Беленичев И.Ф. и др. Тиол-дисульфидное равновесие – определяющий фактор резистентности нейронов к нитрозирующему стрессу в условиях ишемии мозга (обзор литературы) // Журнал НАМН України. – 2013. – Т.19, №1. – С. 3–11. /Kolesnik Yu.M., Chekman I.S., Belenichev I.F. i dr. Tiol-disul'fidnoye ravnovesiye – opredelyayushchiy faktor rezistentnosti neyronov k nitroziruyushchemu stressu v usloviyakh ishemii mozga (obzor literatury) // Zhurnal NAMN Ukrainy. – 2013. – T.19, №1. – S. 3–11./

Кулинский В.И., Колесниченко Л.С., Шпрах В.В. и др. Изучение глутатиона и ферментов его метаболизма у больных старших возрастных групп с хронической церебральной ишемией // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2005. – Т.1 (39). – С. 63–65. /Kulinskiy V.I., Kolesnichenko L.S., Shprah V.V. i dr. Izucheniye glutatona i fermentov yego metabolizma u bol'nykh starshikh vozrastnykh grupp s khronicheskoy tserebral'noy ishemiyey // Byulleten' VSNTs SO RAMN. – 2005. – T.1 (39). – S. 63–65./

Манухина Е.Б., Дауни Х.Ф., Маллет Р.Т. и др. Защищающие и повреждающие эффекты периодической гипоксии: роль оксида азота // Вестник РАМН. – 2007. – №2. – С. 27–33. /Manukhina Ye.B., Dauni Kh.F., Mallet R.T. i dr. Zashchishchayushchiye i povrezhdayushchiye efekty periodicheskoy gipoksii: rol' oksida azota // Vestnik RAMN. – 2007. – №2. – S. 27–33./

Nathan D.M., Buse J.B., Davidson M.B. et al. American Diabetes Association; European Association for the Study of Diabetes. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy. A consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes // Diabetes Care. – 2009. – Vol.32. – P. 193–203.

Stamler J., Vaccaro O., Neaton J.D. et al. Diabetes, other risk factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial // Diabetes Care. – 1993. – Vol.16. – P. 434–444.

Представлено: І.Л.Віхтинська / Presented by: I.L.Vikhtyns'ka

Рецензент: В.В.Мартиненко / Reviewer: V.V.Martylenko

Подано до редакції / Received: 31.10.2013