

## ОКСИДАТИВНИЙ СТРЕС У МОЗКУ АКОГОЛІЗОВАНИХ ЩУРІВ З ІНТЕРВАЛЬНОЮ ГІПОБАРИЧНОЮ ГІПОКСІЄЮ

Козак Л.П.

*Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна*

*Анотація. Відомо, що унаслідок систематичного надходження значної кількості етанолу збільшується швидкість утворення і вміст ацетальдегіду в мозку, що є основною причиною алкогольної інтоксикації. Для оцінки ступеня метаболічних порушень при дії етанолу актуальним є визначення міри активації процесів перекисного окиснення ліпідів та збалансованість її системами антиокислювального захисту. Метою даного дослідження було оцінити ефект інтервального гіпоксичного тренування, застосованого на початку 30-денної алкоголізації щурів, на процеси перебігу пероксидних процесів та стан антиоксидантної системи крові та тканин мозку. Отримані дані вказують на перебіг у крові та мозку адаптивних реакцій із залученням як ензиматичних, так і неензиматичних систем антиоксидантного захисту, але всупереч активації окремих ланок антиоксидантної системи, вільнорадикальні процеси переважали у тканині мозку. Установлено, що сеанси короткотривалих гіпоксичних впливів на початку хронічного споживання етилового спирту, забезпечують зростання потужності антиоксидантного захисту цих тварин відносно алкоголізованих.*

**Ключові слова:** *етанол, мозок, інтервальна гіпоксія, оксидативний стрес, антиоксидантний захист.*

**Вступ.** Взаємодія організму із етанолом розглядається, звичайно, як гомеостатичний процес, тобто процес пристосування організму до середовища та дає уявлення про загальні механізми токсичної дії на основі вчення про гомеостаз та адаптацію, що охоплює всі прояви патології від передпатологічних до екстремальних, ураховуючи також постінтоксикаційні стани і віддалені наслідки. Унаслідок систематичного надходження значної кількості етанолу збільшується швидкість утворення і вміст ацетальдегіду в печінці та мозку, що є основною причиною алкогольної інтоксикації [2, 9]. У наших попередніх дослідженнях було показано, що вплив 15 %-ного розчину етанолу впродовж 30 днів істотно видозмінює перебіг кисеньзалежних метаболічних реакцій, що специфічно проявляється у різних органах та системах [2]. Установлено ефективність використання інтервального гіпоксичного тренування (ІГТ) в комплексному лікуванні алкогольної інтоксикації. Слід підкреслити, що максимальна відповідність між кисневою потребою і об'ємом кисню, який надходить до клітини, є надзвичайно важливою для про- і антиоксидантної рівноваги та забезпечення адаптогенного ефекту організму [9, 10]. Навіть незначні порушення такої відповідності призводять до

надмірної активації вільнорадикальних процесів, розгортання пероксидного окиснення ліпідів (оскільки як гіпоксичні, так і гіпероксичні умови стимулюють утворення активних форм кисню, які є первинними месенджерами цих процесів) [7].

**Метою дослідження** було оцінити захисний ефект ІГТ, застосованого на початку 30-денної алкоголізації щурів, на процеси перебігу пероксидних процесів та стан антиоксидантної системи крові та тканин мозку.

**Матеріали та методи досліджень** Дослідження проведено на білих щурах-самцях масою 0,18-0,22 кг, яких було розділено на чотири групи (по десять тварин у кожній): перша – інтактні (контроль); тварини другої групи як єдине джерело пиття отримували 15%-ий розчин етанолу упродовж 30 днів; третя – інтактні тварини за умов інтервального гіпоксичного тренування; четверта – щурі, у яких ІГТ застосовано на початку 30-денної алкоголізації. У процесі експерименту контролювали об'єм спожитого етанолу. ІГТ проводили у барокамері в наступному режимі: п'ятиразовий

«підйом» на «висоту» 6000 м по 10 хв, перерви між експозиціями гіпоксії – 15 хв, тривалість тренувань – 10 днів, швидкість «підйому» – 20 м/с. З метою вивчення впливу хронічного вживання етанолу та дії ІГТ на стан антиоксидантної системи визначали активність супероксиддисмутази (СОД) [3], каталази [1], глутатіонпероксидази [5], загальну антиоксидантну активність (І<sub>АОА</sub>) [4], а також вміст β-ліпопротеїнів (β-ЛП) [1]. Паралельно проводили визначення одного з проміжних продуктів перекисного окислення ліпідів – малонового діальдегіду [6] та вміст дієнових кон'югатів (ДК) [1]. За інтенсивністю реакцій ПОЛ робили висновок про функціональну повноцінність ліпідних структур, яка є показником стаціонарних біохімічних перетворень у клітині та в організмі в цілому. Матеріалами досліджень були гомогенати тканин мозку та кров. Результати досліджень опрацьовували статистично з використанням критерію t Стьюдента.

**Результати та їх обговорення.** Установлено, що у адаптованих до ІГТ тварин алкогольна інтоксикація супроводжується достовірним зниженням малонового діальдегіду в крові в порівнянні з інтактними тваринами та щурами з хронічним впливом етанолу відповідно на 51 % та 47 % (рис. 1). Слід відмітити, що також спостерігалось зменшення концентрації МДА на 41 % відносно щурів з ІГТ. Вміст дієнових кон'югатів у крові зростає на 25 % порівняно з алкоголізованими тваринами, однак залишається нижчим відносно контролю та тварин з дією ІГТ на 29 % і 20 % відповідно. Вміст β-ЛП вірогідно не відрізнявся від контрольних значень, а ступінь окиснювальності (МДА/β-ЛП) менший на 21 % від контролю та 35 % від групи тварин, які були піддані ІГТ. Зафіксовано збільшення на 72,2 % активності супероксиддисмутази відносно щурів, що споживали етанол як єдине джерело пиття, у яких вона становила  $243,73 \pm 68,17$  од.акт/мл·хв. Спостерігали такі ж зміни активності

глутатіонпероксидази, яка перевищувала у 2 рази аналогічний показник у алкоголізованих тварин. За цих умов виявлено тенденцію до наростання I<sub>АОА</sub> та активності каталази відносно щурів, які тривалий час отримували етанол. Дослідження авторів повідомляє, що інтервальна гіпобарична гіпоксія підвищує регуляцію транскрипційного фактора NRF2, що опосередковує окислювальний стрес і контролює експресію антиоксидантних ферментів. Також інтервальна гіпобарична гіпоксія може посилювати антиоксидантну здатність мозку щурів і захищати клітини нейронів від оксидативного пошкодження [11].

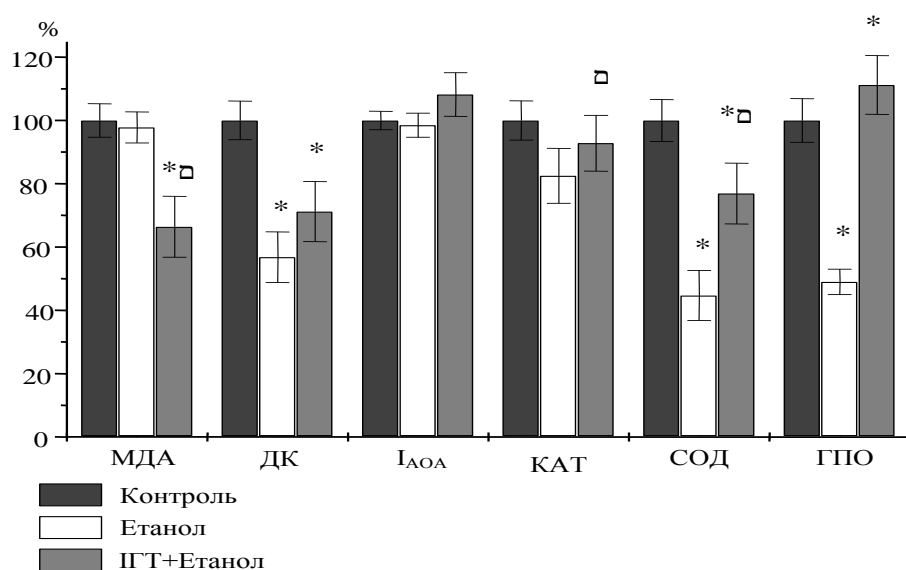


Рис 1. Вплив інтервального гіпоксичного тренування на пероксидні та антиоксидантні процеси у крові алкоголізованих щурів.

Примітка: \* – вірогідність ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем, □ – вірогідність ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою тварин, що споживали етанол

Застосування гіпокситерапії на початку алкогольної інтоксикації супроводжувалося зменшенням малонового діальдегіду на 27 % у гомогенатах мозку в порівнянні з алкоголізованими тваринами, але відносно тварин за умов ІГТ концентрація ТБК-активних продуктів зростала на 10 % (рис. 2). Рівень ДК вірогідно знижувався відносно тварин з хронічним впливом етанолу і зростав на 44,5 % відносно тварин з ІГТ. За даних умов зафіксовано вірогідне зростання I<sub>АОА</sub>, що перевищує цей показник у алкоголізованих і контрольних тварин на 44 % і 14 %, відповідно, і невірогідно зменшується відносно щурів з інтервальною гіпоксією. При визначенні активності основних ферментів антиоксидантного захисту встановлено зниження активності СОД та ГПО відносно контролю на 24 %, 32 %, відповідно. Відмічено зменшення каталази у 2,8 рази відносно контролю та на 32 % відносно алкоголізованих тварин. Спостерігається тенденція до зниження активності досліджуваних

антиоксидантних ферментів (КАТ, СОД, ГПО) відносно тварин за умов хронічного впливу етанолу. Така ж картина спостерігається при порівнянні активності КАТ і СОД тварин з дією ІГТ та щурів з застосуванням на початку алкоголізації ІГТ. Єдине, що за цих умов активність глутатіонпероксидази зростає на 17 % відносно тварин з ІГТ. Значна чутливість мозку до пероксидних процесів може бути зумовлена, ймовірно, високим споживанням кисню, великою кількістю субстратів, які легко підлягають окисненню (поліненасичені жирні кислоти, біогенні аміни), низькою активністю деяких антиоксидантних ферментів, особливо, каталази.

Виявлене нами збільшення вмісту ДК та МДА в гомогенатах мозку щурів з хронічним впливом етанолу спричинене підвищенням рівня активних метаболітів кисню (рис. 2). Клітинам мозку властива висока чутливість до пероксидних процесів, яка може бути зумовлена нижчою, порівняно з іншими органами, антиоксидантною активністю, високим вмістом субстратів, які легко піддаються окисленню (поліненасичені жирні кислоти, біогенні аміни та ін.), високим споживанням кисню [8].

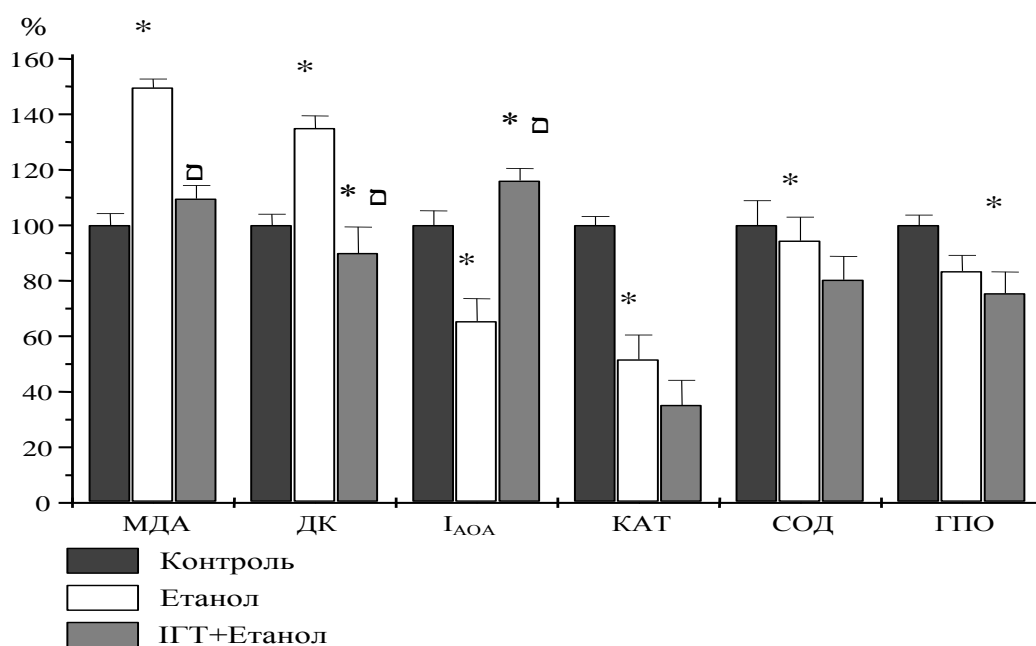


Рис. 2 Вплив інтервального гіпоксичного тренування на пероксидні та антиоксидантні процеси у мозку алкоголізованих щурів.

Примітка: \* – вірогідність ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем, □ – вірогідність ( $p < 0,05$ ) порівняно з групою тварин, що споживали етанол

**Висновки.** Таким чином, наведені дані вказують на перебіг у крові та тканинах мозку адаптивних реакцій із залученням як ензиматичних, так і неензиматичних систем антиоксидантного захисту, але всупереч активації окремих ланцюгів антиоксидантної системи, вільнорадикальні процеси переважали у тканині мозку. Отримані дані свідчать про те, що сеанси короткотривалих гіпоксичних впливів на початку хронічного споживання етилового

спирту, забезпечують зростання потужності антиоксидантного захисту цих тварин відносно алкоголізованих.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике. Минск: Беларусь, 2000. 458 с.
2. Козак Л. П. Особливості етанольної інтоксикації тварин при застосуванні інтервального гіпоксичного тренування на початку споживання алкоголю. *Medical Science of Ukraine*. 2021. Т. 17, № 2. С. 33-39.
3. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. Простой и чувствительный метод определения активности СОД, основанный на реакции окисления кверцетина. *Вопросы медицинской химии*. 1990. № 2. С. 88-91.
4. Мартынюк В.Б., Ковальчук С.Н., Тимочко М.Ф. Индекс антиоксидантной активности биологического материала. *Лабораторное дело*. 1991. № 3. С. 19-22.
5. Моин В.М. Простой и специфический метод определения активности глутатионпероксидазы в эритроцитах. *Лабораторное дело*. 1986. № 6. С. 724-727.
6. Тимирбулатов Р.А., Селезнев Е.И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение. *Лабораторное дело*. 1981. № 4. С. 209-211.
7. Тимочко М.Ф., Алексевич Я.И., Бобков Ю.Г. Особенности кислородного баланса в экстремальных условиях. *Hypoxia Med. J*. 1996. № 3. С. 8–12.
8. Manzo-Aralos S., Soavedra-Molina A. Cellular and mitochondrial effects of alcohol consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2010. № 7. P. 4281-4304.
9. Morton J.P., Cable N.T. The effects of intermittent hypoxic training on aerobic and anaerobic performance. *Ergonomics*. 2005. V. 48 (11-14). P. 1535-1546.
10. Serebrovska T.V., Serebrovska Z.O., Egorov E. Fitness and therapeutic potential of intermittent hypoxia training: a matter of dose. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2016. № 62(3). P. 78-91.
11. Sethy N.K., Singh M., Kumar R., Ilavazhagan G., Bhargava K. Upregulation of transcription factor NRF2-mediated oxidative stress response pathway in rat brain under short-term chronic hypobaric hypoxia, *Funct. Integr. Genomics*. 2011. № 11(1). P. 119-137.

### REFERENCES

1. Kamyshnikov VS. *Handbook of clinical and biochemical laboratory diagnostics*. Minsk, Belarus; 2000. 458 p.
2. Козак ЛП. Peculiarities of ethanol intoxication of animals at application of intermittent hypoxic training at the beginning of alcohol consumption. *Medical Science of Ukraine*. 2021; 17(2): 33-39. DOI: <https://doi.org/10.32345/2664-4738.2.2021>

3. Kostuk VA, Potapovych AI, Kovaleva JV. A simple and sensitive method for determining the activity of superoxide dismutase, based on the oxidation reaction of quercetin. *Voprosy medycynskoyi khimiyi*. 1990; 2:88-91.
4. Martyniuk VB, Kovalchuk SN, Tymochko MF. The index of antioxidant activity of biological material. *Laboratornoe delo*. 1991; 3:19-22.
5. Moin VM. A simple and specific method for determining the activity of glutathione peroxidase in erythrocytes. *Laboratornoe delo*. 1986;6:724-727.
6. Tymirbulatov RA, Seleznev EI. The method of increasing the intensity of free radical oxidation of lipid-containing blood components and its diagnostic value. *Laboratornoe delo*. 1981;4:209-211.
7. Tymochko MF, Alekseyevych YaI, Bobkov YuH. Features of oxygen balance in extreme conditions. *Hypoxia Med. J.* 1996;3:8–12.
8. Serebrovska TV, Serebrovska ZO, Egorov E. Fitness and therapeutic potential of intermittent hypoxia training: a matter of dose. *Fiziologichnyi zhurnal*. 2016;62(3):78-91. DOI: <https://doi.org/10.15407/fz62.03.078>
9. Manzo-Aralos S, Soavedra-Molina A. Cellular and mitochondrial effects of alcohol consumption. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2010;7:4281-4304. DOI:doi: [10.3390/ijerph7124281](https://doi.org/10.3390/ijerph7124281)
10. Morton JP, Cable NT. The effects of intermittent hypoxic training on aerobic and anaerobic performance. *Ergonomics*. (2005;48(11-14):1535-1546. DOI: <https://doi.org/10.1080/00140130500100959>
11. Sethy NK., Singh M, Kumar R, Ilavazhagan G, Bhargava K. Upregulation of transcription factor NRF2-mediated oxidative stress response pathway in rat brain under short-term chronic hypobaric hypoxia. *Funct. Integr. Genomics*. 2011;11(1):119-137. DOI: [10.1007/s10142-010-0195-y](https://doi.org/10.1007/s10142-010-0195-y)

## **OXIDATIVE STRESS IN THE BRAIN OF ALCOHOLIZED RATS EXPOSED TO INTERMITTENT HYPOBARIC HYPOXIA**

Kozak L.P.

*Abstract. It is known that the rate of formation and the content of acetaldehyde in the brain increases due to the systematic intake of a significant amount of ethanol, which is the main cause of alcohol intoxication. It is important to determine the degree of activation of lipid peroxidation processes and the balance of its antioxidant defense systems while assessing the degree of metabolic disorders under the action of ethanol. The aim of this study was to evaluate the effect of intermittent hypoxic training applied at the beginning of 30-day alcoholization of rats on the peroxide processes and the state of the antioxidant system of blood and brain tissue. The obtained data indicate the course of adaptive reactions in the blood and brain with the involvement of both enzymatic and non-enzymatic systems of antioxidant protection, but despite the activation of certain parts of the*

*antioxidant system, free radical processes prevailed in brain tissue. It was found that sessions of short-term hypoxic effects at the beginning of chronic consumption of ethanol provide an increase in the antioxidant power of these animals relative to alcoholized ones.*

***Key words: ethanol, brain, intermittent hypoxia, oxidative stress, antioxidant protection.***

Козак Лілія Петрівна ORCID ID 0000-0003-3542-6848, +38 (032) 276-28-37,

kozak.l.p.lnmu@gmail.com