

УДК 616.831-005.1-085.832.7-092.9

ВЛИЯНИЕ ТЭС-ТЕРАПИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ СИСТЕМЫ ПРО/АНТИОКСИДАНТЫ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ

Левичкин В.Д., Ременякина Е.И., Павлюченко И.И., Каде А.Х., Трофименко А.И., Занин С.А.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Кубанский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Краснодар, Россия (350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4), zanin77@mail.ru

Проблема лечения ишемического инсульта наиболее актуальная в современной медицине. В работе создана модель церебральной ишемии у крыс, на которой применена ТЭС-терапия. Эксперименты проведены на 180 крысах, которые были разделены на 3 группы: 1 – контроль, 2 – моделирование ишемического инсульта, 3 – моделирование ишемического инсульта и применение ТЭС-терапии. В эритроцитарной массе животных изучалась активность супероксиддисмутазы и каталазы, а в плазме крови - общая антиоксидантная активность и уровень максимальной вспышки хемилюминесценции на 1, 3, 7 и 14 сутки. В результате проведенного исследования установлено, что окислительный стресс более выражен у крыс 2 группы. Предварительное проведение ТЭС-терапии оказывает гомеостатический эффект, за счет повышения уровня β -эндорфина, который как вещество пептидной природы обладает антиоксидантными свойствами.

Ключевые слова: ишемический инсульт, ТЭС-терапия, окислительный стресс.

INFLUENCE OF TES-THERAPY ON INDICATORS OF SYSTEM OF PRO/ANTIOKSIDANTY AT RATS WITH THE EXPERIMENTAL ISCHEMIC STROKE

Levichkin V.D., Remenyakina E.I., Pavlyuchenko I.I., Kade A.Kh., Trofimenko A.I., Zanin S.A.

Kuban state medical university of the Ministry of Health Care and Social Development of the Russian Federation, Krasnodar, Russia (350063, Krasnodar, Sedina street, 4), zanin77@mail.ru

Problem of treatment of an ischemic stroke the most actual in modern medicine. In work the model of a cerebral ischemia at rats on which TES-THERAPY is applied is created. Experiments are made on 180 rats who have been divided into 3 bunches: 1 – control, 2 – ischemic stroke modeling, 3 – modeling of ischemic stroke and TES-THERAPY application. In erythrocyte to mass of animals activity of a superoxiddismutase and catalase, and in a blood plasma – the general antioxidative activity and level of the maximum flash of chemiluminescence for 1, 3, 7 and 14 days was studied. As a result of the conducted research it is positioned that the oxidative stress is more expressed at rats of 2 bunches. Pre-award carrying out of TES-THERAPY renders homeostatic effect, at the expense of level increase β -endorphin which as the material of the peptide nature possesses antioxidative properties.

Keywords: ischemic stroke, TES-therapy, oxidative stress.

Ведение. Несмотря на бурное развитие медицины проблемы сосудистых заболеваний головного мозга и особенно сосудистых катастроф не решены и до настоящего времени [8].

При развитии церебральной ишемии создаются условия формирования окислительного стресса (ОС). ОС является одним из ведущих механизмов в патогенезе ишемического инсульта (ИИ) и развивается в первые часы ишемии [1]. При очаговой ишемии мозга основную опасность для нервных клеток представляют процессы образования активных форм кислорода (АФК) и перекисного окисления липидов (ПОЛ) с усиленной продукцией реактивных кислородных радикалов и перекисных продуктов, обладающих мембрано- и цитотоксичностью, запускающих процессы «повреждения» с фрагментацией

мембранных фосфолипидов [7]. Процесс свободнорадикального окисления в настоящее время признан абсолютно универсальным общебиологическим механизмом при развитии любого вида патологии. В этих условиях очень важна своевременная мобилизация факторов системы антиоксидантной защиты (АОЗ) [3].

Для изучения эффективности ТЭС-терапии при ИИ была поставлена цель изучить ее влияние на «оксидативный» статус и показатели системы про- /антиоксиданты в эксперименте на животных.

Материалы и методы. Эксперименты проведены на 180 белых нелинейных крысах-самцах, средней массой – 250 ± 50 гр., средний возраст которых колебался от 9 месяцев до 1 года. Операции выполнялись под общим золетил-ксилазиновым наркозом. Моделирование острой локальной церебральной ишемии выполнялось путем коагуляции правой средней мозговой артерии [5,9]. Для сравнительного изучения влияния ТЭС-терапии животные были разделены на 3 группы: 1 группа (n=20) – контрольная, операция этим крысам не выполнялась; 2 группа (n=80) – животные с моделированным ИИ и 3 группа (n=80) – животные с моделированным ИИ, которым проводилась ТЭС-терапия в течение первых 7 суток, при этом ТЭС назначалась в 1 сутки до проведения оперативного вмешательства.

ТЭС-терапия экспериментальным животным проводилась модифицированным двухпрограммным электростимулятором «ТРАНСАИР-03» (г. С.-Петербург, Россия) в анальгетическом режиме. Параметры транскраниальной электростимуляции для крыс представлены в таблице 1.

Расположение подкожных игольчатых электродов фронто-мастоидальное (два катода помещены на лоб в надбровных областях, сдвоенный анод – позади ушных раковин). Длительность сеанса во всех случаях составляла 45 минут.

Таблица 1

Параметры электрического тока, использованного при проведении ТЭС-терапии в режиме анальгезии у крыс

Частота, Гц	Длительность импульса, мс	Величина суммарного тока, мА
70 ± 2	$3,75 \pm 0,25$	0,6-2,5

Для изучения динамики процессов свободнорадикального окисления (СРО), состояния системы АОЗ при моделировании ИИ и влияния на эти процессы ТЭС-терапии забор крови у экспериментальных животных осуществляли после выведения их из эксперимента на 1, 3, 7 и 14 сутки по 20 животных во 2 и 3 группе. Забор крови производился по общепринятой методике. Контролем служили показатели группы

интактных крыс (n=20). В эритроцитарной массе изучалась активность ферментов первой и второй линии системы АОЗ крови – супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы (КАТ). Активность КАТ исследовали в гемолизате эритроцитов по спектрофотометрическому методу, предложенному R. Veers et all (1952) в авторской модификации И.И. Павлюченко и соавт., (2006) [2], основанному на оценке скорости убыли субстрата фермента (перекиси водорода). Активность СОД определяли в гемолизате эритроцитов по методу предложенному В.А. Костюк и соавт. (1990) в авторской модификации И.И. Павлюченко и соавт. (2006) [2]. В плазме крови изучались биофизическими методами общая антиоксидантная активность (АОА) и уровень максимальной вспышки хемилюминесценции (МХВЛ). Интенсивность МВХЛ определялась с помощью люминотестера ЛТ-01 в составе системы для диагностики ОС [4], позволяющей регистрировать амплитуду и площадь хемилюминесценции. Способ основан на измерении электрического тока, возникающего при окислении биологического образца на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале. Использовалась стандартная методика [А.Я. Яшин и соавт., 2003] в модификации [А.А. Басов и соавт., 2007].

Результаты и их обсуждение. При изучения показателей системы про-/ антиоксиданты были выявлены существенные сдвиги в системе АОЗ крови уже на 1 сутки, причем в этот период примерно одинаковые во 2 и 3 группах (рис.1).

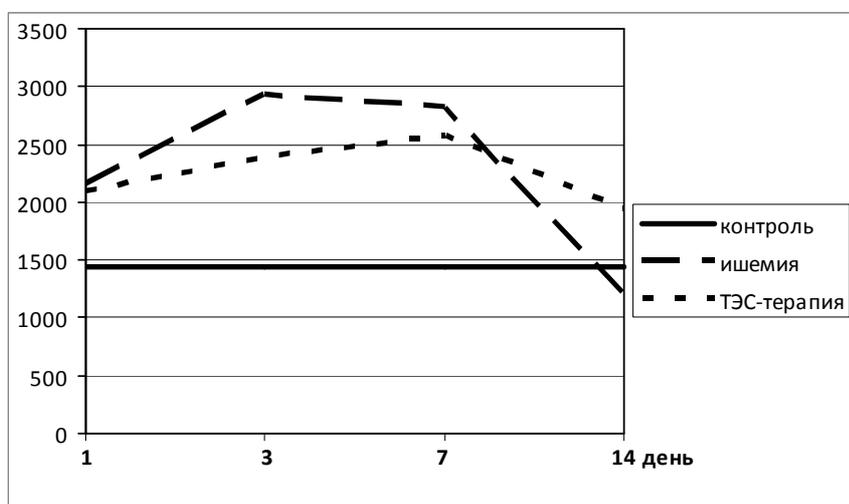


Рисунок 1. Динамика показателей АОА плазмы крови экспериментальных животных с моделированным ИИ (группа 2) и с моделированным ИИ на фоне ТЭС-терапии (группа 3)

АОА плазмы крови во 2 группе экспериментальных животных на 1 сутки моделирования ИИ достоверно ($p \leq 0,05$) возросла в среднем на 49 % в 3 группе – на 45 % ($p \leq 0,05$) относительно показателей 1 контрольной группы животных, что отражает напряжение в системе АОЗ в ответ на ОС при остром оперативном вмешательстве. В дальнейшем показатель АОА плазмы возрастал еще более выражено, но в разной степени в наблюдаемых группах. Во 2 группе на 3 сутки показатель АОА был достоверно ($p \leq 0,05$)

выше контрольных значений в среднем на 103 %, в 3 группе – на 65 % ($p \leq 0,05$) и такое повышение данного биофизического показателя сохранялось вплоть до 7 суток в обеих группах. На 14 сутки наблюдения отмечалось резкое снижение АОА плазмы крови, при этом во 2 группе происходил обвал этого показателя ниже контрольных значений на 16 % ($p \leq 0,05$), а в 3 группе снижение было менее выраженное, и показатель оставался выше данных группы контроля в среднем на 35 % ($p \leq 0,05$). Данная динамика показателей АОА плазмы крови у животных с моделированным ИИ свидетельствует о выраженном состоянии ОС, который прогрессирует во времени. На фоне проводимой ТЭС-терапии его течение менее агрессивное.

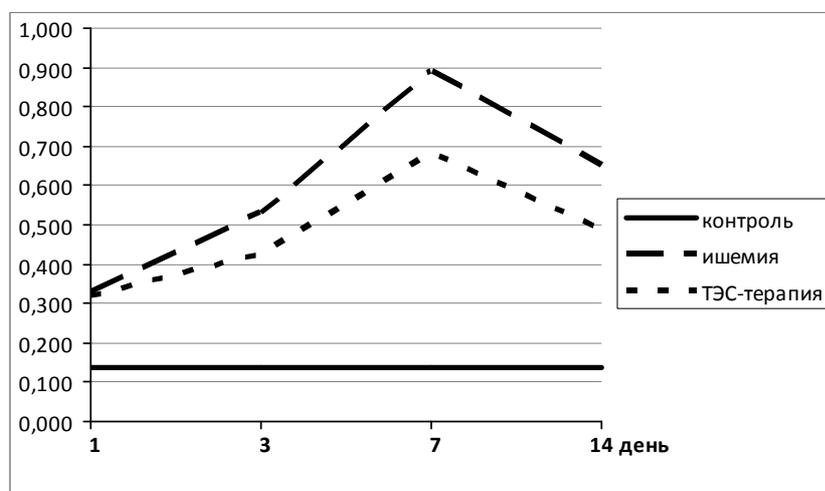


Рисунок 2. Динамика показателей ХЛ плазмы крови экспериментальных животных с моделированным ИИ (группа 2) и с моделированным ИИ на фоне ТЭС-терапии (группа 3)

Выраженность оксидативной нагрузки подтвердил показатель ХЛ, отражающий накопление продуктов СРО в биологических жидкостях и тканях организма (рис. 2).

Уровень ХЛ на 1 сутки после моделирования ИИ во 2 и 3 группах был достоверно ($p \leq 0,05$) выше значений контрольной группы животных в 2,4 и 2,3 раза соответственно. На 3 сутки интенсивность прооксидантной нагрузки достоверно ($p \leq 0,05$) возрастала, причем более выражено во 2 группе животных. Показатель ХЛ плазмы крови в этот период во 2 группе был достоверно ($p \leq 0,05$) выше показателя контроля в 3,9 раза, а в 3 группе – в 3,1 раза. На 7 сутки отмечен максимальный подъем уровня продуктов СРО в плазме крови экспериментальных животных, что выразилось в достоверном ($p \leq 0,05$) повышении показателя ХЛ во 2 и 3 группах (в 6,5 и 5,0 раз соответственно). К 14 суткам отмечено достоверное ($p \leq 0,05$) снижение уровня ХЛ плазмы крови относительно 7 суток, но уровень этого показателя прооксидантной нагрузки оставался высоким и в этот период. Он достоверно ($p \leq 0,05$) превышал показатель контроля во 2 группе в 4,7 раза, а в 3 группе в 3,6 раза и оставался даже выше показателей 1 суток. Данный факт является подтверждением выраженных метаболических сдвигов в организме при возникновении ишемических катастроф в мозговых тканях.

Для более детального понимания характера сдвигов в системе АОЗ-СРО необходимо изучать и оценивать, прежде всего, состояние эндогенных антиоксидантов, образование и функционирование которых зависит от общих метаболических процессов в организме и степени их защищенности. Отражением этого является активность ферментов 1 и 2 линии антирадикальной и антиоксидантной защиты – СОД и КАТ. При изучении их активности в крови экспериментальных животных наблюдаемых групп подтвердилось наличие значительного дисбаланса в системе АОЗ организма при развитии ИИ. Активность СОД значительно повышалась при моделировании ИИ с первых суток наблюдения (рис.3). Так, активность СОД уже на 1 сутки эксперимента достоверно ($p \leq 0,05$) возросла во 2 и 3 группах, относительно группы контроля, на 38,5 % и 30,7 % соответственно. При этом необходимо отметить, что уже в этот период у экспериментальных животных 3 группы на фоне ТЭС-терапии отмечен менее выраженный сдвиг в активности СОД. На 3–7 сутки возрастало напряжение в системе АОЗ и происходило дальнейшее повышение активности СОД. На 3 сутки показатель достоверно ($p \leq 0,05$) увеличивался во 2 и 3 группах, относительно контрольных значений, соответственно на 61,5 % и 46,2 %, и на 7 сутки на 153,8 % и 69,2 % соответственно. Это свидетельствует о максимальном напряжении системы АОЗ в этот период у экспериментальных животных с моделированным ИИ и ОС. Однако он значительно менее выражен на фоне проводимой ТЭС-терапии в 3 группе. К 14 суткам отмечено снижение активности СОД, при этом во 2 группе показатель оставался выше контрольных значений на 23,1 %, а в 3 группе практически возвращался к нормальным значениям (рис. 3).

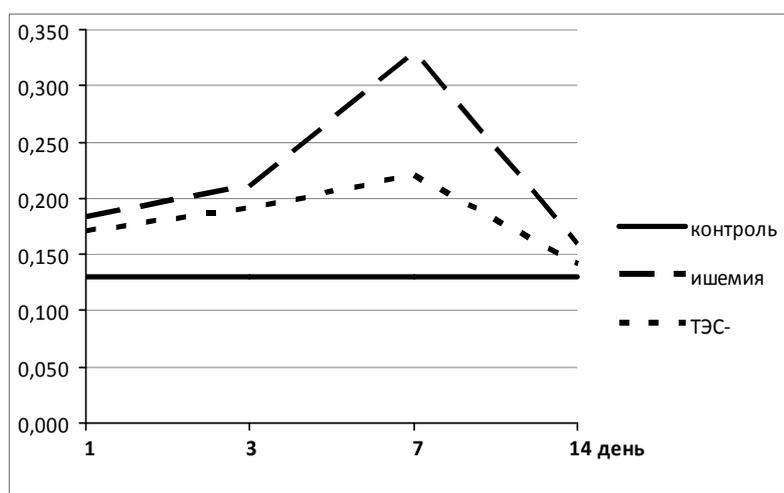


Рисунок 3. Динамика показателей активности СОД эритроцитов экспериментальных животных с моделированным ИИ (группа 2) и с моделированным ИИ на фоне ТЭС-терапии (группа 3)

Это, с одной стороны, свидетельствует об истощении эндогенных ресурсов антирадикальной защиты на фоне процессов ишемия/реперфузия, после частичного восстановления мозгового кровообращения, а, с другой, о компенсаторном значении активации стресс-лимитирующих систем. В отличие от активности СОД, активность

фермента 2 линии антиоксидантной защиты КАТ эритроцитов была сниженной у экспериментальных животных 2 группы с моделированным ИИ на всем протяжении эксперимента (рис. 4).

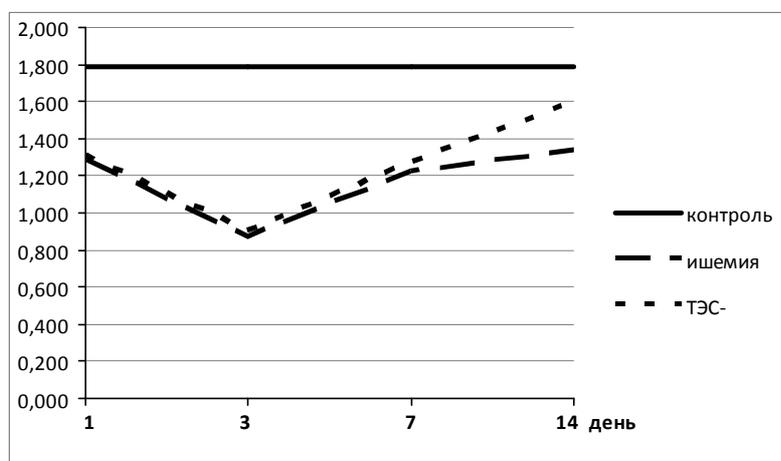


Рисунок 4. Динамика показателей активности КАТ эритроцитов экспериментальных животных с моделированным ИИ (группа 2) и с моделированным ИИ на фоне ТЭС-терапии (группа 3)

При этом необходимо отметить тот факт, что отличия в динамике КАТ в обеих группах были похожи. В 1 сутки, после моделирования ИИ, активность КАТ была достоверно ($p \leq 0,05$) ниже контрольных значений у животных 2 и 3 групп на 28,5 % и 26,9 % соответственно, на 3 сутки – на 51,4 % и 49,7 % соответственно. В последующем отмечен некоторый рост активности КАТ эритроцитов у экспериментальных животных обеих групп, но ее показатели не возвращались к значениям контрольной группы и к 14 суткам оставались достоверно ($p \leq 0,05$) ниже во 2 и 3 группах на 25,7 % и 10,6 % соответственно. Следовательно, необходимо отметить, что на фоне проведения ТЭС-терапии активность КАТ имела более позитивную динамику.

Особенно обращает внимание дисбаланс в работе двух основных ферментов системы АОЗ. Необходимо также отметить некоторые особенности в изменении активности ферментов на фоне ТЭС-терапии у животных 3 группы. Хотя динамика изменения активности ферментов была похожа во 2 и 3 группах экспериментальных животных, но на фоне ТЭС-терапии имели место более сглаженные сдвиги в изменении показателей системы АОЗ относительно группы контроля. Однако можно отметить более благоприятное изменение активности СОД, которая была значимо повышена в обеих группах, у животных с моделированным ИИ на фоне ТЭС-терапии. При этом к 14 суткам активность СОД у животных с моделированным ИИ на фоне использования ТЭС-терапии практически возвращалась к норме. Менее выражен был и дисбаланс в активности изучаемых ферментов, что свидетельствует о меньшей истощенности и дисфункции системы АОЗ на фоне проведения ТЭС-терапии.

Выводы. На основании полученных результатов можно сделать заключение, что положительные эффекты ТЭС-терапии в большей степени объясняются ее гомеостатическими свойствами, что описано в литературе [6]. Это связано с особенностями действия защитных пептидов мозга, прежде всего β -эндорфина, которые обладают обезболивающими свойствами и способностью модулировать действия некоторых гормонов, но и будучи веществами пептидной природы сами могут обладать прямыми антиоксидантными свойствами. Это важно для тканей головного мозга. При развитии ишемии ткани мозга, гипоксических состояниях применение ТЭС-терапии оказывается весьма важным с патофизиологической точки зрения.

Список литературы

1. Гусев Е. И., Коновалов А. Н., Скворцова В. И., Гехт А. Б. Неврология: национальное руководство. – ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 1064 с.
2. Луговая И. А. Активность ферментов антирадикальной защиты в эритроцитах и в раневом отделяемом у больных с осложненным течением сахарного диабета / И. А. Луговая, И. И. Павлюченко, С. Р. Федосов // Открытое образование. – 2006. – № 3. – С. 425–427.
3. Луцак В. И. Окислительный стресс и механизмы защиты от него / В. И. Луцак // Биохимия. – 2001. – Т. 66, вып. 5. – С. 592-609.
4. Павлюченко И. И., Федосов С. Р., Басов А. А. Программа для регистрации сигналов хемиллюминотестера ЛТ-1. Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ №2006611562 от 10 мая 2006 года.
5. Трофименко, А. И. Моделирование церебральной ишемии посредством коагуляции средней мозговой артерии у крыс / А. И. Трофименко, А. Х. Каде, В. П. Лебедев [и др.] // Жур. фундаментал. исслед. – № 2. – 2012. – С. 215-218.
6. Трофименко, А. И. Влияние ТЭС-терапии на исходы острого адреналинового повреждения сердца у крыс / А. И. Трофименко, А. Х. Каде, В. П. Лебедев [и др.] // Кубанский науч. мед. вестник. – № 5 (140). – 2013. – С. 174-180.
7. Трофимова, С. А. Окислительный стресс у больных в постинсультном периоде / С. А. Трофимова, О. А. Балунов, Е. Е. Дубинина // Неврологич. вестник. – 2007. – Т. XXXIX. – № 1. – С. 31-36.
8. Стародубцева, О. С. Анализ заболеваемости инсультом с использованием информационных технологий / О. С. Стародубцева, С. В. Бегичева // Фундаментал. исслед. – 2012. – № 8(2). – С. 424-427.

9. Wang-Fischer, Y. Manual of stroke models in rats. – CRC Press Taylor& Francis Group. – 2009. – 352 p.

Рецензенты:

Брин В.Б., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии ГБОУ ВПО СОГМА Минздрава России, г. Владикавказ.

Колесникова Н.В., д.б.н., профессор, заведующая ЦНИЛ Отдела клинической экспериментальной иммунологии и молекулярной биологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России, г. Краснодар.