

доть к развитию вторичных иммунопатологических состояний.

**ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА
ИНДУЦИБЕЛЬНОЙ NO СИНТАЗЫ НА
ФЕРМЕНТАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ
ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗЫ В МОЗГЕ
КРЫС С РАЗНЫМ ЛАТЕРАЛЬНЫМ
ПРОФИЛЕМ ПРИ ОККЛЮЗИИ СОННЫХ
АРТЕРИЙ**

Косенко Ю.В., Демьяненко С.В., Карантыш Г.В.,
Менджеричкий А.М.

*Кафедра анатомии и физиологии человека,
Ростовский государственный педагогический
университет*

Одним из факторов, определяющих устойчивость организма к стрессу, является функциональная асимметрия мозга (1). Известно, что животные с леволатеральным профилем обладают более высокими адаптационными резервами организма по сравнению с правополушарными (2). Однако, механизмы, лежащие в основе различий, определяющих степень резистентности, к настоящему моменту изучены недостаточно.

Известно, что одной из неспецифических реакций организма на стресс является интенсификация свободнорадикальных процессов (СРП) (3). В связи с этим целью данной работы было изучение влияния ингибитора индуцибельной NO-синтазы (iNOS) на активность глутатионпероксидазы в мозге животных с разным латеральным профилем при окклюзии сонных артерий разной продолжительности, как фактора направленного действия на мозг.

Эксперимент проводился на 136 крысах-самцах линии Вистар массой 200-250 г. В работе использовалась модель двусторонней окклюзии сонных артерий (ОСА) (4) с целью развития у животных ишемических и реперфузионных повреждений структур мозга. Латеральный профиль крыс определяли в У-образном лабиринте (5). Животных разделяли на следующие группы: 1) контрольная группа ложнооперированных право- (n=8) и левополушарных крыс (n=8); 2) во второй группе животным с разным латеральным профилем проводили 3-минутную окклюзию правой сонной артерии (ПСА) и 24-часовую окклюзию левой сонной артерии (ЛСА) (n=32); 3) в третьей группе животным с разным латеральным профилем проводили 3-минутную окклюзию ЛСА и 24-часовую окклюзию ПСА (n=32); 4) четвертой группе крыс с разным латеральным профилем (n=16) за 1 час до ложной операции внутрибрюшинно вводили ингибитор iNOS (AR-R17477) в дозе 30 мг/кг веса; 5) пятой группе животных с разным латеральным профилем (n=32) за 1 час до

3-минутную окклюзию ПСА и 24-часовую окклюзию ЛСА внутрибрюшинно вводили ингибитор iNOS (AR-R17477) в дозе 30 мг/кг веса; 6) шестой группе животных с разным латеральным профилем (n=32) за 1 час до 3-минутную окклюзию ЛСА и 24-часовую окклюзию ПСА внутрибрюшинно вводили ингибитор iNOS (AR-R17477) в дозе 30 мг/кг веса.

Через 1 сутки после операции животных декапитировали, на льду выделяли структуры мозга (гемисферы коры и ствольные структуры правой и левой половины мозга), где определяли активность глутатионпероксидазы (6).

При сравнении контрольных групп животных с разным латеральным профилем было установлено, что активность глутатионпероксидазы (ГП) выше в недоминирующем полушарии по сравнению с доминирующим как у право- (+32%; $p < 0,05$), так и крыс с леволатеральным профилем (ЛЛП) (+121%; $p < 0,05$). Кроме того, у животных с праволатеральным профилем (ПЛП) активность фермента в ствольных структурах значительно превышала аналогичный показатель у левополушарных крыс.

При 3-минутной окклюзии ПСА и 24-часовой окклюзии ЛСА у животных с ЛЛП происходило увеличение активности ГП в мозге, в том числе, в правой (+182%; $p < 0,01$) и, особенно, левой гемисферах коры (+324%; $p < 0,01$), а также правых (+467%; $p < 0,01$) и левых ствольных структурах (+100%; $p < 0,05$) по сравнению с контролем. У правополушарных животных 2-й группы, напротив, в правой гемисфере коры понижение активности глутатионпероксидазы составило -59% ($p < 0,05$), в левой коре больших полушарий -64% ($p < 0,05$), в правых и левых ствольных структурах, соответственно, -65% ($p < 0,05$) и -64% ($p < 0,05$) относительно контрольной группы крыс. При этом показатель выживаемости животных с ЛЛП составил 62,5%, а правополушарных - 33%.

В 3-й группе левополушарных животных также отмечалось возрастание активности ГП в левой гемисфере (+160%; $p < 0,01$), правых (+26%; $p < 0,05$) и левых ствольных структурах (+23%; $p < 0,05$), тогда как в правой коре больших полушарий обнаружено снижение ферментативной активности на -34% ($p < 0,05$) по сравнению с 1-й группой крыс с ЛЛП. А у животных с ПЛП в данной модели эксперимента активность глутатионпероксидазы понижалась в правой (-57%; $p < 0,05$), левой гемисферах коры (-51%; $p < 0,05$), правых (-58%; $p < 0,05$) и левых ствольных структурах (-58%; $p < 0,05$) относительно контрольной группы правополушарных крыс. При этом показатель выживаемости левополушарных животных был выше (66%) по сравнению с животными с ПЛП (33%).

Таким образом, более высокий уровень устойчивости крыс с леволатеральным профилем в

обеих моделях ОСА можно объяснить повышением активности ведущего фермента антиоксидантной защиты (ГП) при ишемических и реперфузионных повреждениях мозга. Кроме того, в условиях 3-минутной окклюзии со стороны доминирующего полушария у животных с разным латеральным профилем отмечались менее благоприятные изменения в ферментативной активности глутатионпероксидазы. Это может свидетельствовать о том, что в условиях реперфузии в отличие от ишемии формируются условия для сниженной функциональной активности ГП. Однако, показатель

выживаемости крыс с разным латеральным профилем был выше при моделировании 3-минутной окклюзии со стороны доминирующего полушария. Следовательно, несмотря на то, что, согласно данным литературы, при нарушении мозгового кровообращения активность глутатионпероксидазы находится в отрицательной взаимосвязи с активацией фактора некроза в мозге (7), функциональное состояние данного фермента не является основным критерием устойчивости к ишемии/реперфузии мозга.

Таблица: Изменение активности глутатионпероксидазы (мкмоль/мин. г белка) в структурах мозга крыс в условиях предварительного введения ингибитора iNOS перед двусторонней окклюзией сонных артерий, (M±m)

Группы/стр-ры мозга	Правая гемисфера коры	Левая гемисфера коры	Правые ств. стр-ры	Левые ств. стр-ры
1 группа крыс с ЛЛП	43,13 ± 2,03	19,50 ± 0,87	43,27 ± 2,71	43,24 ± 2,33
1 группа крыс с ПЛП	46,29 ± 2,11	60,99 ± 2,65	80,15 ± 3,53	77,26 ± 3,24
2 группа крыс с ЛЛП	121,22 ± 4,37*	82,60 ± 4,54*	245,38 ± 9,32*	86,90 ± 3,43*
2 группа крыс с ПЛП	19,11 ± 0,81**	22,09 ± 1,15**	27,96 ± 1,28**	27,53 ± 1,05**
3 группа крыс с ЛЛП	28,34 ± 1,32*	50,78 ± 2,18*	54,40 ± 2,25*	53,20 ± 2,28*
3 группа крыс с ПЛП	19,76 ± 0,94**	30,15 ± 1,71**	33,55 ± 1,71**	32,52 ± 1,23**
4 группа крыс с ЛЛП	52,98 ± 2,17*	22,74 ± 0,93	88,59 ± 3,65*	56,70 ± 2,19*
4 группа крыс с ПЛП	23,72 ± 1,33**	31,10 ± 1,12**	32,42 ± 1,26**	48,33 ± 1,90**
5 группа крыс с ЛЛП	90,81 ± 4,87*	42,04 ± 2,06*	67,49 ± 2,43*	40,53 ± 2,71
5 группа крыс с ПЛП	20,24 ± 1,02**	24,34 ± 1,10**	142,12 ± 10,01**	30,51 ± 1,26**
6 группа крыс с ЛЛП	29,08 ± 1,42*	47,04 ± 2,21*	49,43 ± 2,11	24,13 ± 1,14*
6 группа крыс с ПЛП	31,76 ± 1,41**	30,23 ± 1,55**	38,64 ± 1,20*	105,48 ± 4,28**

Условные обозначения: * - достоверные отличия активности ГП в структурах мозга левополушарных крыс от контрольной группы животных с ЛЛП; ** - достоверные отличия активности ГП в структурах мозга правополушарных крыс от контрольной группы животных с ПЛП.

Известно, что в условиях окклюзии сонных артерий происходит интенсификация свободнорадикальных процессов с образованием пероксинитрита, образующегося в результате активации индуцибельной формы NO-синтазы (8). Поэтому, далее с целью выяснения роли системы NO в механизмах реализации адаптационных процессов при НМК, было проведено исследование эффектов AR-R17477 на изменение активности глутатионпероксидазы в мозге окклюзированных крыс с разным латеральным профилем.

Необходимо отметить, что при моделировании окклюзии СА %-выживаемости животных 5-й и 6-й групп был выше по сравнению со 2-й и 3-й группами. Так, в условиях предварительного введения AR-R17477 перед 3-минутной окклюзией ПСА и 24-часовой окклюзией ЛСА у левополушарных данный показатель составил 75%. При этом у выживших крыс происходило возрастание активности ГП в правой (+110%; p<0,01) и левой гемисферах коры (+116%; p<0,01), а также в правых стволовых структурах относительно контроля. Однако по сравнению со 2-й группой животных с

ЛЛП отмечалось выраженное снижение активности данного фермента в структурах мозга.

У правополушарных крыс 5-й группы показатель выживаемости составил 56%. Однако, изменение активности ГП по сравнению с окклюзированными животными без предварительного введения ингибитора iNOS обнаружено только в правых стволовых структурах (+408%; p<0,001). Предположительно, такой эффект препарата в данном случае можно объяснить сопряженным возрастанием стресс-лимитирующих нейромедиаторов в стволовых структурах со стороны доминирующего полушария. Известно, что снижение интенсификации свободнорадикальных процессов при НМК определяет повышение активации дофаминергической и/или норадренергической медиации в стволовых структурах мозга, что положительно коррелирует с устойчивостью животных к стрессу (8).

В 6-й группе левополушарных крыс показатель выживаемости составил 88%. При этом достоверное повышение активности ГП происходило лишь в доминирующем полушарии (+141%;

$p < 0,01$) по сравнению с контролем. В правой гемисфере коры и левых стволовых структурах ферментативная активность ГП, напротив, понижалась, соответственно, на -33% ($p < 0,05$) и -44% ($p < 0,05$) относительно контроля.

У правополушарных крыс 6-й группы показатель выживаемости составил 44%. При этом в правой и левой гемисферах, а также в правых стволовых структурах снижение активности ГП по сравнению с контролем составило, соответственно, -31% ($p < 0,05$), -50% ($p < 0,05$) и -52% ($p < 0,05$). В то же время, в левых стволовых структурах отмечалось увеличение активности ГП (+37%; $p < 0,05$) относительно 1-й группы крыс с ПЛП. При сравнении с 3-й группой животных с ПЛП, тем не менее, происходило возрастание активности глутатионпероксидазы в правой гемисфере коры (+61%; $p < 0,05$) и левых стволовых структурах (+224%; $p < 0,01$).

Поскольку у животных с разным латеральным профилем показатель выживаемости положительно взаимосвязан с увеличением активности ГП в левых стволовых структурах, можно предположить, что именно в данных структурах мозга формируется некая нейрохимическая система, ответственная за образование функциональной системы, направленной на повышение резистентности организма к нарушению мозгового кровотока.

Обсуждение полученных результатов

Таким образом, согласно полученным результатам, специфическая реакция на 3-минутную окклюзию ПСА и 24-часовую окклюзию ЛСА у левополушарных проявляется в повышении активности ГП в структурах мозга, за исключением недоминирующего полушария. В то же время, у правополушарных происходит снижение активности данного фермента в мозге.

В условиях 3-минутной окклюзии ЛСА и 24-часовой окклюзии ПСА у левополушарных не отмечается столь значимого повышения активности ГП, как в противоположной модели ОСА. Тогда как, у крыс с ПЛП снижение ферментативной активности ГП было не столь значимым, как во 2-й группе правополушарных. Следовательно, реперфузия со стороны доминирующего полушария оказывает более выраженное влияние на активность глутатионпероксидазы по сравнению с ишемией.

Кроме того, более значимое понижение активности ГП в мозге правополушарных относительно крыс с ЛЛП положительно взаимосвязано с показателем выживаемости.

Введение ингибитора iNOS ложноперирированным левополушарным животным способствует возрастанию активности ГП во всех структурах мозга, а у правополушарных только в левой половине мозга. Это может быть подтверждением нашего предположения о ведущей роли левых струк-

тур мозга (коры больших полушарий и стволовых структур) в повышении резистентности не только у животных с ЛЛП, но и правополушарных.

Наконец, предварительное введение AR-R17477 перед ОСА способствует активации глутатионпероксидазы при хроническом пережатии СА со стороны доминирующего полушария и снижении – в противоположной модели ОСА у животных с разным латеральным профилем.

Следовательно, различие реакции организма на ишемическое и реперфузионное повреждение мозга зависит от латерального профиля животных, что, в свою очередь, определяется особенностью механизмов взаимоотношений систем NO и глутатионпероксидазы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Черноситов А.В., Орлов В.И. Функциональная асимметрия мозга и неспецифическая резистентность. // В кн.: Функциональная межполушарная асимметрия. – М.: Научный мир, 2004. – С. 481-522.
2. Черноситов А.В. Неспецифическая резистентность, функциональная асимметрия и женская репродукция. – Ростов н/Д, 2000. – 199 с.
3. Владимиров Ю.А., Рощупкин Д.И., Потапенко А.Я., Деев А.И. Биофизика. – М.: Медицина. – 1983. – 289 с.
4. Pulsinelli W.A., Brierley J.B., Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia. // *Ann. Neurol.*, 1982. – Vol. 11. – P. 491-498.
5. Ефимов В.М., Акимова И.А., Галактионова Ю.К. Формальная иерархическая классификация типов билатеральных асимметричных объектов. // *Сер. геологические, химические и биологические науки*, 1987, № 3. – С. 64-66.
6. Gunzler W.A., Flohe L. Glutathione peroxidase // *Handbook of methods for oxygen radical research*. – Boca Ration: CRC Press, 1986. – P. 203-211.
7. Crack P.J., Taylor J.M., Ugur Ali et al. Potential Contribution of NF- κ B in neuronal cell death in the glutathione peroxidase-1 knockout mouse in response to ischemia-reperfusion injury. // *Stroke*, 2006. – Vol. 37. – P. 1533-1538.
8. Maneen M.J., Hannah R., Vittullo L et al. Peroxynitrite diminishes myogenic activity and is associated with decreased vascular smooth muscle F-actin in rat posterior cerebral arteries. // *Stroke*, 2006. – Vol. 37. – P. 894-899.