

УДК 616.831.– 018–053

*С. С. Ткачук
В. П. Гавалешко*

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

МОДИФІКАЦІЯ ФІБРИНО- ТА ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В НИРКАХ ЩУРІВ ПОЄДНАНИМ ВПЛИВОМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ ТА ІШЕМІЧНО- РЕПЕРFUZІЙНОГО ПОШКОДЖЕННЯ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Ключові слова: цукровий діабет,
ішемія-реперфузія головного мозку,
фібриноліз, протеоліз, нирки.

Резюме. Досліджено ранні та відстрочені ефекти ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку на показники фібрино- і протеолітичної активності в кірковій і мозковій речовині нирок щурів з експериментальним цукровим діабетом. Показано, що в обидва терміни спостереження цукровий діабет суттєво модифікує впливи ішемії-реперфузії головного мозку на фібрино- і протеолітичну активність в обох досліджених відділах нирок.

Вступ

Однією з головних причин інвалідизації й смертності хворих на цукровий діабет є таке ускладнення, як нефропатія [6,10]. Частота її виникнення коливається від 40 до 50 % у хворих на інсулінозалежний діабет і від 15 до 30 % – у хворих на інсулінонезалежний [2]. У патогенезі цього ускладнення вагому роль відіграють хронічна гіперглікемія та артеріальна гіпертензія, тобто, чинники, які лежать в основі й іншого тяжкого ускладнення цукрового діабету – ішемічних інсультів [1, 10]. Ймовірно, що комбінація двох останніх патологічних станів може ускладнювати перебіг нефропатії. Однак аналіз стану літератури з даної проблеми не дозволив нам знайти чіткі біохімічні критерії стану нирок за такої поєднаної патології.

Відомо, що важливими біохімічними маркерами, які дозволяють судити про реакцію різних тканин на хвороботворні чинники, є стан активності компонентів протеолітичної системи, а також активність і структура фібринолізу [3, 6], які, як відомо, контролюються ендокринною системою [9] і зазнають змін при цукровому діабеті [6,7,10].

Мета дослідження

Вивчити вплив ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку в щурів із цукровим діабетом на показники фібрино- та протеолітичної активності в кірковій і мозковій речовині нирок.

Матеріал і методи

Цукровий діабет моделювали в білих нелінійних лабораторних самців щурів віком два місяці

уведенням стрептозотоцину (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [8]. Через чотири місяці в частини щурів контрольної та дослідної (з наявністю діабету) груп здійснювали двобічне кліпсування загальних сонних артерій протягом 20 хв із наступною реперфузією [4]. Для вивчення ранніх та відстрочених змін досліджуваних показників нирки забирали через одну год та 12 діб від початку реперфузії. Рівень глікемії визначали глюкозооксидазним методом. Контрольні визначення проводили у відповідних тканинах нирок несправжньооперованих щурів без порушення вуглеводного обміну та з цукровим діабетом. У гомогенатах кіркової та мозкової речовини нирок визначали показники тканинної фібрино- та протеолітичної активності [5] за допомогою реактивів Simko Ltd, Україна.

Евтаназію тварин виконували декапітацією під наркозом.

Результати досліджень опрацьовано за допомогою пакета прикладних програм “Statistica (“Statsoft”, США). За тестом Шапіро-Уїлка групи порівняння мали нормальний розподіл. Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення.

Обговорення результатів дослідження

У кірковій речовині нирок контрольних щурів у ранньому періоді ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку знизилася сумарна, неферментативна та ферментативна фібринолі-

Таблиця 1

**Вплив ішемії-реперфузії головного мозку на стан тканинного фібринолізу
в нирках щурів із цукровим діабетом (M±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)
Кіркова зона			
Контроль	23,1±0,295	11,0±0,245	12,1±0,359
Ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	17,4±0,496*	8,56±0,325*	8,81±0,287*
Ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	24,6±0,332*	12,0±0,218*	12,5±0,261
Діабет	22,5±0,625	10,7±0,452	11,8±0,550
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	24,4±0,457 [^]	13,2±0,473 [^]	11,2±0,671
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	22,1±0,723	10,2±0,383	11,8±0,502
Мозкова зона			
Контроль	15,5±0,520	7,83±0,195	7,64±0,373
Ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	13,5±0,398*	6,94±0,282*	6,58±0,301*
Ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	16,9±0,334*	8,30±0,267	8,60±0,124*
Діабет	15,9±0,410	7,74±0,229	8,22±0,192
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	16,4±0,528	8,07±0,271	8,34±0,269
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	19,0±0,890 [^]	9,49±0,307 [^]	9,53±0,229 [^]

Примітка. Достовірність змін порівняно з показниками у тварин: * – контрольної групи; [^] – з цукровим діабетом

тична активність в 1,3, 1,3, 1,4 раза відповідно (табл.1). Змінилася структура тканинного фібринолізу – якщо за умов контролю переважала ферментативна фібринолітична активність, то після ішемії-реперфузії головного мозку доля складових урівноважилася.

Цукровий діабет не мав достовірного впливу на показники фібринолітичної активності в даному відділі нирок, хоча при аналізі структури фібринолітичної активності, на відміну від контролю, у тварин даної групи не спостерігалось переважання ферментативної складової. Ішемія-реперфузія мозку у тварин із діабетом, на противагу контрольним, підвищила сумарну та неферментативну фібринолітичну активність в 1,1 та 1,2 раза відповідно.

На 12 день експерименту виявлено посилення в 1,1 раза активності сумарного фібринолізу в контрольних щурів та відсутність будь-якої ре-

акції даних показників у тварин із діабетом.

У мозковій речовині нирок тварин контрольної групи виявлено зниження всіх параметрів фібринолітичної активності після односторонньої реперфузії в 1,1 раза та посилення сумарного і ферментативного фібринолізу в 1,1 раза на 12 добу після ішемічно-реперфузійного втручання. Діабет у цій зоні нирок також не впливав на жоден із параметрів, як і короткотривале ішемічно-реперфузійне пошкодження мозку у тварин даної групи. Однак на 12 день постішемічно-реперфузійного періоду в щурів із діабетом має місце зростання сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в 1,2 раза в усіх випадках. Унаслідок такої рівномірної реакції всіх складових фібринолітичної активності її структура залишилася незмінною.

Отримані результати демонструють різноспрямовану реакцію кіркової і мозкової речовини ни-

Вплив ішемії-реперфузії головного мозку на стан тканинного протеолізу в нирках щурів із цукровим діабетом ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Лізис низько-молекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	Лізис високо-молекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Кіркова зона			
Контроль	75,3±2,71	62,9±1,62	22,8±1,10
Ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	58,7±0,961*	49,9±1,04*	17,1±0,489*
Ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	61,1±11,9*	53,5±9,6*	23,4±1,17
Діабет	61,6±1,79*	51,4±1,62*	23,2±0,929
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	65,4±1,82	56,6±2,02 [^]	20,7±0,932 [^]
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	60,6±1,10	52,6±1,60	20,5±1,48
Мозкова зона			
Контрольні	39,9±0,440	34,7±0,728	11,9±0,319
Ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	37,2±0,616*	31,3±0,777*	9,59±0,355*
Ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	40,7±0,390	35,2±0,745	13,4±0,312*
Діабет	41,7±0,520*	37,4±0,725 *	13,3±0,494*
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (20 хв/ 1 год)	40,6±0,813	34,3±0,531 [^]	12,4±0,458
Діабет та ішемія-реперфузія головного мозку (12 діб)	42,5±0,667	35,5±0,538	12,8±0,344

Примітка. Достовірність змін порівняно з показниками у тварин: * – контрольної групи; [^] – з цукровим діабетом

рок на ішемічно-реперфузійне пошкодження мозку у тварин із цукровим діабетом: у кірковій зоні нирок ішемія-реперфузія мозку справляє вплив на фібринолітичну активність лише в ранньому ішемічно-реперфузійному періоді, у той час як у мозковій зоні ранні зміни відсутні, але мають місце відстрочені.

У контрольних щурів короткотривала ішемія-реперфузія головного мозку спричинила досить рівномірне зниження лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену – в 1,3 раза – в кірковій речовині та в 1,1, 1,1, 1,2 раза відповідно – у мозковій (табл. 2). Однак на 12 добу проявляються якісні відмінності реагування досліджених відділів нирки – у кірковій речовині лізис низько- та високомолекулярних білків залишається зниженим стосовно контролю (в 1,2 раза), а лізис азоколу повертається до рівня показників у контрольних щурів.

У мозковій речовині нормалізується лізис низько- та високомолекулярних білків, а лізис колагену стає навіть вищим, ніж у контрольних щурів.

По-різному ці відділи нирки реагують і на цукровий діабет. Відмінності проявляються в тому, що в кірковій речовині стосовно контролю знижується лізис низько- та високомолекулярних білків в 1,2 раза, а в мозковій – зростає лізис низько-, високомолекулярних білків та азоколу в 1,1 раза. Привертають увагу деякі закономірності. По-перше, як зростання, так і зниження всіх досліджених показників є досить рівномірним, тобто, явної переваги інтенсивності лізису різних білків немає. По-друге, принаймні в кірковій речовині нирок зміни протеолітичної активності в пізньому ішемічно-реперфузійному періоді та при діабеті практично не відрізняються, що дозволяє думати про неспецифічність такої відповіді.

Викликає зацікавленість відсутність у тварин із діабетом як ранніх, так і відстрочених змін активності досліджених протеолітичних систем на ішемію-реперфузію головного мозку в обох досліджених відділах нирки, за винятком деякого зниження лізису високомолекулярних білків у моз-

ковій речовині нирок через одну год після реперфузії, що свідчить про ослаблення в них, за даними показниками, реакції нирок на ішемію-реперфузію головного мозку.

Висновки

1. У ранньому періоді ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку в кірковій та мозковій речовині нирок контрольних щурів знижуються всі складові фібринолітичної активності, а в пізньому (12 діб) – зростає сумарний фібриноліз у кірковій, сумарний та ферментативний – у мозковій.

2. Цукровий діабет не впливає на досліджені показники фібринолітичної активності кіркової та мозкової речовини нирок. У ранньому ішемічно-реперфузійному періоді у тварин цієї групи посилюється сумарна та неферментативна фібринолітична активність у кірковій речовині нирок при відсутності будь-яких змін – у мозковій, а на 12-й день експерименту не виявлено змін у кірковій речовині при достовірному зростанні всіх складових фібринолітичної активності – у мозковій.

3. У контрольних тварин короткотривала ішемія-реперфузія головного мозку знижує лізис низько-, високомолекулярних білків і колагену в кірковій та мозковій речовині нирок. На 12 добу спостереження в кірковій речовині залишається зниженим лізис низько- та високомолекулярних білків, а в мозковій – зростає лізис азоколу.

4. Чотиримісячний цукровий діабет має протилежний вплив на показники протеолітичної активності в кірковій та мозковій речовині нирок: у першій – знижує їх, а в останній – підвищує. Ішемія-реперфузія головного мозку у тварин даної групи в обидва терміни спостереження не впливає на інтенсивність протеолізу.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення активності ліпопероксидації в тканинах нирок щурів за умов поєднання цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку.

Література. 1. *Интерлейкины и хемокины при остром ишемическом инсульте, отягощенном и не отягощенном диабетом* / А.С.Бояджян, Э.А.Аракуелова, В.А.Айвазян, Л.А.Манукян // Цитокины и воспаление. – 2008. –Т. 7, № 1. – С. 40-43. 2. *Маньковский Б.Н.* Влияние перипроцесса на содержание эндотелиальных факторов в крови больных сахарным диабетом 1 типа, осложненным нефропатией / Б.Н.Маньковский, А.Г.Пхакадзе // Серце і судини. – 2008. - №1. – С. 60-65. 3. *Монастирський В.А.* Коагулопатичні аспекти патогенезу загальнопатологічних процесів / В.А.-Монастирський //Журн. акад. мед. наук України. – 2002.– Т.8, №2.– С.238-258. 4. *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. 5. *Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії* /В.М. Магалаєс, А.О. Міхєєв, Ю.С. Роговий [та ін.]-Чернівці, 2001.- 42 с. 6. *Експресія матричних металлопротеиназ-2 и -9 в почках крыс с диабетом.* 7. *Dong Fein-gin, Li Hong, Cai Wei-min //Zhejiang dahue xuebao. Yixue ban=J. //Zhejiang Univ. Med.Sci. – 2004. Vol. 33, N3. – P245-249.* Zimmert P., Alberti K.G.G.M., Shaw J. Global and social implications of the diabetic epidemic // Nature. – 2001. Vol. 414. – P. 782-787. 8. *Ban C.R.* Fibrosis in diabetes complications: Pathogenic mechanisms and circulating and urinary markers / C.R.Ban, S.M.Twigg // Vascular Health and Risk management. – 2008. –Vol.4, №3. – P.575-596. 9. *Erythromycin ameliorates renal injury via anti-inflammatory effects in experimental diabetic rats* /Tone A., Shikata K., Sasaki M., Ohga S. // Diabetologia. -2005. – Vol.48, №11. – P. 2402-2411. 10. *Glomerular structural changes in pregnant, diabetic, and pregnant-diabetic rats* / Rasch R., Lauszus F., Skovhus T. J., Flyvbjerg A. //APMIS: Acta pathol., microbiol. at immunol. Scand. - 2005. –Vol. 113, № 7-8. – P. 465-472. 11. *The effect of specific hormones on fibrinolysis* Houlihan C.M., Knuppel R.A., Vintzileos A.M. [et al.] //Amer.J. Obstetrics and Gynecol. – 1996. –V.175, №1. – P. 168-172.

МОДИФИКАЦИЯ ФИБРИНО- И ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ПОЧКАХ КРЫС СОЧЕТАННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА И ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРФУЗИОННОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ГОЛОВНОГО МОЗГА

С. С. Ткачук, В. П. Гавалешко

Резюме. Исследованы ранние и отсроченные эффекты ишемически-реперфузионного повреждения головного мозга на показатели фибрино- и протеолитической активности в корковом и мозговом веществе почек крыс с сахарным диабетом. Показано, что в оба термина наблюдения сахарный диабет существенно модифицирует влияние ишемии-реперфузии головного мозга на фибрино- и протеолитическую активность в обоих исследованных отделах почек.

Ключевые слова: сахарный диабет, ишемия-реперфузия головного мозга, фибринолиз, протеолиз, почки.

MODIFICATION OF FIBRINO- AND PROTEOLYTIC ACTIVITY IN THE RAT KIDNEY BY A COMBINED INFLUENCE OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES AND ISCHEMIC-REPERFUSED BRAIN DAMAGES

S. S. Tkachuk, V. P. Havaleshko

Abstract. Early and remote effects of ischemic-reperfusion brain damages on the state of fibrino- and proteolytic activity in cortical and medullary substance of the rat kidneys with experimental diabetes mellitus have been investigated. It has been shown that in both periods of observation diabetes mellitus significantly modify the influence of the brain ischemia-reperfusion upon fibrino- and proteolytic activity in both parts of kidneys under research.

Key words: diabetes mellitus, ischemia-reperfusion of the brain, fibrinolysis, proteolysis, kidneys.

Bucovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2010.- Vol.9, №4 (34).-P.113-116.

Надійшла до редакції 25.10.2010

Рецензент – проф. В. М. Мислицький

© С. С. Ткачук, В. П. Гавалешко, 2010