

# Особливості системних патобіохімічних реакцій на ішемію-реперфузію головного мозку у щурів із цукровим діабетом

О.В. Ткачук<sup>1</sup>, С.С. Ткачук<sup>1</sup>, М.А. Повар<sup>1</sup>, С.І Анохіна<sup>1</sup>,  
О.В. Ясінська<sup>1</sup>, С.Н. Вадзюк<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Буковинський державний медичний університет, Чернівці;

<sup>2</sup>Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського;  
e-mail: tkachuk.svitlana14@bsmu.edu.ua

*Метою дослідження було вивчити інтенсивність вільнорадикальних процесів, активність ферментативного антиоксидантного захисту, стан протеолізу та протейназоінгібіторної системи плазми крові щурів зі стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом (стрептозотоцин фірми «Sigma», США, 60 мг/кг внутрішньоочередово), ускладненим ішемією-реперфузією головного мозку. Вміст продуктів ліпопероксидації, окиснювальної модифікації білків, метаболітів оксиду азоту та активність ферментів антиоксидантного захисту визначали біохімічними методами через одну годину після завершення реперфузійного періоду та на 12-ту добу. Встановлено, що у плазмі крові щурів без цукрового діабету в обидва терміни спостереження посилилася ліпопероксидація, що супроводжувалося зростанням активності всіх антиоксидантних ферментів. Водночас у тварин із діабетом відмічено зниження вмісту продуктів ліпопероксидації на тлі переважаючої депресії всіх ферментів антиоксидантного захисту. У тварин із цукровим діабетом упродовж експерименту вміст продуктів окиснювальної модифікації білків при ішемії-реперфузії мозку достовірно перевищував такі у тварин без діабету, що свідчить про вищу інтенсивність їх оксидації. При відсутності діабету протеолітична активність плазми крові реагує підвищенням значень досліджених показників на тлі пригнічення протейназоінгібіторної системи протягом усього терміну спостереження, у щурів із діабетом вони залишаються без змін в обидва терміни. Отримані результати дають змогу констатувати, що цукровий діабет суттєво модифікує реакцію системних патобіохімічних показників на ішемію-реперфузію головного мозку.*

*Ключові слова: цукровий діабет; ішемія-реперфузія головного мозку; вільнорадикальне окиснення ліпідів, білків; метаболіти оксиду азоту; протеоліз.*

## ВСТУП

Провідним чинником патогенезу ускладнень цукрового діабету (ЦД) одностаїно визнано хронічну гіперглікемію, яка ініціює численні механізми пошкодження тканин, основними з яких вважають посилення поліолового шляху обміну глюкози та інших цукрів, також гексозамінового шляху, внутрішньоклітинного утворення кінцевих продуктів глікозилювання (КПГ) та експресії рецепторів останніх і лігандів, що їх активують, гіперактивність ізоформ протейнінази С [1, 2]. Усі ці чинники свої

патогенні ефекти реалізують через спільний, асоційований із гіперглікемією механізм, в основі якого лежить надлишкове утворення в мітохондріальних електронно-транспортних ланцюгах супероксид-аніона з подальшим його перетворенням на більш реакційноздатні активні форми кисню (АФК), такі як  $\text{OH}^-$  і  $\text{H}_2\text{O}_2$ , та активні форми оксиду азоту (АФА), що вичерпує можливості антиоксидантної системи і призводить до пошкодження клітинних компонентів [3, 4]. Сигнальні шляхи інсуліну модулюються АФК/АФА неоднозначно: у невеликих кількостях ці

© О.В. Ткачук, С.С. Ткачук, М.А. Повар, С.І Анохіна, О.В. Ясінська, С.Н. Вадзюк

радикали потрібні для повноцінної реалізації фізіологічних ефектів гормону, а при надлишку вони негативно впливають [4].

Оскільки в основі пошкоджень нервової тканини при гострих порушеннях мозкового кровообігу також знаходиться порушення балансу про- та антиоксидантних взаємовідносин [5], природно очікувати, що ускладнення ЦД ішемією-реперфузією головного мозку призведе до поглиблення цього дисбалансу. У комплексі системної відповіді, якою супроводжується церебральна ішемія-реперфузія, важлива роль належить компонентам системи протеази – антипротеази, адже від збереження чи порушення їх збалансованої взаємодії залежить ступінь пошкоджуючого впливу та вираженість адаптивних реакцій [5, 6]. Індукований ішемією-реперфузією оксидативний стрес (ОС) активує процес ліберації протеїназ [7], до яких особливо чутливі окисномодифіковані білкові молекули [8]. Інтенсивність протеолізу знаходиться під контролем інгібіторів протеїназ, таких як  $\alpha_2$ -макроглобулін,  $\alpha_1$ -інгібітор протеїназ, антитромбін III тощо. Ці механізми достатньо вивчені при гострих порушеннях мозкового кровообігу чи ЦД, однак при коморбідному перебігу цих захворювань залишаються недослідженими.

Мета нашого дослідження – вивчити інтенсивність вільнорадикальних процесів, активність ферментативного антиоксидантного захисту, стан протеолізу та протеїназоінгібіторної системи плазми крові щурів зі стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного мозку.

## МЕТОДИКА

Дослідження виконані на 44 білих нелінійних щурах-самцях, яких поділили на 6 груп. До I контрольної групи увійшли інтактні тварини; до II – щури, яким моделювали двобічну 20-хвилинну каротидну ішемію з одногодинною реперфузією; до III – щури,

яких виводили з експерименту на 12-ту добу після 20-хвилинної двобічної каротидної ішемії; до IV – щури з експериментальним ЦД; до V – щури з ЦД, яким моделювали 20-хвилинну двобічну каротидну ішемію з одногодинною реперфузією; до VI – щури з ЦД, яких виводили з експерименту на 12-ту добу після 20-хвилинної двобічної каротидної ішемії.

ЦД моделювали однократним внутрішньоочеревинним введенням стрептозотоцину («Sigma», США, 60 мг/кг) щурам віком 2 міс [9]. Тривалість діабету становила 4 міс. Неповну глобальну ішемію головного мозку відтворювали двобічним кліпсуванням загальних сонних артерій протягом 20 хв [9] під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг). Ранні системні наслідки ішемії-реперфузії головного мозку вивчали через 1 год від початку реперфузії, відстрочені – на 12-ту добу постішемичного періоду. ЦД підтверджували визначенням рівня глікемії глюкозооксидазним методом за допомогою глюкометра One Touch Ultra Easy («Life Scan», Німеччина) та наявністю деструктивних змін острівцевого апарату підшлункової залози. До складу експериментальних груп включали щурів із рівнем глікемії 10 ммоль/л і вище.

Тварин виводили з експерименту декапітацією під каліпсоловим наркозом. У плазмі крові визначали вміст дієнових кон'югат (ДК), малонового альдегіду (МА), активність каталази, супероксиддисмутази (СОД), глутатіонпероксидази (ГПО), протеолітичну активність за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу, вміст продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) – альдегідо- та кетоніпохідних нейтрального й основного характеру [10], сумарний вміст метаболітів оксиду азоту (нітрат-аніон –  $\text{NO}_3^-$  та нітрит-аніон –  $\text{NO}_2^-$ ) з використанням реактиву Грейса [11]. Стан протеїназоінгібіторної системи оцінювали за вмістом у сироватці крові  $\alpha_2$ -макроглобуліну, вмістом у плазмі крові  $\alpha_1$ -інгібітора протеїназ [12].

Експериментальні втручання та евтаназію тварин здійснювали, дотримуючись основних положень GLP (1981 р.) Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р.; Директиви ЄЕС № 609 від 24.11.1986 р. і Наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Статистичний аналіз проводили із застосуванням програм Statistica 10 (Serial Number: STA999K347150-W) та MEDCALC® (інтернет-ресурс з відкритим доступом, <https://www.medcalc.org/calc>). Нормальність розподілу визначали за критерієм Шапіро-Уїлка. Результати представлено у вигляді середньої і стандартної похибки середньої ( $M \pm m$ ). Відмінності між показниками вважали вірогідними при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 і 2 наведено показники стану системи ліпопероксидація – антиоксидантний захист у крові щурів із діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного мозку. У щурів без ЦД після 20-хвилинної ішемії-одногодинної реперфузії достовірно збільшився вміст ДК та МА на 32 і 18%, а також активність СОД, каталази та ГПО на 18, 21, 50% відповідно. Отже, в цей період наявні ознаки ОС, хоча таке паралельне

зростання всіх показників свідчить, що зміни перекисного окиснення ліпідів компенсовані підвищенням потужності антиоксидантного захисту і в цілому система збалансована, хоча й функціонує на більш високому рівні. Про активацію вільнорадикальних процесів свідчить також достовірне зростання продуктів ОМБ нейтрального та основного характеру на 23 та 81% відповідно (табл. 3).

На 12-ту добу постішемичного періоду вміст ДК повернувся до рівня контролю, а вміст МА продовжував зростати і став достовірно вищим на 47% порівняно з контрольними значеннями та на 24% – щодо показників у ранньому постішемичному періоді, активність СОД залишалася підвищеною стосовно цього показника у щурів групи контролю на 14%, але достовірно знизилася відносно значень у ранньому постішемичному періоді. Активність ГПО знизилася щодо контролю на 30%; стосовно показників у попередньому терміні знизилася активність каталази та ГПО на 11% та у 2,1 раза відповідно (для всіх показників  $P < 0,05$ ). Це засвідчує, що прояви ОС зберігаються до 12-ї доби, хоча в дещо іншому форматі. Виходячи з ролі СОД, зростання її активності можна розглядати як реакцію на посилене утворення супероксид-аніона, спрямовану на його дисмутацію та конверсію в пероксид водню [13]. Однак

Таблиця 1. Інтенсивність ліпопероксидації в плазмі крові щурів із цукровим діабетом у динаміці ішемії-реперфузії головного мозку ( $M \pm m$ ,  $n = 11$ )

Схема досліджу	Дієнові кон'югати, нмоль/мл	Малоновий альдегід, мкмоль/л
Контроль	1,54 ± 0,04	2,05 ± 0,05
Ішемія-реперфузія 20 хв/1 год	2,04 ± 0,05*	2,42 ± 0,03*
Ішемія-реперфузія 12 діб	1,48 ± 0,07**	3,01 ± 0,09*, **
Діабет	1,64 ± 0,10	3,51 ± 0,14*
Діабет та ішемія-реперфузія 20 хв/1 год	1,71 ± 0,13	2,98 ± 0,08***
Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб	1,68 ± 0,07	3,78 ± 0,07****

Примітки: тут і в табл. 2–5: 1. \*вірогідність різниці порівняно з контролем ( $P < 0,05$ ); \*\*порівняно з ішемією-реперфузією (20 хв/1 год) у контрольних тварин; \*\*\*порівняно з діабетом; \*\*\*\*з ішемією-реперфузією (20 хв/1 год) у тварин із діабетом.

**Таблиця 2. Активність ферментів антиоксидантного захисту в крові щурів із цукровим діабетом у динаміці ішемії-реперфузії головного мозку (M ± m, n = 11)**

Схема досліджу	Супероксиддисмутаза, од. акт/хв·г Нб	Каталаза, млмоль/хв·г Нб	Глутатіонпероксидаза, нмоль/хв·г Нб
Контроль	3,05 ± 0,05	12,31 ± 0,44	52,06 ± 0,30
Ішемія-реперфузія 20 хв/1 год	3,61 ± 0,04*	14,96 ± 0,25*	78,03 ± 0,39*
Ішемія-реперфузія 12 діб	3,49 ± 0,03*,**	13,29 ± 0,21**	36,49 ± 0,28*,**
Діабет	2,27 ± 0,06*	14,22 ± 0,31*	51,25 ± 0,48
Діабет та ішемія-реперфузія 20 хв/1 год	1,98 ± 0,04***	11,34 ± 0,15***	33,49 ± 0,82***
Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб	2,01 ± 0,05***	12,16 ± 0,12***,****	35,61 ± 0,67***

Примітка: Нб - гемоглобін

враховуючи відсутність при цьому активації каталази та суттєве зниження активності ГПО можна думати, що пероксид водню належним чином не знешкоджується, що призводить до надмірного утворення високореактивного гідроксильного радикала. Отже, на цьому етапі спостереження система ліпопероксидація-антиоксидантний захист розбалансована, а ОС набуває більш суттєвих, ніж у ранньому періоді, проявів. До того ж, судячи зі зростання вмісту метаболітів оксиду азоту на 35% (P < 0,05) щодо контрольних значень (див. табл. 3), у цей період приєднується також і нітрозативний стрес, виникнення якого узгоджується зі змінами активності СОД, які підтверджують утворення значних

кількостей супероксидного аніон-радикала. Останній, взаємодіючи з оксидом азоту, утворює високотоксичний пероксинітрит, який у свою чергу окиснює тетрагідробіоптерин і призводить до порушення утворення оксиду азоту [14].

У щурів із ЦД виявлено достовірно вищий, ніж у контролі, вміст МА (на 71%), нижчу активність СОД (на 26%) та вищу активність каталази (на 16%), що в цілому також засвідчує наявність ОС. Такі зміни в крові характерні для ЦД, при якому, крім посилення ПОЛ стабільним, за даними літератури, є зниження активності СОД [15]. Що стосується каталази і ГПО, у науковців відсутня одностайна думка стосовно моди-

**Таблиця 3. Показники метаболізму оксиду азоту та окиснювальної модифікації білків у крові щурів із цукровим діабетом у динаміці ішемії-реперфузії головного мозку (M ± m, n = 11)**

Схема досліджу	Вміст метаболітів NO, мкмоль/л	Вміст альдегідо- та кетонпохідних	
		нейтрального характеру, од. E <sub>370</sub> /г білка	основного характеру, од. E <sub>420</sub> /г білка
Контроль	17,878 ± 1,347	11,142 ± 0,122	1,320 ± 0,024
Ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/1 год)	18,981 ± 1,275	13,691 ± 0,142*	2,386 ± 0,063*
Ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	24,112 ± 1,162*,**	10,816 ± 0,205**	1,405 ± 0,041**
Діабет	23,010 ± 1,319*	25,605 ± 0,216*	3,920 ± 0,107*
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/1 год)	17,996 ± 1,551***	27,168 ± 0,194***	3,630 ± 0,206
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	15,768 ± 1,484***	26,407 ± 0,309***	3,040 ± 0,184***,****

фікації їх активності під впливом діабету. Наявність ОС у цих тварин підтверджується також вищим, ніж у тварин без цієї патології, вмістом метаболітів оксиду азоту, продуктів ОМБ нейтрального та основного характеру на 29, 129% та в 3 рази відповідно ( $P < 0,05$ ). В основному, наші результати відповідають загальноприйнятій точці зору щодо виникнення ОС при ЦД.

По завершенні раннього ішемічно-реперфузійного періоду у щурів із діабетом встановлено нижчий вміст МА на 15%, нижчу активність СОД, каталази та ГПО на 13, 20, 35% відповідно (для всіх значень  $P < 0,05$ ) стосовно показників у тварин із діабетом без ішемії-реперфузії; на 12-ту добу вміст МА повернувся до значень у тварин із діабетом, а антиоксидантна активність залишалися зниженою на 12, 14, 31% ( $P < 0,05$ ) відповідно для СОД, каталази і ГПО. Така реакція докорінно відрізняється від тієї, що спостерігалася при аналогічному втручанні у тварин без діабету, за винятком змін ГПО. Ймовірно, що активація ОС за умов ЦД сягнула максимально можливих значень, і подальше ішемічне втручання призводить до швидкого виснаження про- та антиоксидантних механізмів і зниження їх функціонального рівня. Така точка зору знаходить підтвердження і в постішемічних змінах вмісту метаболітів

оксиду азоту в обидва терміни спостереження та продуктів ОМБ основного характеру – на 12-ту добу (див. табл. 3).

Як згадувалося у вступі, важливого значення у реалізації пошкоджувальних впливів як ішемії мозку, так і ЦД надають дисбалансу у системі протеази – антипротеази [9, 10], який виникає під впливом ОС [7]. Згідно з нашими результатами у щурів без діабету сумарна протеїназна активність крові, лізис низько- та високомолекулярних білків були вищими на 21, 50, 59% ( $P < 0,05$ ) відповідно в ранньому терміні спостереження та на 12, 61, 12% ( $P < 0,05$ ) – у пізньому (табл. 4; 5), що в цілому узгоджується зі змінами про- та антиоксидантного гомеостазу. Можна думати, що в ранньому постішемічному періоді активація протеїназної активності крові є реакцією на зростання вмісту продуктів ОМБ як нейтрального, так і основного характеру, а нормалізація вмісту останніх на 12-ту добу є наслідком підвищеної протеолітичної активності крові. Ця реакція носить адаптивний характер, про що свідчить і достовірне зниження стосовно контролю вмісту  $\alpha_2$ -макроглобуліну, який пригнічує активність протеїназ, що забезпечують лізис високомолекулярних білків, в обидва терміни спостереження, та зростання на 12-ту добу вмісту  $\alpha_1$ -інгібітора протеїназ. Ці

Таблиця 4. Показники плазмового протеолізу в щурів із цукровим діабетом у динаміці ішемії-реперфузії головного мозку ( $M \pm m$ ,  $n = 11$ )

Схема дослідження	Лізис		
	низькомолекулярних білків од. $E_{440}/мл \cdot год^{-1}$	високомолекулярних білків од. $E_{440}/мл \cdot год^{-1}$	колагену од. $E_{440}/мл \cdot год^{-1}$
Контроль	3,092 $\pm$ 0,160	2,792 $\pm$ 0,271	0,912 $\pm$ 0,084
Ішемія-реперфузія 20 хв/1 год	4,627 $\pm$ 0,267*	4,440 $\pm$ 0,348*	1,091 $\pm$ 0,101
Ішемія-реперфузія 12 діб	4,968 $\pm$ 0,152*	3,128 $\pm$ 0,137*, **	1,189 $\pm$ 0,146
Діабет	4,436 $\pm$ 0,216*	4,576 $\pm$ 0,23*8	1,212 $\pm$ 0,092*
Діабет та ішемія-реперфузія 20 хв/1 год	4,604 $\pm$ 0,204	4,720 $\pm$ 0,094	1,062 $\pm$ 0,106
Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб	4,126 $\pm$ 0,203	4,857 $\pm$ 0,144	0,946 $\pm$ 0,128



**Таблиця 5. Показники сумарної протеїназної активності та протеїназо-інгібіторної системи крові в щурів за умов ускладнення цукрового діабету ішемією-реперфузією головного мозку ( $M \pm m$ ,  $n = 11$ )**

Схема досліджу	Протеїнази (сумарна активність) мкг/мл	$\alpha_2$ -Макроглобулін, ммоль/л	$\alpha_1$ -Інгібітор протеїназ, мкмоль/л
Контроль	0,551 $\pm$ 0,014	3,382 $\pm$ 0,101	26,12 $\pm$ 1,20
Ішемія-реперфузія			
20 хв/1 год	0,668 $\pm$ 0,013*	2,441 $\pm$ 0,113*	27,94 $\pm$ 2,11
Ішемія-реперфузія 12 діб	0,616 $\pm$ 0,012*,**	2,512 $\pm$ 0,121*	32,17 $\pm$ 1,46*
Діабет	0,447 $\pm$ 0,016*	4,728 $\pm$ 0,138*	31,98 $\pm$ 1,09*
Діабет та ішемія-реперфузія			
20 хв/1 год	0,471 $\pm$ 0,014	4,480 $\pm$ 0,129	30,62 $\pm$ 1,06
Діабет та ішемія-реперфузія 12 діб	0,481 $\pm$ 0,013	4,392 $\pm$ 0,164	41,94 $\pm$ 2,28***,****

зміни спрямовані на посилення деградації окисномодифікованих білків, обмеження запалення, активацію системи фібринолізу.

У щурів із ЦД протеолітична активність крові була вищою, ніж у тварин без цієї патології, внаслідок активації лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену. Ці показники перевищували контроль на 43, 64 та 33% ( $P < 0,05$ ), як і слід було очікувати на підставі змін інтенсивності ПОЛ, ОМБ та вмісту метаболітів оксиду азоту. При цьому сумарна протеїназна активність була нижчою, а вміст  $\alpha_2$ -макроглобуліну та  $\alpha_1$ -інгібітора протеїназ – вищими. Такі зміни свідчать про дисбаланс у системі протеази – антипротеази, що призводить до низки несприятливих ефектів, адже протеолітичні системи відіграють надзвичайно важливу роль у захисті клітин від глікозилювання, тобто, утворення КППГ – однієї з головних причин ускладнень ЦД. Глікозилювання структурних білків позаклітинного матриксу й сполучної тканини порушує взаємодію клітина – позаклітинний матрикс [16], а глікозилювання тканин стінок судин призводить до патології капілярного кровотоку [17] і звільнення АФК у результаті системної запальної відповіді [18]. Крім того, взаємодія моноцитів та ендотеліальних клітини з КППГ посилює секрецію цитокінів і медіаторів запалення цими клітинами

[19]. Зростання продукції просклеротичних цитокінів та розбалансування системи протеази – антипротеази посилює фіброз екстрацелюлярного матриксу [16]. Глікозилювані білки резистентні до протеаз, що разом із порушенням за умов діабету протеасомної активності сприяє накопиченню модифікованих білкових агрегатів [20].

Незважаючи на підвищення вмісту в крові продуктів ОМБ нейтрального характеру при ускладненні діабету ішемією-реперфузією головного мозку в обидва терміни спостереження, жодних змін показників системи протеази – антипротеази не виявлено ні в ранньому, ні в пізньому постішемічних періодах. Враховуючи пригнічення як про-, так і антиоксидантних механізмів у тварин цих експериментальних груп можна думати про відсутність чинників активації протеолізу за цих умов.

Сукупна оцінка отриманих результатів свідчать, що у тварин із ЦД за більшістю параметрів дезінтеграція біохімічних показників, що виникає у відповідь на ішемію-реперфузію мозку, менш суттєва, ніж у тварин контрольної групи. Така «біохімічна гіпореактивність» може бути результатом виснаження функціональних резервів організму фоном захворюванням – ЦД.

## ВИСНОВКИ

1. У плазмі крові щурів без ЦД в обидва терміни постішемичного періоду посилення ліпопероксидації компенсується підвищеною активністю антиоксидантних ферментів. Відмінною рисою для тварин із ЦД є пригнічення ліпопероксидації на тлі депресії активності усіх антиоксидантних ферментів.

2. В обидва терміни постішемичного періоду у тварин із ЦД за абсолютним значенням показників інтенсивність оксидації білків достовірно вища, ніж у щурів без діабету. При відсутності діабету на 12-ту добу постішемичного періоду в плазмі крові наявні ознаки нітрозативного стресу, а при діабеті в обидва терміни спостереження – пригнічення обміну оксиду азоту.

3. Протеолітична активність плазми крові в щурів без діабету за дослідженими показниками підвищена як у ранньому, так і в пізньому постішемичному періодах на тлі пригнічення протеїназоінгібіторної системи крові в ранньому періоді. У щурів із ЦД в обидва терміни спостереження показники протеолітичної активності та активності протеїназоінгібіторної системи крові не реагують на церебральну ішемію-реперфузію.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**O.V. Tkachuk<sup>1</sup>, S.S. Tkachuk<sup>1</sup>, M.A. Povar<sup>1</sup>, S.I. Anokhina<sup>1</sup>, O.V. Yasinska<sup>1</sup>, S.N. Vadziuk<sup>2</sup>**

### PECULIARITIES OF SYSTEMIC PATHOBIOCHEMICAL REACTIONS TO BRAIN ISCHEMIA-REPERFUSION IN RATS WITH DIABETES MELLITUS

<sup>1</sup>Bukovinian State Medical University, Chernivtsi;

<sup>2</sup>I.Y.Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil; e-mail: tkachuk.sviilana14@bsmu.edu.ua

The objective of the research was to study the signs of oxidative stress, the state of proteolysis, and the proteinase-inhibiting system of the blood plasma in rats with streptozotocin-induced diabetes mellitus (60 mg/kg intra-abdominally), complicated by cerebral ischemia-reperfusion. Levels of products of lipid peroxide oxidation, protein oxidative modification, nitrogen oxide metabolites, and activity of the antioxidant protection enzymes were determined by means of biochemical methods one hour after completion of the reperfusion period and on the 12th day. Increased intensity of lipid peroxidation was found to occur in the blood plasma of rats without diabetes mellitus in both terms of observation. This was accompanied by an increase in the activity of all the antioxidant enzymes, while in animals with diabetes the amount of lipid peroxidation products decreased in the ground of prevailing depression of all the antioxidant protection enzymes. Irrespective of a tendency of changes in the amount of POM products with cerebral ischemia-reperfusion, their content is reliably higher in animals with diabetes mellitus in both terms of observation than those in animals without diabetes, which is indicative of a higher intensity of their oxidation. Without diabetes, the proteolytic activity of the blood plasma reacts by increasing the values of the studied parameters against the background of suppression of the proteinase inhibitory system during the entire observation period, in rats, with diabetes the parameters of plasma proteolysis and the state of the proteinase-inhibiting system remain without changes in both terms of the observation. The data obtained allowed us to state that diabetes mellitus considerably modifies the response of the systemic pathobiochemical indices to cerebral ischemia-reperfusion.

**Key words:** diabetes mellitus; cerebral ischemia-reperfusion; pathobiochemical disturbances.

## REFERENCES

1. Ozougwu JC, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba CB. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *J Physiol Pathophysiol.* 2013;4(4):46-57.
2. Zaccardi F, Webb DR, Yates T, Davies MJ. Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: a 90-year perspective. *Postgrad Med J.* 2016;92(1084):63-9.
3. Jebur AB, Mokhamer MH, El-Demerdash FM. A review on oxidative stress and role of antioxidants in diabetes mellitus. *Austin Endocrinol Diabetes. Case Rep.* 2016;1(1):1006.
4. Sen Saikat, Chakraborty Raja, De Biplab. Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. In: *Diabetes Mellitus in 21st Century.* Singapore: Springer; 2016, 55-67.
5. Woodruff TM, Thundiyil J, Tang SC, Sobey CG, Taylor SM, Arumugam TV. Pathophysiology, treatment, and animal and cellular models of human ischemic stroke. *Mol Neurodegener.* 2011;6(1):11.
6. Rodrigo R, Fernández-Gajardo R, Gutiérrez R, Matamala JM, Carrasco R, Miranda-Merchak A, et al. Oxidative stress and pathophysiology of ischemic stroke: novel therapeutic opportunities. *CNS Neurol Disord Drug*

- Targets. 2013;12(5):698-714.
7. Kalinin RE, Abalenikhina YuV, Pshennikov AS, Suchkov IA, Isakov SA. Interrelation between oxidative carbonylation of proteins and lysosomal proteolysis of plasma in experimentally modelled ischemia and ischemia-reperfusion. *Eruditio Juvenium*. 2017;5(3):338-51. [Russian].
  8. Ge P, Luo Y, Liu CL, Hu B. Protein aggregation and proteasome dysfunction after brain ischemia. *Stroke*. 2007;38(12):3230-6.
  9. Tkachuk OV. Effect of streptozotocin-induced diabetes and incomplete global brain ischemia on apoptosis in the rats thymus. *Fiziol Zh*. 2011;57(6):58-64. [Ukrainian].
  10. Magalyas VM, Mikheev AO, Rogovy YuE. Modern methods of experimental and clinical research of the central research laboratory of the Bukovyna State Med Acad. Chernivtsi; 2001.
  11. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 1982;126(1):131-8.
  12. Veremeenko KN, Goloborodko OP, Kizim AI. Proteolysis in normal and pathological conditions. Kyiv; 1988. [Russian].
  13. Nanetti L, Taffi R, Vignini A, et al. Reactive oxygen species plasmatic levels in ischemic stroke. *Mol Cell Biochem*. 2007;303(1-2):19-25.
  14. Chen H, Chen X, Luo Y, Shen J. Potential molecular targets of peroxynitrite in mediating blood-brain barrier damage and haemorrhagic transformation in acute ischaemic stroke with delayed tissue plasminogen activator treatment. *Free Radic Res*. 2018;52(11-12):1220-39.
  15. Alghazeer R, Alghazir N, Awayn N, Ahtiwesh O, Elgahmasi S. Biomarkers of oxidative stress and antioxidant defense in patients with type 1 diabetes mellitus. *Ibnosina J Med Biomed Sci*. 2018;10:198-204.
  16. Nagai R, Murray DB, Metz TO, Baynes JW. Chelation: a fundamental mechanism of action of AGE inhibitors, AGE breakers, and other inhibitors of diabetes complications. *Diabetes*. 2012;61(3):549-59.
  17. Rhee SY, Kim YS. The role of advanced glycation end products in diabetic vascular complications. *Diabetes Metab J*. 2018;42(3):188-95.
  18. Teodoro JS, Nunes S, Rolo AP, Reis F, Palmeira CM. Therapeutic options targeting oxidative stress, mitochondrial dysfunction and inflammation to hinder the progression of vascular complications of diabetes. *Front Physiol*. 2018;9:1857.
  19. Hu R, Xia CQ, Butfiloski E, Clare-Salzler M. Effect of high glucose on cytokine production by human peripheral blood immune cells and type I interferon signaling in monocytes: Implications for the role of hyperglycemia in the diabetes inflammatory process and host defense against infection. *Clin Immunol*. 2018;195:139-48.
  20. Queisser MA, Yao D, Geisler S, Hammes HP, Lochnit G, Schleicher ED, et al. Hyperglycemia impairs proteasome function by methylglyoxal. *Diabetes*. 2010;59(3):670-8.

*Матеріал надійшов  
до редакції 28.06.2022*