

УДК: 616.831-005.4:616.379-008.64]-019

А.А. Галагдина,

С.С. Ткачук,

О.В. Ткачук,

В.Ф. Мислицький

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ СТАНУ ПРООКИСНО-АНТИОКСИДАНТНИХ ВЗАЄМОВІДНОСИН У ПРИВУШНИХ ТА ПІДВЕРХНЬОЩЕЛЕПНИХ СЛИННИХ ЗАЛОЗАХ ПРИ ПОРУШЕННІ КАРОТИДНОГО КРОВООБІГУ В ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

Ключові слова: експериментальний цукровий діабет, каротидна ішемія-реперфузія, слинні залози, ліпопероксидація, антиоксидантний захист, окиснювальна модифікація білків, оксид азоту.

Резюме. Проведено порівняльний аналіз стану проокисно-антиоксидантних взаємовідносин у привушних та підверхньощелепних слинних залозах при порушенні каротидного кровообігу в щурів з експериментальним цукровим діабетом. Встановлено, що за показниками окиснювальної модифікації білків реакція привушних та підверхньощелепних слинних залоз на каротидну ішемію-реперфузію в щурів без діабету та з наявністю останнього подібна як у ранньому, так і в пізньому ішемічно-реперфузійному періодах. Стан системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист характеризується структурними особливостями в привушних та підверхньощелепних слинних залозах щурів без діабету на 12-ту добу після моделювання каротидної ішемії-реперфузії, а в щурів із діабетом - в обидва терміни ішемічно-реперфузійного періоду.

Вступ

Численні експериментальні дослідження та клінічні спостереження наводять беззаперечні докази виникнення за умов діабету окисного стресу, який супроводжується виснаженням клітинних систем антиоксидантного захисту та пов'язаний зі збільшенням продукції вільних радикалів [1, 2]. З іншого боку, досі відсутні надійні підтвердження ефективності антиоксидантної терапії за таких умов [3]. Ця невідповідність, яка в літературі дістала назву "антиоксидантний парадокс" [4], свідчить про недосконалість розуміння природи окисного стресу і відсутність патогенетично спрямованих засобів запобігання оксидативному ушкодженню багатьох тканин при діабеті.

Взаємозв'язок високої поширеності захворювань порожнини рота у хворих на ЦД із порушенням слиновиділення сьогодні не викликає сумнівів [5-7]. Що стосується впливу ішемії на тканини порожнини рота, то встановлено, що зниження клітинного метаболізму в епітеліальних клітинах слизової порожнини рота поглиблюється внаслідок вторинної реакції на ішемію, спричинену атеросклерозом у хворих на ЦД [8]. Зокрема, ЦД значно прискорює атеросклеротичні зміни в сонних артеріях, які є джерелом кровопостачання слинних залоз і тканин порожнини рота [9, 10]. Ішемія і гіпоксія тканин ще більше під-

силюють оксидативний стрес, притаманний діабету. Однак ми не зустріли в літературі характеристики прооксидантно-антиоксидантних взаємовідносин у слинних залозах при ЦД, ускладненому порушенням їх кровопостачання.

Мета дослідження

Вивчити вплив каротидної ішемії на показники інтенсивності вільнорадикальних процесів та стан антиоксидантного захисту в слинних залозах щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом.

Матеріал і методи

Для моделювання ЦД двомісячним самцям білих нелінійних щурів однократно внутрішньочеревно вводили стрептозотоцин (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [11]. Через чотири міс у частини тварин моделювали двобічну каротидну ішемію-реперфузію шляхом кліпсування обох загальних сонних артерій протягом 20 хв. Для вивчення ранніх наслідків ішемії-реперфузії частину тварин виводили з експерименту через одну год. від початку реперфузії, а відстрочених - на 12 добу. У гомогенатах привушної та підверхньощелепної слинних залоз визначали інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом дієнових кон'югатів (ДК) та малонового альдегіду (МА), активність супероксид-

дисмутази (СОД), каталази (КТ) та глутатіон-пероксидази (ГПО), вміст продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) нейтрального та основного характеру і метаболітів оксиду азоту із використанням реактивів Simko Ltd, Україна [12, 13]. 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). Групи порівняння мали нормальний розподіл, що оцінювали за допомогою теста Шапіро-Уїлка. Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалеж-

них виборок.

Обговорення результатів дослідження

У щурів без ЦД 20-хвилинне порушення каротидного кровообігу з одногодинною реперфузією не вплинуло на досліджені показники ПОЛ та антиоксидантного захисту в привушній слинній залозі, проте достовірно знизило (на 26 %) вміст ДК у підверхньощелепній (табл. 1). На 12-ту добу спостереження в привушній залозі зріс вміст ДК і МДА (на 32 та 21 % відповідно) та активність ГПО на 14 %, а в підверхньощелепній - знизило вміст ДК (на 26 %) та активність КТ (на 55 %). Отже, в ранньому ішемічно-реперфузійному періоді в привушній залозі інтенсивність ліпо-

Таблиця 1

Показники пероксидного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у слинних залозах щурів після каротидної ішемії-реперфузії ($M \pm m$, $n=8$)

Група спостереження	Уміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового діальдегіду (нмоль/мг білка)	супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль G-SH/хв·мг білка)
Привушна залоза					
Контрольні	0,412±0,012	0,150±0,005	4,84±0,234	0,273±0,043	0,185±0,006
Ішемія-реперфузія	0,411±0,016	0,165±0,010	4,69±0,493	0,254±0,040	0,168±0,010
Ішемія-реперфузія довготривала	0,543±0,009 p<0,001	0,182±0,010 p<0,01	4,21±0,397	0,260±0,037	0,211±0,005 p<0,008
Діабет	0,558±0,022 p<0,001	0,192±0,016 p<0,03	1,80±0,31 p<0,001	0,222±0,048	0,233±0,009 p<0,001
Діабет та ішемія - реперфузія	0,513±0,027	0,153±0,015	3,67±0,393 p ₁ <0,002	0,349±0,015 p ₁ <0,02	0,198±0,070 p ₁ <0,007
Діабет та ішемія-реперфузія довготривала	0,554±0,022	0,161±0,010	4,78±0,29 p ₁ <0,001	0,144±0,039	0,223±0,011
Підверхньощелепна залоза					
Контрольні	0,705±0,045	0,287±0,03	4,97±0,39	16,6±0,8	0,265±0,025
Ішемія -реперфузія	0,526±0,026 p<0,004	0,269±0,027	5,99±0,58	14,8±0,7	0,26±0,018
Ішемія-реперфузія довготривала	0,523±0,035 p<0,007	0,251±0,018	5,51±0,59	7,49±0,44 p<0,001	0,221±0,007
Діабет	0,787±0,032	0,366±0,024 p<0,058	10,5±0,80 p<0,000	12,90±0,77 p<0,004	0,327±0,013 p<0,046
Діабет та ішемія-реперфузія	0,677±0,026 p ₁ <0,01	0,329±0,019	8,66±0,69	12,91±0,82	0,296±0,017
Діабет та ішемія-реперфузія довготривала	0,619±0,037 p ₁ <0,004	0,298±0,02 p ₁ <0,05	8,38±0,51 p ₁ <0,05	11,60±0,74	0,319±0,015

Примітка – тут та в наступній таблиці – достовірність змін порівняно з: p – контролем; p₁ – цукровим діабетом

пероксидації переважає над активацією антиоксидантного захисту, а в підверхньощелепній - є ознаки виснаження системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист при переважаючому пригніченні антиоксидантної активності.

У привушній залозі за умов чотиримісячного ЦД зріс уміст ДК, МА та активність ГПО на 35, 28, 26 % відповідно на тлі зниження активності СОД на 63 %, а в підверхньощелепній - зріс уміст МА, активність СОД та ГПО (на 27, 111, 23 % відповідно) та знизилась активність КТ на 24 %.

При ускладненні ЦД каротидною ішемією-одноденною реперфузією в привушній залозі зросли активність СОД та КТ на 101 і 37 % відповідно, а в підверхньощелепній знизився на 21 % уміст ДК. На 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду в привушній залозі тварин із ЦД на 165 % зросла активність СОД, у підверхньощелепній - знизилася на 22, 16 і 21 % уміст ДК, МА та активність СОД.

Такі результати демонструють структурні особливості реагування привушної та підверх-

ньощелепної слинних залоз шурів.

Оцінка інтенсивності окиснювальної модифікації білків та вмісту метаболітів оксиду азоту в контрольних шурів після каротидної ішемії з одноденною реперфузією показала зниження на 12 % вмісту продуктів ОМБ нейтрального характеру в привушній слинній залозі, а також нейтрального, основного характеру та метаболітів монооксиду нітрогену на 10, 17, 13 % відповідно - у підверхньощелепній (табл. 2). На 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду вміст альдегідо- та кетоніохідних нейтрального й основного характеру зріс на 23 і 24 % у привушній залозі та на 27 і 26 % - у підверхньощелепній, що свідчить про відсутність суттєвих відмінностей у реакції обох залоз. На даному етапі спостереження виявлено також зниження на 28 % умісту метаболітів NO у підверхньощелепній залозі.

В обох досліджених залозах шурів із чотиримісячним ЦД уміст продуктів ОМБ нейтрального та основного характеру зріс (на 14 і 15,5 % у привушній залозі та 14 і 11 % - у підверх-

Таблиця 2

Вплив ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків та метаболітів оксиду азоту в привушній залозі шурів із цукровим діабетом ($M \pm m$, $n=11$)

Група спостереження	Уміст альдегідо- та кетоніохідних		Уміст метаболітів оксиду азоту, (мкмоль/л)
	нейтрального характеру (у.о./г білка, 370 нм)	основного характеру (у.о./г білка, 420 нм)	
Привушна залоза			
Контрольні	16,29±0,32	8,11±0,33	25,37±1,53
Ішемія реперфузії	14,56±0,50 p<0,01	7,80±0,37	28,62±1,42
Ішемія реперфузії довготривала	20,10±0,44 p<0,001	10,05±0,19 p<0,001	26,40±0,57
Діабет	18,57±0,36 p<0,002	9,37±0,37 p<0,03	25,95±1,17
Діабет та ішемія реперфузії	17,63±0,24 p ₁ <0,093	9,40±0,28	22,93±0,60 p ₁ <0,05
Діабет та ішемія реперфузії довготривала	20,60±0,58 p ₁ <0,02	10,26±0,37	25,81±0,73
Підверхньощелепна залоза			
Контрольні	20,76±0,28	9,96±0,23	48,73±1,52
Ішемія реперфузії	18,7±0,51 p<0,003	8,28±0,333 p<0,001	42,60±1,24 p<0,007
Ішемія реперфузії довготривала	26,34±0,44 p<0,001	12,55±0,20 p<0,001	34,92±2,36 p<0,001
Діабет	23,71±0,37 p<0,001	11,10±0,37 p<0,02	48,79±2,61
Діабет та ішемія реперфузії	21,84±0,28 p ₁ <0,001	10,51±0,22	44,61±0,94
Діабет та ішемія реперфузії довготривала	23,91±0,55	11,20±0,44	33,65±2,81 p ₁ <0,001

ньощелепній), а достовірних змін вмісту метаболітів оксиду азоту не відбулося, що свідчить про однотипність їх реакції.

По закінченні каротидної ішемії та одно-годинної реперфузії в щурів із ЦД у привушній залозі виявлено зниження вмісту метаболітів оксиду азоту на 12 %, а в підверхньощелепній - продуктів ОМБ нейтрального характеру на 8 %. На 12 добу спостереження в привушній залозі на 11 % зріс уміст продуктів ОМБ нейтрального характеру, у підверхньощелепній - на 41 % знизився уміст метаболітів оксиду азоту.

Висновки

1. За показниками окиснювальної модифікації білків реакція привушних та підверхньощелепних слинних залоз на каротидну ішемію-реперфузію в щурів без діабету подібна як у ранньому, так і в пізньому ішемічно-реперфузійному періоді; зміни, спричинені цукровим діабетом, також суттєво не відрізняються в обох залозах. У щурів із цукровим діабетом у ранньому постішемічному періоді реакція даного показника близька до такої в контрольних щурів, на 12-ту добу - обмежена в привушних залозах та відсутня - у підверхньощелепних.

2. У привушних та підверхньощелепних слинних залозах щурів без діабету 20-хвилинна каротидна ішемія з одногодинною реперфузією не впливає на стан ліпопероксидації та антиоксидантного захисту. На 12-ту добу після моделювання каротидної ішемії в привушних залозах активність системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист зростає, а в підверхньощелепних - знижується. У щурів із цукровим діабетом каротидна ішемія з одногодинною реперфузією не впливає на стан ліпопероксидації, достовірно посилює активність антиоксидантного захисту в привушних залозах, що в цілому свідчить про збереження їх адаптаційної спроможності, яка суттєво обмежується на 12-ту добу. Реакція підверхньощелепних залоз тварин даної групи в ранній термін спостереження подібна до такої в контрольних щурів, а на 12-ту добу - проявляється зниженням функціонального рівня системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист.

3. У привушних залозах уміст метаболітів оксиду азоту зазнає змін лише в щурів із цукровим діабетом в ранньому постішемічному періоді, у підверхньощелепних - знижується в контрольних щурів у ранньому і пізньому термінах, у тварин із діабетом - на 12-ту добу.

Перспективи подальших досліджень

Планується порівняльного аналізу морфо-

логічних змін у великих слинних залозах щурів із цукровим діабетом, ускладненим каротидною ішемією-реперфузією.

Література. 1. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications / F.A. Matough, S.B. Budin, Z.A. Hamid [et al.] // Sultan Qaboos Univ. Med. J. - 2012. - Vol. 12, №1. - P.5-18. 2. Mitochondrial dysfunction and targeted drugs: a focus on diabetes / V.M. Victor, M. Rocha, C. Banuls [et al.] // Curr. Pharm. Des. - 2011. - Vol.17, №20. - P. 1986-2001. 3. Diabetes and antioxidants: myth or reality? / M.A. Haidara, H.Z. Yassin, Z. Zakula [et al.] // Curr. Vasc. Pharmacol. - 2010. - Vol.8, №5. - P. 661-72. 4. The antioxidant paradox in diabetes mellitus / M. Sheikh-Ali, J.M. Chehade, A.D. Mooradian // Am. J. Ther. - 2011. - Vol.18, №3. - P.266-278. 5. Reduced statherin reactivity of human submandibular gland in diabetes / M. Isola, P. Solinas, E. Proto [et al.] // Oral Dis. - 2011. - Vol.17, №2. - P. 217-220. 6. Diabetes reduces statherin in human parotid: immunogold study and comparison with submandibular gland / M. Isola, M. Cossu, M. Diana, R. Isola // Oral Dis. - 2012. - Vol.18, №4. - P. 360-364. 7. Abnormal subcellular localization of AQP5 and downregulated AQP5 protein in parotid glands of streptozotocin-induced diabetic rats / D. Wang, Z. Yuan, N. Inoue, G. Cho // Biochim. Biophys. Acta. - 2011. - Vol.1810, №5. - P. 543-554. 8. Hyperglycemic Ins2AkitaLdlr- mice show severely elevated lipid levels and increased atherosclerosis: a model of type 1 diabetic macrovascular disease / C. Zhou, B. Pridgen, N. King [et al.] // J. Lipid Res. - 2011. - Vol.52, №8. - P. 1483-1493. 9. Association between impaired glucose tolerance and carotid atherosclerosis: a study in 64-year-old women and a meta-analysis / G. Brohall, C. Schmidt, C.J. Behre [et al.] // Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis. - 2009. - Vol.19, №5. - P.327-333. 10. Associations between blood glucose and carotid intima-media thickness disappear after adjustment for shared risk factors: the KORA F4 study / B. Kowall, N. Ebert, C. Then [et al.] // J. PLoS One. - 2012. - Vol.7, №12. - e52590. 11. Ткачук О.В. Диференціація лімфоцитів у тимусі щурів зі стрептозоточин-індукованим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку / О. В. Ткачук // Клін. та експерим. патол. - 2010. - Т. IX, № 1 (31). - С. 77-81. 12. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / [В.М. Магальяс, А.О. Міхеев, Ю.Є. Роговий та ін.]. - Чернівці, 2001. - 42 с. 13. Голиков П.П. Метод определения нитрита/нитрата (NOx) в сыворотке крови / П.П. Голиков, Н.Ю. Николаева // Биомед. химия. - 2004. - Т.50, №1. - С. 79-83.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫХ ВЗАИМООТНОШЕНИЙ В ОКОЛОУШНЫХ И ПОДВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗАХ ПРИ НАРУШЕНИИ КАРОТИДНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

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

В.Ф. Мыслицкий

Резюме. Осуществлен сравнительный анализ реакции прооксидантно-антиоксидантных взаимоотношений в околоушных и подвѣрхнечелюстных слюнных железах на нарушение каротидного кровообращения у крыс с экспериментальным сахарным диабетом. Установлено, что по показателям окислительной модификации белков реакция околоушных и подвѣрхнечелюстных слюнных желез на каротидную ишемию-реперфузию у крыс без диабета и с наличием последнего подобна как в раннем, так и в позднем ишемически-реперфузионном периоде. Состояние системы липопероксидация-антиоксидантная защита характеризуется структурными особенностями в околоушных и подвѣрхнечелюстных слюнных железах крыс без диабета на 12-е сутки после моделирования каротидной ишемии-

реперфузии, а у крыс с диабетом - в оба термина ишемически-реперфузионного периода.

Ключевые слова: экспериментальный сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, слюнные железы, липопероксидация, антиоксидантная защита, окислительная модификация белков, оксид азота.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE STATE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT INTERRELATIONS IN PAROTID AND SUBMAXILLARY SALIVARY GLANDS IN CASE OF CAROTID CIRCULATION DISTURBANCE IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

A.A.Galagdina, S. S. Tkachuk, O.V. Tkachuk, V.F.Myslytskyi

Abstract. A comparative analysis of reaction of prooxidant-antioxidant interrelations in the parotid and submaxillary salivary glands to carotid circulation disturbance in rats with experimental diabetes mellitus violation of carotid blood flow in rats with experimental diabetes has been carried out. It has been established that reaction of the parotid and submaxillary salivary

glands to carotid ischemia-reperfusion in rats without diabetes and in the presence of it is similar both in early and late ischemia-reperfusion period according to the data of oxidizing modification of proteins. The state of lipoperoxidation-antioxidant defence system is characterized by structural specific features in the parotid and submaxillary salivary glands in rats without diabetes on the 12th day after carotid ischemia-reperfusion modeling, and in rats with diabetes - during both terms of ischemia-reperfusion period.

Key words: experimental diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, salivary glands, lipoperoxidation, antioxidant defence, oxidative modification of proteins, nitric oxide.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol.- 2014.- Vol.13, №2 (48).-P.42-46.

Надійшла до редакції 01.06.2014

Рецензент – доц. Н.Б. Кузняк

© А.А. Галагдина, С.С. Ткачук, О.В. Ткачук,

В.Ф. Мислицький, 2014