

АНОТАЦІЯ

Явушenko I.B. Роль транскрипційних чинників у патогенезі вільнорадикальних розладів у головному мозку при експериментальній черепно-мозковій травмі. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 «Медицина». – Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2021; Полтавський державний медичний університет МОЗ України, Полтава, 2021.

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і розв'язання наукової задачі, що полягає у з'ясуванні ролі транскрипційних чинників NF- κ B, AP-1 та Nrf2 у механізмах вільнорадикальних розладів у головному мозку та розвитку неврологічного дефіциту у ранньому періоді після відтворення експериментальної черепно-мозкової травми.

Експерименти виконані на 166 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г. Використовували експериментальні, біохімічні, функціональні, нейроетологічні та математико-статистичні методи дослідження.

Виявлено, що у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми у тканині великих півкуль головного мозку щурів виявляються ознаки окисно-нітрозативного стресу: збільшення порівняно з результатами хибнотравмованих тварин вироблення супероксидного аніон-радикала (на 3 добу посттравматичного періоду: мітохондріями – на 47.8%; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 44.5%; NADPH-оксидазою фагоцитів – на 69.3%, $p < 0.001$), підвищення активності індукцйбельної синтази оксиду азоту (через 3 доби – на 78.5%, $p < 0.05$, через 7 діб – на 88.0%, $p < 0.01$, через 14 діб – на 71.2%, $p < 0.01$) при зменшенні активності ферменту конкурентного (аргіназного) шляху метаболізму L-аргініну – орнітиндекарбоксилази (через 3 доби – на 26.8%, через 7 діб – на 32.7%, через 14 діб – на 18.7%, $p < 0.001$), зменшення

та порушення спряженості конститутивної ізоформи NO-синтази, зростання концентрації пероксинітриту (через 3 доби – на 31.8%, $p < 0.01$, через 7 діб – на 55.5%, $p < 0.001$, через 14 діб – на 32.9%, $p < 0.01$), що супроводжується розвитком декомпенсованого пероксидного окиснення ліпідів.

Після моделювання експериментальної черепно-мозкової травми виживаність щурів, розрахована за процедурою Каплана-Мейера, становила на 3-тю добу – 0.53 ± 0.09 ; на 7-му та 14-ту добу – 0.40 ± 0.09 . Протягом першого тижня посттравматичного періоду і більшості тварин виявляються ознаки неврологічного дефіциту: порушення м'язового тону, координації рухів і больової реакції, що супроводжується високими значеннями інтегрального показника неврологічного дефіциту (на 3-тю добу – 53.31 ± 2.47 бала, на 7-му добу – 51.33 ± 2.95 бала), порушенням локомоторної активності та психоемоційного стану щурів.

Розвиток окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми пов'язаний з активністю транскрипційних чинників NF- κ B та AP-1. Застосування їх інгібіторів (піролідиндитіокарбамату амонію, SR 11302) істотно зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 49.1 і 43.1% відповідно, $p < 0.001$; мікосомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 45.3 і 38.8% відповідно, $p < 0.001$) та активність індукбельної синтази оксиду азоту (на 53.9 і 42.7% відповідно, $p < 0.01$) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 44.5 і 37.7% відповідно, $p < 0.001$), покращує спряженість її конститутивної ізоформи, обмежує концентрацію пероксинітриту (на 31.1%, $p < 0.001$, та 20.3%, $p < 0.01$, відповідно), що супроводжується ослабленням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Транскрипційні фактори NF- κ B та AP-1 є важливими чинниками патогенезу неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Введення піролідиндитіокарбамату амонію та SR 11302 вірогідно

підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до 25.64 ± 2.06 бала (вдвічі) та до 31.50 ± 2.47 бала (на 38.6%) відповідно, покращенням поведінкових реакцій.

Активація транскрипційного чинника NRF2 є ефективним засобом пригнічення окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми. Застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 (диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату) суттєво зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 38.9 і 26.5% відповідно, $p < 0.001$; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 34.4 і 21.0% відповідно, $p < 0.001$) та активність індукційної синтази оксиду азоту (на 71.6%, $p < 0.001$, та 34.6%, $p < 0.02$, відповідно) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 38.3, $p < 0.001$, та 23.3%, $p < 0.02$, відповідно), що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу. При цьому диметилфумарат, на відміну від епігалокатехін-3-галату, виявляє здатність покращувати спряженність конститутивної ізоформи NO-синтази та обмежувати концентрацію пероксинітриту (на 37.3%, $p < 0.001$).

Індукція NRF2-асоційованої сигнальної системи є ефективним засобом обмеження неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Введення диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, суттєво обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до 27.08 ± 2.73 бала (на 47.2%) та

35.08±3.02 бала (на 31.7%). Застосування диметилфумарату та, у дещо меншій мірі, епігалокатехін-3-галату покращує протягом цього часу показники рухової та дослідницької активності, орієнтувальної реакції, зменшує рівень емоційної тривожності та страху.

Призначення кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після відтворення черепно-мозкової травми ознаки окисно-нітрозативного стресу, зменшує генерацію супероксидного аніон-радикала (мітохондріями – на 35.0%; мікросомальними монооксигеназами та NO-синтазою – на 30.2% $p < 0.001$) та активність індукцйбельної синтази оксиду азоту (на 45.3%, $p < 0.01$) при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази (на 25.3%, $p < 0.01$), покращує спряженність її конститутивної ізоформи (в 2.12 рази, $p < 0.001$), обмежує концентрацію пероксинітриту (на 19.5%, $p < 0.01$), що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Застосування кверцетину вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми, істотно обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду порушення м'язового тону, координації рухів та больової реакції, що супроводжується достовірним зменшенням інтегрального показника неврологічного дефіциту до 27.15±1.97 бала (на 47.1%), покращенням показників рухової та дослідницької активності, а також орієнтувальної реакції, але без істотного впливу на показник емоційної тривожності та страху (число актів грумінгу).

Наукова новизна одержаних результатів. Показано, що розвиток окисно-нітрозативного стресу в головному мозку щурів після моделювання черепно-мозкової травми пов'язаний з активністю транскрипційних чинників NF-κB та AP-1. Вперше виявлено, що застосування інгібіторів цих факторів (піролідиндитіокарбамату амонію, SR 11302) істотно зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду

генерацію супероксидного аніон-радикала та активність індукцибельної ізоформи синтази оксиду азоту при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, покращує спряженність конститутивного ізоферменту NO-синтази, обмежує концентрацію пероксинітриду, що супроводжується ослабленням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу.

Отримало подальший розвиток уявлення, що транскрипційні фактори NF- κ B та AP-1 є важливими чинниками патогенезу неврологічного дефіциту після відтворення черепно-мозкової травми. Вперше показано, що введення піролідиндитіокарбамату амонію та SR 11302 вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби, суттєво зменшує інтегральний показник неврологічного дефіциту, покращує поведінкові реакції тварин.

Вперше виявлено, що застосування індукторів транскрипційного чинника NRF2 (диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату) суттєво зменшує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу посттравматичного періоду генерацію супероксидного аніон-радикала та активність індукцибельної ізоформи NO-синтази при збільшенні активності орнітиндекарбоксилази, що супроводжується пригніченням пероксидного окиснення ліпідів та підвищенням антиоксидантного потенціалу. Вперше показано, що введення диметилфумарату та епігалокатехін-3-галату вірогідно підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів травматичної хвороби після моделювання черепно-мозкової травми, суттєво обмежує впродовж першого тижня посттравматичного періоду ознаки неврологічного дефіциту.

Дістало подальший розвиток уявлення, що призначення кверцетину істотно обмежує в тканині великих півкуль головного мозку щурів на 7 добу після відтворення черепно-мозкової травми ознаки окисно-нітрозативного стресу, підвищує виживаність щурів у динаміці періоду ранніх проявів

травматичної хвороби після моделювання ЧМТ, істотно обмежує ознаки неврологічного дефіциту.

Практичне значення одержаних результатів. Результати дослідження доводять, що оцінка показників окисно-нітрозативного стресу в тканині великих півкуль головного мозку лабораторних тварин може використовуватися в експериментальній медицині як чутливий метод оцінки тяжкості травматичної хвороби після нанесення ЧМТ.

Робота є експериментальним підтвердженням доцільності подальшого дослідження інгібіторів транскрипційних чинників NF-κB та AP-1, а також індукторів системи NRF2 / ARE як перспективних засобів патогенетичної терапії наслідків ЧМТ у людей.

Автором запропоновано «Спосіб експериментальної терапії окисно-нітрозативного стресу» (пат. 131230).

Ключові слова: черепно-мозкова травма, транскрипційні чинники NF-κB, AP-1 та Nrf2, окисно-нітрозативний стрес, головний мозок, виживаність, неврологічний дефіцит, поведінкові реакції, тести «Темно-світла камера» та «Відкрите поле».