

Тимофійчук І.Р., Анохіна С.І., Кузнєцова О.В., Боштан С.В., Семененко С.Б., Слободян К.В.
Зміни гормональної активності та біохімічні перебудови кори наднирникових залоз на тлі розвитку експериментального цукрового діабету у щурів різних вікових груп

Тимофійчук Інга Романовна, кандидат медичних наук, доцент кафедри фізіології
Анохіна Світлана Іванівна, кандидат медичних наук, доцент кафедри фізіології
Кузнєцова Олександра Володимирівна, кандидат медичних наук, доцент кафедри фізіології
Боштан Софія Володимирівна, асистент кафедри фізіології
Семененко Світлана Богданівна, кандидат біологічних наук, асистент кафедри фізіології
Слободян Ксенія Валеріївна, кандидат медичних наук, асистент кафедри патофізіології
Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці, Україна

Анотація: Стаття присвячена вивченню особливостей стану прооксидантно-антиоксидантної системи в корі наднирникових залоз та дослідженню вмісту кортизолу в плазмі крові щурів різних вікових груп та на тлі розвитку експериментального цукрового діабету. Виявлені вікові особливості довели, що із віком відбувається наростання процесів пероксидації при одночасному зниженні активності антиоксидантних ферментів у тварин найстаршого віку, а також встановлено достовірне зростання вмісту кортизолу. Цукровий діабет посилює процеси пероксидації при одночасному зниженні активності ферментів антиоксидантного захисту. Зростання вільнорадикальних процесів і збільшення рівня кортизолу у щурів старшої вікової групи, особливо на тлі розвитку цукрового діабету, вказують на можливі причини пришвидшеного старіння та дегенерації з віком.

Ключові слова: *перекисне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист, кортизол*

Вступ. Постійність рівня глюкози в крові – важлива умова підтримання нормальної життєдіяльності організму. Нормоглікемія є результатом узгодженої роботи нервової системи, гормонів і печінки [1].

Короткий огляд публікацій по темі. Цукровий діабет зазвичай розглядається як важке метаболічне захворювання, яке пов'язано із порушенням усіх видів обміну. Провідна роль в цьому належить насамперед клітинам печінки, які відтворюють великий надлишок глюкози і бета-клітинам підшлункової залози, які продукують інсулін і пошкодження яких, в кінцевому результаті, приводить до поступових змін у всіх метаболічних і транспортних процесах, які приймають участь в обміні глюкози в організмі [3,7]. При діабеті розвивається окислювальний стрес, який викликається вільними кисневими радикалами. У хворих ЦД різко погіршуються антиокислювальні властивості крові, при експериментальному діабеті знижується активність антиокислювального захисту в тканинах щурів і мишей, активується перекисне окиснення ліпідів в мозку, печінці, нирках і крові [2]. В умовах порушення вуглеводного обміну виникає «метаболічний стрес», який активує гіпоталамо-гіпофізарно-наднирникову систему організму з метою адаптації. Кортикостероїди мають надзвичайно широкий спектр дії, контролюючи процеси розвитку і диференціювання клітин, регулюють клітинну проліферацію, зміни метаболізму та розвиток нейроендокринних модифікацій, що дозволяє організму відповідати на стрес адекватним чином та адаптуватись до умов існування [5,6]. Наслідком такої адаптації є зростання рівня кортизолу, який стає причиною ще більшої гіперглікемії, атеросклерозу судин. Підвищена продукція кортизолу приводить до розвитку аутоімунних процесів в ендотелії судин, збільшує вміст в крові ліпопротеїнів низької щільності, токсичних продуктів ПОЛ. Пошкодження ендотелію судин їх дисфункція сприяє розвитку гіперреактивності судин і вазоконстрикції [3,7,8].

З віком змінюється характер вільнорадикальних процесів, стан судин, що, безумовно, впливає на зрос-

тання процесів перекисного окиснення та зниження активності ферментів антиоксидантного захисту [7,8,9]. **Метою** даного дослідження було – встановити особливості вікової реакції надниркової системи при старінні та на тлі розвитку цукрового діабету.

Матеріали та методи: Дослідження проведено на нелінійних лабораторних щурах-самцях одно (молоді тварини), п'ятимісячного (дорослі тварини) та вісімнадцятимісячного (старі тварини) віку та у тварин із експериментальним цукровим діабетом. Для відтворення цукрового діабету (ЦД) 2 типу за методом А.М. Ульянова і Ю.А. Тарасова використовували протамін сульфат, який вводили внутрішньом'язево (в/м) дозою 1 мм/кг 2 рази на день протягом 14 діб. Наднирникові залози швидко виймали на холоді, фіксували в рідкому азоті. Для дослідження забирали лише кору наднирників. Наважки гомогенізували в охолодженому Трис-НСІ буфері (рН – 7,4). В отриманих гомогенатах визначали досліджувані показники. Вивчення процесів оксидації проводили по визначенню вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ): дієнових кон'югатів (ДК) та малонового альдегіду (МА). Активність ферментів антиоксидантного захисту (АОЗ) оцінювали по активності ферментів: супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), глутатіонпероксидази (ГПО) [4]. Для визначення активності глюкокортикоїдів визначали вміст кортизолу в плазмі крові піддослідних тварин наборами фірми «Хьюмен». Тварин декапітували з дотриманням правил евтаназії. Кров збирали в центрифужні пробірки. Проводили центрифугування протягом 20 хвилин. Концентрацію кортизолу виражали в нмоль/л плазми. Експериментальні втручання та евтаназія тварин проводилася з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000). Статистичне опрацювання отриманих результатів проводили за допомогою прикладних програм "Statistica 6.0" та "SPSS 13". Проводили розрахунок

наступних статистичних показників: середню арифметичну, середньоквадратичне відхилення, стандартну похибку середньої арифметичної. Для оцінки відмінностей середніх величин при нормальному характері розподілу вибірових сукупностей використовували параметричний t-критерій Стьюдента. Статистично вірогідними вважали зміни при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення: Аналіз стану інтенсивності ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в корі наднирникових залоз та вміст кортизолу в плазмі крові щурів з цукровим діабетом і без у тварин різних вікових груп виглядає наступним чином.

Наші дослідження встановили достовірне зростання рівня кортизолу із віком та значне його наростання при розвитку експериментального цукрового діабету. Так, у молодих тварин без діабету рівень кортизолу в плазмі крові складав $5,67 \pm 0,23$ мкмоль/л, у дорослих і старих тварин рівень кортизолу мав тенденцію до наростання до $7,28 \pm 0,41$ мкмоль/л і $7,96 \pm 0,14$ мкмоль/л, відповідно. В плазмі крові щурів із діабетом рівень кортизолу значно зростає: у молодих тварин він підвищувався в 3,1 рази, у дорослих в 2,9 рази, у старих тварин рівень кортизолу залишався вищим норми в 1,9 рази. Зростання рівня кортизолу ймовірно стало причиною ще більшої гіперглікемії і наростання процесів перекисного окиснення ліпідів при одночасному зниженні активності ферментів антиоксидантного захисту.

Рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів зростає у старих тварин без діабету. У одномісячних та п'ятимісячних тварин рівень ДК склав відповідно $10,43 \pm 0,15$ нмоль/мг білка та $11,02 \pm 0,05$ нмоль/мг білка. У старих тварин відмічено наростання продуктів ліпопероксидації ДК в 2,1 рази, а МА зростає до $9,23 \pm 0,15$ нмоль/мг білка при $4,5 \pm 0,25$ нмоль/мг білка та $5,2 \pm 0,17$ нмоль/мг білка у молодих і старих тварин відповідно. У старих тварин по зрівнянню із дорослими відмічені нижчі показники активності ферментів антиоксидантного захисту. Рівень супероксиддисмута-

зи у молодих тварин був $8,01 \pm 0,21$ од/хв·мг білка. У дорослих рівень СОД зростає в 1,5 рази, а у старих знижувався до $7,06 \pm 0,21$ од/хв·мг білка. Рівень каталази у молодих і дорослих тварин був практично однаковий $3,06 \pm 0,01$ мкмоль/хв·мг білка та $2,92 \pm 0,04$ мкмоль/хв·мг білка. У старих тварин рівень каталази знижувався в 1,2 рази.

Цукровий діабет викликає різке наростання рівня продуктів перекисного окиснення ліпідів у всіх вікових групах. У молодих тварин з експериментальним цукровим діабетом (ЕЦД) рівень ДК та МА зростає в 2,6 та 2,8 разів відповідно. У старих тварин з (ЕЦД) рівень ДК зростає в 3 рази, а МА досягає рівня $12,2 \pm 0,17$ нмоль/мг білка. Підвищення рівня продуктів ПОЛ відбувалось на тлі зниження активності ферментів антиоксидантного захисту у тварин з ЕЦД, так у молодих тварин з активність СОД та каталази знижувалась в 2,3 та 1,5 разів відповідно, у дорослих та старих тварин ця тенденція зберігалась і рівень СОД та каталази у старих тварин знижувався в 3 та 2,3 рази відповідно.

Отримані дані дозволяють зробити певні висновки: з віком наростають процеси пероксидації при одночасному зниженні активності ферментів антиоксидантного захисту, у тварин найстаршої вікової групи втрачається рівновага між цими процесами в бік переважання процесів пероксидації, а експериментальний цукровий діабет лише посилював процеси ліпопероксидації; старіння модифікує біохімічні процеси в сторону наростання продуктів перекисного окиснення ліпідів і зниження активності ферментів антиоксидантного захисту; суттєве зростання рівня кортизолу у тварин з експериментальним цукровим діабетом було причиною гіперглікемії та поглиблення процесів пероксидації.

Отримані закономірності спрямовують нашу увагу на роль наднирникових залоз у регуляції рівня глюкози за умов розвитку експериментального цукрового діабету у тварин різних вікових груп і диктують необхідність подальших досліджень.

ЛІТЕРАТУРА

1. Возрастная инволюция органов и тканей / В.Х. Хавинсон, И.М. Кветной, И.Е. Ингел [и др.] // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т. 34, № 1. – С. 79-91.
2. Зак К.П. Цитокины и сахарный диабет 1-го типа у человека (обзор с включением собственных данных) / К.П. Зак // Український медичний часопис – № 1 (51) – І/ІІ 2006. – С. 78-89
3. Резніков О.Г. Вікові та статеві особливості норадренергічної реактивності гіпоталамо-гіпофізарно-адренкортикальної системи у пренатально стресованих щурів / О.Г. Резніков, П.В. Сініцин, Л.В. Тарасенко // Доп. НАН України. – 2001. – № 1. – С. 177-180.
4. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / В.М. Магальяс, А.О. Міхеев, Ю.С. Роговий та ін. – Чернівці, 2001. – 42 с.
5. Ткачук С.С. Вікова залежність нейрогормональних показників стрес-реактивності при неповній глобальній ішемії мозку щурів / С.С. Ткачук, В.П. Пішак, І.Р. Тимофійчук, Т.І. Бойчук // "Високогірна гіпоксія і геном": тези доповідей наукової конференції з міжнародною участю, Терскол, Кабардино-Балкарія, Росія, 14-17 серпня 2008 р. : Фізіологічний журнал. – 2008. – Т. 54, № 4. – С. 93.
6. Ткачук С.С. Стан перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантного захисту в окремих структурах головного мозку старих щурів при неповній глобальній ішемії / С.С. Ткачук, Т.І. Бойчук // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 3. – С. 109-112.
7. Чазова И.Е. Цереброваскулярные осложнения при метаболическом синдроме и возможные подходы к снижению риска / И.Е. Чазова, В.Б. Мычка, К.М. Мамырбаева // Терапевтический архив. – 2004. – Т. 76, №6 – С. 74-81.
8. Robinson L.E. Inflammation, obesity, and fatty acid metabolism: influence of n-3 polyunsaturated fatty acids on factors contributing to metabolic syndrome / L.E. Robinson, A.C. Buchholz, V.C. Mazurak // Appl. Physiol. Nutr. Metab. – 2007. – Vol. 32(6). – P. 1008-1024.
9. Rodríguez-Mañas L. Endothelial dysfunction in aged humans is related with oxidative stress and vascular inflammation / L. Rodríguez-Mañas, M. El-Assar, S. Vallejo // Aging Cell. – 2009. – Vol. 8(3) – P. 226-38.

REFERENCES (TRANSLATED AND TRANSLITERATED)

1. Age involution of organs and tissues / W.H. Havinson, I.M. Kvetnoy, I.E. Ingela [et al.] // Advances of Physiological Sciences. – 2003. – V. 34, № 1. – P. 79-91.
2. Zak K.P. Cytokines and Type 1 diabetes in humans (with the inclusion of a review of its own data) / K.P. Zak // Ukrainian Medical Journal – № 1 (51) – I / II 2006. – P. 78-89
3. Reznikov A.G. Age and gender-noradrenergic responsiveness of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical system in prenatally stressed rats / O.H. Reznikov, P.V. Sinitsyn, L.V. Tarasenko // Reports of NAS of Ukraine. – 2001. – № 1. – P. 177-180.
4. Modern methods of experimental and clinical studies of the central research laboratory Bukovinskoy State Medical Academy / V.M. Mahalyas, A.O. Mikheev, Yu.Ye. Rohoviy et al. – Chernivtsi, 2001. – 42 p.
5. Tkachuk S.S. Age dependency neurohormonal parameters of stress reactivity with incomplete global cerebral ischemia rats / S.S. Tkachuk, V.P. Pishak, I.R. Tymofiychuk, T.I. Boychuk // "alpine hypoxia and gene": Abstracts of Conference with international participation, Terskol, Kabardino-Balkaria, Russia, 14-17 August 2008: Physiological magazine. – 2008 – Vol 54, № 4. – P. 93.
6. Tkachuk S.S. State of lipid peroxidation and antioxidant defense in certain brain structures of old rats with incomplete global ischemia / S.S. Tkachuk, T.I. Boychuk // Clinical and Experimental Pathology. – 2010 – Vol. IX, № 3. – P. 109-112.
7. Chazova I.E. Cerebrovascular complications of metabolic syndrome and possible approaches to risk reduction / I.E. Chazova, V.B. Mychka, K.M. Mamyrbayeva // Therapeutic archive. – 2004. – Vol. 76, № 6 – P. 74-81.

Тимофійчук І.Р., Анохіна С.В., Кузніжстова О.В., Боштан С.В., Семененко С.Б., Слободіян Х.В.

Changes of hormonal activity and biochemical reorganizations of a cortex of adrenal glands on a background of development of an experimental diabetes at rats of different age groups

Abstract. The work is dedicated to researching of features of a condition peroxidation - antioxidant systems in the adrenal gland of rats and the level of hydrocortisone in plasma of blood of different age groups. Are established age and the region features have proved, that with the age the products of lipid peroxidation are increased and the antioxidant enzymes protection are decreased at simultaneous at animals of the senior age group and the level of hydrocortisone at animals of the senior age group tended to increase. The diabetes strengthens processes of lipid peroxidation at simultaneous decrease in activity of antioxidant enzymes protection. Increase of a level of peroxidation processes and increase in a level of hydrocortisone at rats of the senior age group specify the possible reasons of the degeneration of cells with years.

Keywords: *the products of lipid peroxidation, the antioxidant enzymes protection, hydrocortisone*

Тимофійчук І.Р., Анохіна С.І., Кузнецова О.В., Боштан С.В., Семененко С.Б., Слободян К.В.

Изменения гормональной активности и биохимические перестройки коры надпочечников на фоне развития экспериментального сахарного диабета у крыс разных возрастных групп

Аннотация: Статья посвящена изучению особенностей состояния проокисно-антиоксидантной системы в коре надпочечников и исследованию содержания кортизола в плазме крови крыс разных возрастных групп на фоне развития экспериментального сахарного диабета. Выявлено, что с возрастом происходит нарастание процессов пероксидации при одновременном снижении активности антиоксидантных ферментов у животных старой возрастной группы, а также выявлено достоверное возрастание уровня кортизола. Сахарный диабет усиливает процессы пероксидации при одновременном снижении активности ферментов антиоксидантной защиты. Возрастание свободнорадикальных процессов и увеличение уровня кортизола у крыс старой возрастной группы, особенно на фоне развития экспериментального сахарного диабета указывают на возможные причины ускоренного старения и дегенерации с возрастом.

Ключевые слова: *перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита, кортизол*