

УДК 616.831. – 018 - 053

С. С. Ткачук  
А. А. Галагдина  
В. В. Білоокій

Буковинський державний медичний  
університет, м. Чернівці

## ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ПРОТЕО- І ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ ПІСЛЯ ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ

**Ключові слова:** слинні залози,  
цукровий діабет, каротидна  
ішемія-реперфузія, протеоліз,  
фібриноліз.

**Резюме.** Двобічна каротидна ішемія-реперфузія спричиняє довготривалі зміни протеолітичної активності в привушній та піднижньощелепній слинних залозах і фібринолітичної активності – в привушній залозі контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом. У привушній залозі зміни протеолітичної активності більш істотні у тварин із діабетом, у піднижньощелепній – у контрольних.

### Вступ

Цукровий діабет завдяки надзвичайній поширеності, значній кількості ускладнень, що призводять до інвалідизації та ранньої смертності хворих, залишається важливою медико-соціальною проблемою сьогодення [2], вивчення якої є актуальною задачею всіх галузей медицини, у тому числі – стоматології. Активно досліджуються механізми ушкодження при діабеті тканин пародонту, а слинні залози залишаються поза увагою науковців. Між тим, саме цукровий діабет є найбільш частою причиною метаболічного сіалоденіту. Крім того, практично недослідженим є стан слинних залоз при поєднанні цукрового діабету та недостатності кровообігу в басейні загальних сонних артерій.

Одним із найбільш сталих механізмів, які ініціює ішемія-реперфузія, є зміна активності систем протеолізу [1, 4, 5]. Наслідки активації протеолітичних механізмів неоднозначні. Їх гіперактивація може спричинити руйнівні ефекти в тканинах [9, 14], але помірна активність необхідна для деградації окисно-модифікованих білків [13], накопичення яких може стати причиною аутоімунних, онкологічних та інших патологій, протеолітичної активації багатьох ферментів, регуляторних пептидів тощо [1, 5].

Виявлені за умов поєднання цукрового діабету та ішемії-реперфузії зміни тканинного протеолізу й фібринолізу в мозку [3, 8], плазмі, внутрішніх органах [11, 12] дозволяють очікувати на подібні ефекти і в слинних залозах, у зв'язку з чим ми здійснили дане дослідження.

### Мета дослідження

Вивчити лізис низько-, високомолекулярних білків і колагену, сумарну, ферментативну та неферментативну фібринолітичну активність у тканинах привушної та підверхньощелепної слинних залоз щурів із цукровим діабетом, ускладненим двобічною каротидною ішемією-реперфузією.

### Матеріал і методи

Цукровий діабет відтворювали внутрішньочеревинним введенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг / кг маси) білим самцям щурів віком два міс [3, 11]. Через чотири міс у частини тварин моделювали двобічну каротидну ішемію-реперфузію шляхом кліпсування обох загальних сонних артерій протягом 20 хв. [6]. Для вивчення ранніх наслідків ішемії-реперфузії частину тварин виводили з експерименту через одну год. від початку реперфузії, а відстрочених – на 12 добу. Тканинну протео- та фібринолітичну активність досліджували в гомогенатах привушної та підверхньощелепної слинних залоз [7] із використанням реактивів Simko Ltd, Україна. Оперативні втручання та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) із дотриманням ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000).

Цифрові дані опрацьовано за допомогою пакета прикладних програм “Statistica (“Statsoft”, США). Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок.

Таблиця 1

Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на стан тканинного протеолізу в привушній та підверхньощелепній слинних залозах щурів із цукровим діабетом ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Група спостереження	Лізіс низько-молекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	Лізіс високо-молекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізіс колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Привушна залоза			
Контрольні	45,6±2,84	44,6±2,12	12,9±0,345
Ішемія-реперфузія	41,2±2,29	40,5±1,94	9,08±0,361 $p < 0,001$
Ішемія-реперфузія довготривала	43,6±1,01	48,0±0,611 $p_2 < 0,001$	14,6±0,389 $p < 0,01$ $p_2 < 0,001$
Діабет	41,7±1,55	46,3±0,819	12,7±1,18
Діабет та ішемія-реперфузія	37,4±1,60 $p_1 < 0,072$	41,9±0,743 $p_1 < 0,002$	13,2±0,679
Діабет та ішемія-реперфузія довготривала	44,6±2,52 $p_3 < 0,001$	50,5±1,50 $p_1 < 0,025$ $p_3 < 0,001$	15,5±0,468 $p_1 < 0,05$
Підверхньощелепна залоза			
Контрольні	52,4±1,40	56,7±2,91	14,8±0,669
Ішемія-реперфузія	50,1±1,37	51,5±1,08	11,3±0,548 $p < 0,001$
Ішемія-реперфузія довготривала	69,0±0,677 $p < 0,001$ $p_2 < 0,001$	70,6±1,31 $p < 0,001$ $p_2 < 0,001$	22,2±0,459 $p < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Діабет	57,7±2,90	60,1±2,62	20,3±0,787 $p < 0,001$
Діабет та ішемія-реперфузія	57,6±1,91	61,1±2,00	17,3±0,547 $p_1 < 0,01$
Діабет та ішемія-реперфузія довготривала	63,8±2,53 $p_1 < 0,001$	62,3±2,69	16,3±0,735 $p_1 < 0,005$

**Примітка.** Вірогідність різниці порівняно з:  $p$  – контролем;  $p_1$  – діабетом;  $p_2$  – ішемією-реперфузією короткотривалою в контрольних тварин;  $p_2$  – ішемією-реперфузією короткотривалою у тварин із діабетом

## Обговорення результатів дослідження

Дослідження показників протеолітичної активності показало, що в контрольних тварин ранні наслідки ішемії-реперфузії проявляються зниженням лізису колагену в обох досліджених залозах (табл. 1), а на 12-ту добу в привушній залозі зареєстровано підвищення лізису колагену, в підверхньощелепній – лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену.

Цукровий діабет активізує лізіс колагену в підверхньощелепній залозі та не впливає на досліджені показники в привушній. Наслідки ішемії-реперфузії (як ранні, так і відстрочені) у тварин із діабетом виявилися більш суттєвими в привушній залозі. Тут в ранні терміни спостереження знижується лізіс низько- та високомолекулярних білків, а на 12-ту добу – зростає лізіс високомолекулярних білків та колагену. У підверхньощелепній залозі в ранні терміни зміни обмежені зниженням лізису колагену, у пізні – зростанням лізису низькомолекулярних білків та зниженням

лізису колагену. Отже, в обох досліджених залозах наслідки ішемії-реперфузії у тварин без порушення вуглеводного обміну та на тлі цукрового діабету є довготривалими, хоча характер змін та їх динаміка відрізняються. Крім того, слід зазначити, що в привушній слинній залозі як ранні, так і відстрочені наслідки ішемії-реперфузії кількісно переважають у тварин із цукровим діабетом. У підверхньощелепній – ранні зміни в обох групах односпрямовані та стосуються одного й того ж показника, а пізні – кількісно переважають у тварин контрольної групи. Таким чином, за показниками протеолітичної активності реакція досліджених слинних залоз на ішемію-реперфузію відрізняється.

Що стосується активності тканинного фібринолізу, то в контрольних щурів по закінченні одногодинної реперфузії в привушній залозі зростає сумарний, ферментативний, а в підверхньощелепній – сумарний та неферментативний фібриноліз, тобто, структура фібринолітичної актив-

Таблиця 2

Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на стан тканинного фібринолізу в привушній та підверхньощелепній слинних залозах щурів із цукровим діабетом ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )

Група спостереження	Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за год)
Привушна залоза			
Контрольні	22,2±1,26	12,2±0,521	10,0±0,777
Ішемія-реперфузія	26,4±1,41 $p < 0,05$	13,6±0,776	12,9±0,708 $p < 0,02$
Ішемія-реперфузія довготривала	26,8±1,32 $p < 0,05$	13,5±0,782	13,2±1,14 $p < 0,04$
Діабет	24,8±1,94	11,6±0,450	13,3±1,91
Діабет та ішемія-реперфузія	20,7±0,933 $p < 0,076$	10,8±0,399	9,96±0,555
Діабет та ішемія-реперфузія довготривала	13,7±0,528 $p < 0,001$ $p_3 < 0,001$	7,39±0,346 $p < 0,001$ $p_3 < 0,001$	6,33±0,414 $p < 0,001$ $p_3 < 0,002$
Підверхньощелепна залоза			
Контрольні	23,8±1,43	11,4±0,557	12,3±1,03
Ішемія-реперфузія	28,3±0,919 $p < 0,02$	15,2±0,501 $p < 0,001$	13,1±0,710
Ішемія-реперфузія довготривала	31,9±1,05 $p < 0,001$ $p_2 < 0,025$	16,6±0,706 $p < 0,001$	15,3±0,430 $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Діабет	26,6±0,819	14,0±0,254 $p < 0,001$	12,6±0,655
Діабет та ішемія-реперфузія	23,3±1,00 $p < 0,02$	12,5±0,808	10,8±0,263 $p < 0,02$
Діабет та ішемія-реперфузія довготривала	29,3±1,39 $p_3 < 0,001$	15,2±0,595 $p_3 < 0,05$	14,2±0,905 $p_3 < 0,003$

**Примітка.** Вірогідність різниці порівняно з:  $p$  – контролем;  $p_1$  – діабетом;  $p_2$  – ішемією-реперфузією короткотривалою в контрольних тварин;  $p_3$  – ішемією-реперфузією короткотривалою у тварин із діабетом

ності в даних залозах за цих умов відрізняється (табл. 2). На 12-ту добу в привушній залозі залишаються підвищеними ті ж показники, практично на тому ж кількісному рівні, а в підверхньощелепній, крім змін, що мали місце в ранньому терміні, зростає активність ферментативного фібринолізу. Ступінь зростання сумарної та неферментативної фібринолітичної активності в підверхньощелепній залозі на 12-ту добу достовірно вищий, ніж за умов одногодинної реперфузії.

У тварин із цукровим діабетом виявлено достовірне зростання неферментативної фібринолітичної активності в підверхньощелепній залозі. Ішемія-реперфузія у тварин даної групи в ранні терміни знижує сумарну фібринолітичну активність у привушній та сумарну і ферментативну – у підверхньощелепній залозах.

Цікаво, що зміни фібринолітичної активності на 12-ту добу в привушній залозі не лише утримуються, але й стають більш вагомими – тут от-

римано зниження всіх показників фібринолітичної активності, а в підверхньощелепній – достовірних змін у цей період не виявлено, хоча тенденція до зростання всіх показників наявна, внаслідок чого виникає достовірна різниця між усіма показниками фібринолітичної активності в різні терміни.

Отримані результати свідчать, що двобічна каротидна ішемія-реперфузія спричиняє довготривалі зміни протеолітичної активності в привушній та підверхньощелепній слинних залозах і фібринолітичної активності – в привушній залозі контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом. У привушній залозі ці зміни більш вагомими у тварин із діабетом, а в підщелепній – у контрольних, що свідчить про їх специфічну відповідь на ідентичні чинники.

## Висновки

1. У привушній та підверхньощелепній слинних залозах тварин без порушення вуглеводного

обміну та на тлі цукрового діабету двобічна каротидна ішемія-реперфузія спричиняє довготривалі зміни протеолітичної активності.

2. У привушній слинній залозі ранні й відстрочені наслідки ішемії-реперфузії кількісно переважають у тварин із цукровим діабетом. У підверхньощелепній – ранні зміни в обох групах односпрямовані та стосуються одного й того ж показника, а пізні – кількісно переважають у тварин контрольної групи.

3. У щурів контрольної групи двобічна каротидна ішемія-реперфузія посилює фібринолітичну активність як в ранні терміни, так і на 12-ту добу постішемичного періоду в обох досліджених залозах.

4. У тварин із цукровим діабетом в ранні терміни спостереження в обох досліджених слинних залозах знижені окремі показники фібринолітичної активності. На 12-ту добу спостереження в привушній залозі знижені всі показники фібринолітичної активності, у підверхньощелепній усі показники повертаються до контрольного рівня.

#### Перспективи подальших досліджень

Отримані результати вказують на перспективність дослідження вмісту в слинних залозах продуктів окиснювальної модифікації білків і проведення кореляційного аналізу між вмістом останніх та активністю протеолізу.

**Література.** 1. Веремеєнко К.Б. Белковые ингибиторы плазмы крови - регуляторы активности протеолитических ферментов // К.Б. Веремеєнко Системная энзимотерапия. Теоретические основы, опыт клинического применения. - Киев: МОРИОН, 2000. - С. 21-53. 2. Зайчик А.М. Молекулярно-биологические основы нарушений гуморальной регуляции при сахарном диабете / А.М. Зайчик // Мед. акад. журн. - 2008. - Т. 8, № 1. - С. 127-138. 3. Леньков О.М. Стан тканинного протеолізу та фібринолізу в корі головного мозку і гіпокампі за умов двобічної каротидної ішемії-реперфузії при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М. Леньков // Буков. мед. вісник. - 2009. - №3. - С. 115-118. 4. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии // Патол. физиол. и эксперим. терапия. - 2004. - №2. - С. 2-11. 5. Монастирський В.А. Коагулопатичні аспекти патогенезу загальнопатологічних процесів / В.А. Монастирський // Журн. АМН України. - 2002. - Т.8, №2. - С. 238-258. 6. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н. Скибо // Патология. - 2004. - Т.1, №1. - С. 22-30. 7. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / В.М. Магальяс, А.О. Міхєєв, Ю.Є. Роговий [та ін.] - Чернівці, 2001. - 42 с. 8. Тимофійчук І.Р. Вікові особливості впливу емоксипіну на постішемичні зміни фібрино- та протеолітичної активності

в структурах проміжного мозку щурів / І.Р. Тимофійчук // Буков. мед. вісник. - 2004. - Т.8, № 3-4. - С. 280-284. 9. Alexandrova A. Proteasome activity in experimental diabetes / A. Alexandrova, L. Petrov, M. Kirkova // Central Europ. J. Biol. - 2006. - Vol.1, №2. - P.289-298. 10. Brentjens R. Islet cell tumors of the pancreas: the medical oncologist's perspective / R. Brentjens, L. Saltz // Surg. Clin. North. Am. - 2001. - Vol.81, №3. - P.527-542. 11. Diabetes mellitus induces decreased plasma fibrinolytic activity and increased tissue synthesis of plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) in the rat / A. Pandolfi, A. Giaccari, R. Polishuck [et al] // Fibrinolysis and Proteolysis. - 2000. - Vol.14, №4. - P.261-267. 12. Hyperglycemia Stimulates Coagulation, Whereas Hyperinsulinemia Impairs Fibrinolysis in Healthy Humans / M.E. Stegenga, N.S. Crabben, M. Levi [et al.] // Diabetes. - 2006. - Vol.55, №6. - P.1807-1812. 13. Lecker S.H. Protein Degradation by the Ubiquitin-Proteasome Pathway in Normal and Disease States / S.H. Lecker, A.L. Goldberg, W.E. Mitch // J. Am. Soc. Nephrol. - 2006. - № 17. - P.1807-1819. 14. Tanaka K. The proteasome: overview of structure and functions / K. Tahaka // Proc. Jpn. Acad. Ser. B. Phys. Biol. Sci. - 2009. - Vol.85, №1. - P.12-36.

#### ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРОТЕО- И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗАХ КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ ПОСЛЕ ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

С. С. Ткачук, А. А. Галагдина, В. В. Білокий

**Резюме.** Двусторонняя каротидная ишемия-реперфузия приводит к долгосрочным изменениям протеолитической активности в околоушной и поднижнечелюстной слюнных железах и фибринолитической активности – в околоушной железе контрольных крыс и животных с сахарным диабетом. В околоушной железе изменения протеолитической активности более существенны у животных с диабетом, в поднижнечелюстной – у контрольных.

**Ключевые слова:** слюнные железы, сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, протеолиз, фибринолиз.

#### DYNAMICS OF THE FIBRINOLYSIS AND PROTEOLYSIS INDICES IN THE SALIVARY GLANDS IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS AFTER BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION

S. S. Tkachuk, A. A. Galagдина, V. V. Bilookyi

**Abstract.** Bilateral carotid ischemia-reperfusion causes long-term changes of proteolytic activity in the parotid and submandibular salivary glands and fibrinolytic activity - in the parotid gland of control rats and rats with diabetes mellitus. In the parotid gland changes in proteolytic activity are more important in animals with diabetes mellitus, in submandibular gland - in control rats.

**Key words:** salivary glands, diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, liver, fibrinolysis, proteolysis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2011. - Vol.10, №1 (35). - P.156-159.

Надійшла до редакції 25.02.2011

Рецензент – проф. В. Ф. Мислицький

© С. С. Ткачук, А. А. Галагдина, В. В. Білокий, 2011