

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ІШЕМІЧНОГО ІНСУЛЬТУ НА ТЛІ ТРИВОЖНО-ДЕПРЕСИВНИХ РОЗЛАДІВ

Слободян Ж.Г. <https://orcid.org/0009-0000-1608-3216>

Савицький І.В. <https://orcid.org/0000-0002-5841-9993>

ПЗВО «Міжнародна академія екології та медицини», Київ, Україна

prof_s.i.v@ukr.net

Актуальність. Гострі порушення мозкового кровообігу є однією із найважливіших медико-соціальних проблем, що зумовлено їх високою часткою в структурі захворюваності та смертності населення, значними показниками тимчасової втрати працездатності та первинної інвалідації. В той же час за оцінками Всесвітньої організації охорони здоров'я на 2021 рік у 615 млн. осіб (близько 10 % населення світу) виявлено симптоми депресивних або тривожних розладів. Тому вивчення патогенетичних ланок коморбідності тривожно-депресивних розладів на тлі ішемічного інсульту є актуальним.

Ціль: вивчити зміни антиоксидантного захисту та перекисного окиснення ліпідів за умов експериментального ішемічного інсульту коморбідного із тривожно-депресивними розладами.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження проведені на 30 нелінійних лабораторних щурах, які були розподілені на 3 групи: 1 група – інтактний контроль, 2 група – тварини групи зі змодельованим ішемічним інсультом; 3 група – щури зі змодельованим ішемічним інсультом та тривожно-депресивними розладами. Відтворення ішемічного інсульту у щурів проводили за допомогою моделі ендovasкулярної оклюзії середньої мозкової артерії (фокальна ішемія) за E. Z. Longa. Для поглибленого вивчення патофізіологічних ланок тривожно-депресивних розладів було обрано модель резерпін-індукованої депресії у щурів.

Для оцінки стану перекисного окиснення ліпідів та системи антиоксидантного захисту було проведено вивчення рівня малонового діальдегіду, каталази, супероксиддисмутази та відновленого глутатіону в гомогенаті тканини мозку та в циркулюючій крові.

Результати. Встановлено різке виснаження захисних реакцій організму у щурів як із ішемічним інсультом, так і за умов коморбідної патології, що підтверджувалося вірогідним зниженням рівня каталази, супероксиддисмутази та підвищеним рівнем малонового діальдегіду. Зокрема, в гомогенаті тканини мозку у щурів із коморбідною патологією знижувався рівень каталази, супероксиддисмутази; рівень малонового діальдегіду підвищувався. На циркулюючому рівні спостерігалось підвищення рівня каталази в 40 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами, що вказувало на компенсаторну реакцію організму на активацію вільно-радикального окиснення, оскільки даний фермент нейтралізує перекис водню.

Висновки. Одержані дані свідчать про більш тяжкий перебіг ішемічного інсульту на тлі тривожно-депресивних розладів та залучення до механізму розвитку як про-та протизапальних цитокінів, так і порушення балансу між процесами перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту.

Ключові слова: ішемічний інсульт, тривожно-депресивні розлади, перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

Актуальність. Гострі порушення мозкового кровообігу є однією із найважливіших медико-соціальних проблем, що зумовлено їх високою часткою в структурі захворюваності та смертності населення, значними показниками тимчасової втрати працездатності та первинної інвалідації [1, 2]. Інсульт на сьогодні є основною соціально-медичною проблемою практичної охорони здоров'я. В структурі

смертності інсульту займають друге місце після серцево-судинних захворювань в усьому світі. Щорічно в світі церебральний інсульт переносять майже шість мільйонів осіб (за даними ВООЗ, у розвинутих країнах світу щорічно реєструють від 100 до 300 інсультів на 100 тис. населення), а в Україні понад 125 тис. [3, 4, 5, 6, 7, 8].

Найактуальнішою проблемою сучасної

охорони здоров'я є проблема недостатності вивчення коморбідних захворювань, що становить серйозну проблему як для хворого, так і для лікаря. Разом з цим, персоналізація лікування хворих диктує необхідність більш глибокого та детального розуміння генезу основного та супутнього захворювань, їх причинного та патогенетичного зв'язку, а також обґрунтованої корекції [1, 5, 6].

На сьогодні активно вивчаються метаболічні порушення, що виникають за умов ішемії та реперфузії головного мозку. Зокрема, важлива роль розладів регуляції перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) доведена в патогенезі церебральної ішемії. Це обумовлено, насамперед, підвищеною схильністю тканин мозку до індукції вільнорадикальних реакцій та занадто низькою переносимістю мозком ішемії. Дані щодо стану антиоксидантного захисту (АОЗ) мозку за умов ішемії на тлі тривожно-депресивних розладів (ТДР) досить нечисленні та носять суперечливий характер. Крім цього, активація вільно-радикального окиснення при церебральній ішемії мозку призводить до розвитку оксидативного стресу – одного із універсальних механізмів пошкодження тканин [2, 9, 10, 11, 12].

Ціль: дослідити зміни АОЗ та ПОЛ за умов експериментального ішемічного інсульту коморбідного із ТДР.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження виконані на 30 нелінійних лабораторних щурах, які були розподілені на 3 групи: 1 група – інтактний контроль (тварини, які отримували воду дистильовану), 2 група – щури зі змодельованим ішемічним інсультом; 3 група – тварини зі змодельованим ішемічним інсультом та ТДР.

Відтворення ішемічного інсульту у щурів проводили з використанням моделі ендоскулярної оклюзії середньої мозкової артерії (фокальна ішемія) за E. Z. Longa. Попередньо щурам проводили анестезію, операційне поле обробляли розчином хлоргексидину 0,05 %. Після цього виконували розріз в області ший, із правого боку виділяли загальну сонну ар-

терію, зовнішню сонну артерію та внутрішню сонну артерію. Загальну сонну артерію пережимали судинною кліпсою, на зовнішню сонну артерію накладали лігатуру із вікрилу № 3. Внутрішню сонну артерію перерізували ножицями на відстані 3-5 мм від біфуркації. Нейлонову нитку діаметром 0,25 мм, покриту силіконом та оброблену розчином гепарину, вводили через відрізок внутрішньої сонної артерії в зовнішню сонну артерію на глибину 19-21 мм та фіксували судинною кліпсою. Кровоток перекривали на 60 хв, після чого нитку видаляли. Після цього внутрішню сонну артерію закривали коагуляцією до повної герметичності та в подальшому знімали судинні кліпси. Наприкінці операції розріз ушивали вікрилом № 4 та обробляли 5 % розчином брильянтового зеленого. Після операції виконували безперервну термометрію із підтримкою температури на рівні фізіологічної норми за допомогою інфрачервоних ламп, Під час операції температуру тіла підтримували за допомогою грілки. Середня тривалість проведення операції складала 7-10 хв [13].

Для поглибленого вивчення патофізіологічних ланок ТДР було обрано модель резерпін-індукованої депресії у щурів. Резерпін вводили щурам внутрішньоочеревинно у вигляді суспензії, стабілізованої твіном-80, дозою 4 мг/кг [14].

Оцінку стану ПОЛ та АОЗ проводили як у гомогенаті тканини мозку, так і в циркулюючій крові. 10 % гомогенат отримували із видаленого після декапітації мозку шляхом виділення ділянки кори із зони пошкодження.

Концентрацію малонового діальдегіду (МДА) визначали за ТБК-методом, принцип якого полягає в утворенні забарвленого комплексу при взаємодії МДА з двома молекулами тіобарбітурової кислоти із максимум поглинання при 532 нм (зелений світлофільтр) [14]. Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за реакцією відновлення нітротетразолія синього за наявності феназину метасульфату. Принцип методу оснований на відновленні нітротетразолія супероксидними радикалами, які утворюються при реакції між феназинсульфатом. Екстинцію проводили при

довжині хвилі 540 нм на спектрофотометрі в кюветі з товщиною шару 0,5 см. Активність каталази досліджували за методом Гіріна С. В. [14], принцип якого базується на зниженні вмісту перекису водню в інкубаційному середовищі, оскільки каталаза розщеплює перекис водню. Активність каталази в дослідній пробі вимірювали в порівнянні з контролем кожні 30 с протягом 3 хв при кімнатній температурі при довжині хвилі 230 нм [14].

Вміст відновленого глутатіону (ВГ) визначали за методом, принцип якого ґрунтується на реакції сульфгідрильних груп з реактивом Елмана [14].

Експериментальні дослідження проводилися відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (Україна, 2001), що узгоджується з положенням «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986 р.), Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», Наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р. «Порядок проведення науковими установами дослідів, експериментів на тваринах», Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 440-IX від 14.01.2020 р. [15].

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми «Statistica 10.0». Вірогідність відмінностей між показниками контрольної та дослідних груп визначали за критеріями Стюдента та Фішера. Рівень достовірності приймали при $p < 0,05$ [16].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що у тварин із змодельованим ішемічним інсультом рівень каталази вірогідно знижувався в 1,4 рази ($p < 0,05$), СОД – в 1,7 разів ($p < 0,05$), в той час як МДА вірогідно підвищувалися в 3,0 рази ($p < 0,05$) (табл. 1).

У щурів із коморбідною патологією рівень показників АОС в гомогенаті тканини мозку вірогідно відрізнявся від групи інтактних тварин та щурів зі змодельованим ішемічним інсультом. Зокрема, рівень каталази знижувався в 2,5 рази ($p < 0,05$) та 1,8 рази ($p < 0,05$), СОД – в 2,7 разів ($p < 0,05$) та 1,6 разів ($p < 0,05$); рівень МДА вірогідно підвищувався в 3,6 рази ($p < 0,05$) та 1,2 рази ($p < 0,05$) відповідно. Підвищення концентрації МДА свідчить про посилення ПОЛ та зсуву АОЗ.

В сироватці крові при аналізі аналогічних гомогенату тканини мозку показників відмічали різносторонні зміни (табл. 2).

Таблиця 1

Рівень показників ПОЛ та АОЗ в гомогенаті тканини мозку в щурів з експериментальним інсультом на тлі депресивно-тривожних розладів ($X \pm Sx$)

Показник	Експериментальні групи тварин		
	Інтактний контроль (n=10)	Ішемічний інсульт (n=10)	Ішемічний інсульт+ тривожно-депресивні розлади (n=10)
Каталаза, Од/г тканини	82,1 $\pm$ 3,6	57,4 $\pm$ 2,8*	32,5 $\pm$ 2,1#
СОД, ум. од/г тканини	7,25 $\pm$ 1,2	4,32 $\pm$ 0,4*	2,7 $\pm$ 0,3#
МДА, мкмоль/г тканини	2,31 $\pm$ 0,42	6,82 $\pm$ 0,44*	8,32 $\pm$ 0,6 #

Примітки:

1. n – кількість експериментальних тварин в кожній групі;
2. * – $p < 0,05$ порівняно з групою інтактного контролю;
3. # – $p < 0,05$ порівняно з групою інтактного контролю та групою тварин з ішемічним інсультом.

Таблиця 2

Рівень показників ПОЛ та АОЗ в сироватці крові щурів з експериментальним інсультом на тлі депресивно-тривожних розладів ($X \pm Sx$)

Показник	Експериментальні групи тварин		
	Інтактний контроль (n=10)	Ішемічний інсульт (n=10)	Ішемічний інсульт+ тривожно-депресивні розлади (n=10)
Каталаза, мг/1 мг білка	0,021±0,018	0,62±0,2*	0,83±0,4#
СОД, ум.од./мг білка	2,64±0,2	1,81±0,25*	1,2±0,16#
ВГ, мг%	136,2±5,4	114,7±4,1*	98,1±2,7#

Примітки:

1. n – кількість експериментальних тварин в кожній групі;
2. * – $p < 0,05$ порівняно з групою інтактного контролю;
3. # – $p < 0,05$ порівняно з групою інтактного контролю та групою тварин з ішемічним інсультом.

У щурів зі змодельованим ішемічним інсультом рівень каталази вірогідно підвищувався в 29,5 разів ($p < 0,05$), СОД – знижувався в 1,5 разів ($p < 0,05$), як і рівень ВГ – в 1,2 рази ($p < 0,05$).

У тварин із коморбідним станом рівень каталази підвищувався в 40 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами та в 1,3 рази ($p < 0,05$) відносно тварин із ішемічним інсультом. Концентрація СОД в сироватці крові вірогідно знижувалася в 2,2 рази ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами та 1,5 разів ($p < 0,05$) відносно групи зі змодельованим ішемічним інсультом. Також спостерігалось достовірне зниження рівня ВГ в 1,4 рази ($p < 0,05$) та в 1,2 рази ($p < 0,05$) відповідно.

Підвищення рівня каталаза в сироватці крові можна розглядати як компенсаторну реакцію організму на активацію вільно-радикального окиснення, оскільки даний фермент нейтралізує перекис водню.

Одержані дані дозволяють зробити наступний висновок: ендотеліальна дисфункція, яка розвивається за умов ішемічного інсульту на тлі ТДР, посилює інтенсифікацію процесів ПОЛ та послаблює АОЗ тканин мозку [9]. Ймовірно, за умов ішемії колатеральний кровотік є недостатнім, що, в свою чергу, підсилює малокрів'я мозку. Зниження поступового ступеня молекулярного кисню при церебрально-

му ураженню головного мозку, що стимулює утворення активних форм кисню, які ініціюють процеси вільно-радикального окиснення – окиснювальної модифікації білка, ПОЛ тощо. Відомо, що в перші години після гострого порушення мозкового кровотоку ступінь виразності структурно-функціональних змін нейронів в ураженій ділянці мозку зменшується від центральних до периферичних зон пенумбри. Навколо геморагічного ядра активується мікроглія та індукує реакції локального ішемічного пошкодження, які визначають механізми вторинного ураження тканини мозку [10, 11].

ВИСНОВКИ

1. При дослідженні системи перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту встановлено різке виснаження захисних реакцій організму у щурів як із ішемічним інсультом, так і за умов коморбідної патології.
2. У гомогенаті тканини мозку у щурів із коморбідною патологією знижувався рівень каталази, супероксиддисмутази; рівень малонового діальдегіду підвищувався.
3. На циркулюючому рівні спостерігалось підвищення рівня каталази в 40 разів ($p < 0,05$) порівняно із інтактними тваринами, що вказувало на компенсаторну реакцію ор-

ганізму на активацію вільно-радикального окиснення, оскільки даний фермент нейтралізує перекис водню.

4. Одержані дані свідчать про більш тяжкий перебіг ішемічного інсульту на тлі тривожно-депресивних розладів та залучення до механізму розвитку як про-та протизапальних цитокінів, так і порушення балансу між процесами перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту.

Конфлікт інтересів. Автори даного рукопису стверджують, що конфлікт інтересів під час виконання дослідження та написання рукопису відсутній.

Джерела фінансування. Виконання даного дослідження та написання рукопису було виконано без зовнішнього фінансування.

REFERENCES:

1. Cumming TB, Churilov L, Collier J, Donnan G, Ellery F, Dewey H, Langhorne P, Lindley RI, Moodie M, Thrift AG, Bernhardt J; AVERT Trial Collaboration group. Early mobilization and quality of life after stroke: Findings from AVERT. *Neurology*. 2019 Aug. DOI: 10.1212/WNL.0000000000007937
2. Herpich F, Rincon F. Management of Acute Ischemic Stroke. *Crit Care Med*. 2020 Nov. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004597.
3. Campbell BCV, De Silva DA, Macleod MR, Coutts SB, Schwamm LH, Davis SM et al. Ischaemic stroke. *Nature Reviews Disease Primers*. 2019 Oct. DOI: 10.1038/s41572-019-0118-8
4. Norrving B, Barrick J, Davalos A, Dichgans M, Cordonnier C, Guekht A, Kutluk K, Mikulik R, Wardlaw J, Richard E, Nabavi D, Molina C, Bath PM, Stibrant Sunnerhagen K, Rudd A, Drummond A, Planas A, Caso V. Action Plan for Stroke in Europe 2018-2030. *Eur Stroke J*. 2018 Dec. DOI: 10.1177/2396987318808719.
5. Göthe F, Enache D, Wahlund LO, Winblad B, Crisby M, Lökk J, Aarsland D. Cerebrovascular diseases and depression: epidemiology, mechanisms and treatment. *Panminerva Med*. 2012 Sep. PMID: 22801433.
6. Maaijwee NA, Rutten-Jacobs LC, Schaapsmeeders P, van Dijk EJ, de Leeuw FE. Ischaemic stroke in young adults: risk factors and long-term consequences. *Nat Rev Neurol*. 2014 Jun. DOI: 10.1038/nrneurol.2014.72.
7. Kuriakose D, Xiao Z. Pathophysiology and Treatment of Stroke: Present Status and Future Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct. DOI: 10.3390/ijms21207609.
8. Petty K, Lemkuil BP, Gierl B. Acute Ischemic Stroke. *Anesthesiol Clin*. 2021 Mar. DOI: 10.1016/j.anclin.2020.11.002.
9. Putaala J. Ischemic Stroke in Young Adults. *Continuum (Minneapolis)*. 2020 Apr. DOI: 10.1212/CON.0000000000000833.
10. Carvalho AN, Firuzi O, Gama MJ, Horssen JV, Saso L. Oxidative Stress and Antioxidants in Neurological Diseases: Is There Still Hope? *Curr Drug Targets*. 2017 Mar. DOI: 10.2174/1389450117666160401120514.
11. Li P, Stetler RA, Leak RK, Shi Y, Li Y, Yu W, Bennett MVL, Chen J. Oxidative stress and DNA damage after cerebral ischemia: Potential therapeutic targets to repair the genome and improve stroke recovery. *Neuropharmacology*. 2018 May. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.11.011.
12. Grochowski C, Litak J, Kamieniak P, Maciejewski R. Oxidative stress in cerebral small vessel disease. Role of reactive species. *Free Radic Res*. 2018 Jan. DOI: 10.1080/10715762.2017.1402304.
13. Taha A, Bobi J, Dammers R, Dijkhuizen RM, Dreyer AY, van Es ACGM, Ferrara F, Gounis MJ, Nitzsche B, Platt S, Stoffel MH, Volovici V, Del Zoppo GJ, Duncker DJ, Dippel DWJ, Boltze J, van Beusekom HMM. Comparison of Large Animal Models for Acute Ischemic Stroke: Which Model to Use? *Stroke*. 2022 Apr. DOI: 10.1161/STROKEAHA.121.036050.

14. Doclinical investigation of medicines: metod. reccom. / by redaction of member-cor. National Academy of Sciences of Ukraine, Acad. O. V. Stefanov. K.: Avicenna, 2001.
15. Reznikov OG, Solovyov AI, Stefanov OV. Biotic examination of preclinical and other scientific studies performed on animals: method. recommendations Herald of pharmacology and pharmacy. 2006.
16. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. Statistical methods in medical and biological investigations with using Exel. K.: MORION, 2000.

LIPID PEROXIDATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION SYSTEM IN RATS UNDER CONDITIONS OF ISCHEMIC STROKE ON THE BACKGROUND OF ANXIETY-DEPRESSIVE DISORDERS

Slobodyan Zh.H., Savytskyi I. V.

International Academy of Ecology and Medicine, Kyiv, Ukraine

prof_s.i.v@ukr.net

Background. Acute disorders of cerebral blood circulation are one of the most important medical and social problems, due to their high share in the structure of morbidity and mortality of the population, significant indicators of temporary loss of working capacity and primary disability. At the same time, the World Health Organization estimates that by 2021, 615 million people (about 10% of the world's population) will have symptoms of depressive or anxiety disorders. Therefore, the study of the pathogenetic links of comorbidity of anxiety-depressive disorders against the background of ischemic stroke is relevant.

Aim: to study changes in antioxidant protection and lipid peroxidation under conditions of experimental ischemic stroke comorbid with anxiety-depressive disorders.

Materials and methods. Experimental studies were conducted on 30 non-linear laboratory rats, which were divided into 3 groups: 1 group – intact control, 2 group – animals of the group with simulated ischemic stroke; Group 3 – rats with simulated ischemic stroke and anxiety-depressive disorders. Reproduction of ischemic stroke in rats was carried out using the model of endovascular occlusion of the middle cerebral artery (focal ischemia) according to E. Z. Longa. A model of reserpine-induced depression in rats was chosen for an in-depth study of the pathophysiological links of anxiety-depressive disorders.

To assess the state of lipid peroxidation and the antioxidant defense system, the level of malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, and reduced glutathione in brain tissue homogenate and circulating blood was studied.

Results. A sharp depletion of the body's protective reactions was established in rats with both ischemic stroke and under conditions of comorbid pathology, which was confirmed by a probable decrease in the level of catalase, superoxide dismutase and an increased level of malondialdehyde. In particular, the level of catalase and superoxide dismutase decreased in the brain tissue homogenate of rats with comorbid pathology; the level of malondialdehyde increased. At the circulating level, there was a 40-fold increase in the level of catalase ($p<0.05$) compared to intact animals, which indicated a compensatory reaction of the body to the activation of free-radical oxidation, since this enzyme neutralizes hydrogen peroxide.

Conclusions. The obtained data indicate a more severe course of ischemic stroke against the background of anxiety-depressive disorders and the involvement of both pro- and anti-inflammatory cytokines in the development mechanism, as well as a violation of the balance between the processes of lipid peroxidation and antioxidant protection.

Key words: ischemic stroke, anxiety-depressive disorders, lipid peroxidation, antioxidant protection.