

УДК 616.831. - 018 - 053

С.С.Ткачук,

А.А. Галагдина,

О.В.Ткачук,

В.Ф.Мислицький

Вищий державний навчальний заклад України "Буковинський державний медичний університет", м. Чернівці

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ РЕАКЦІЙ ПОКАЗНИКІВ ПРООКСИДНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗУ РІЗНИХ ВІДДІЛІВ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ НА ІШЕМІЧНО-РЕПЕРFUZІЙНІ ПОШКОДЖЕННЯ

Ключові слова: слизова ротової порожнини, цукровий діабет, каротидна ішемія-реперфузія, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантний захист.

Резюме. Здійснено порівняльний аналіз реакцій показників системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист слизової щочки та ясен на ішемію-реперфузію в щурів без цукрового діабету та з наявністю останнього. Встановлено, що в щурів без діабету після 20-хвилинної ішемії з односторонньою реперфузією система ліпопероксидація-антиоксидантний захист в слизовій щочці переходить на нижчий рівень функціонування, а в слизовій ясен - на більш високий. На 12-ту добу спостереження в слизовій щочці має місце зниження антиоксидантної активності, а в слизовій ясен - депресія показників як ліпопероксидації, так й антиоксидантного захисту. Цукровий діабет значно редукує реакцію на ішемію реперфузію обох досліджених відділів слизової в обидва терміни спостереження та нівелює структурні відмінності, притаманні контрольним щурам.

Вступ

Незважаючи на те, патологія сонних артерій є досить поширеною, клінічних та експериментальних досліджень морфофункціонального стану слизової оболонки ротової порожнини в умовах зниження артеріального кровотоку небагато. У той же час достатнє кровопостачання є запорукою нормального функціонування всіх органів. Ранні атеросклеротичні зміни сонних артерій за умов цукрового діабету (ЦД) погіршують кровопостачання слизової оболонки порожнини рота та слинних залоз, поглиблюючи ті зміни, що виникають унаслідок ангіопатії судин даних органів [1-3].

В основі діабетичних та ішемічно-реперфузійних пошкоджень будь-якої тканини лежить надмірна продукція активних форм кисню, з якою нездатні впоратись антиоксидантні системи [4-5]. Тому вивчення показників вираженості окиснювального стресу за накопиченням продуктів ліпопероксидації з одночасною оцінкою стану антиоксидантного захисту є надійним патобіохімічним критерієм реагування слизової на ішемію-реперфузію, ЦД та їх поєднання.

Мета дослідження

Здійснити порівняльний аналіз динаміки змін прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в різних ділянках слизової ротової порожнини щурів із ЦД, ускладненим двобічною каротидною іше-

мією-реперфузією.

Матеріал і методи

Моделювання ЦД здійснювали внутрішньо-черевним введенням стрептозотоцину білим самцям щурів віком два міс. (Sigma, США, 60 мг / кг маси) [6]. Тривалість ЦД, яка в наших дослідженнях становила чотири міс., відраховували починаючи з дня введення препарату. Формували групи контрольних щурів та тварин із чотиримісячним ЦД, яким протягом 20 хв. припиняли кровотік по загальних сонних артеріях із наступним його відновленням [7]. Частину тварин виводили з експерименту через одну год. від початку реперфузії, частину - на 12-ту добу. У гомогенатах слизової ясен та щочки вивчали інтенсивність пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) за вмістом дієнових кон'югатів (ДК), малонового альдегіду (МА), активність супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ), глутатіонпероксидази (ГПО) [8] із використанням реактивів Simko Ltd, Україна. Оперативні втручання та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) із дотриманням основних положень GLP (1981 р.), Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях, від 18.03.1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р. та № 944 від 14.12.2009.

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

Обговорення результатів дослідження

Порівняння конститутивних показників ПОЛ та антиоксидантного захисту в слизовій щоки та ясен показало достовірно нижчі значення всіх параметрів в останній ділянці, що може лежати в основі різної чутливості до пошкоджувальних чинників (табл.).

У слизовій щоки щурів без ЦД після ішемії та одноденної реперфузії виявлено зменшення вмісту ДК на 17 % на тлі ще більш вагомого зниження активності КТ та ГПО (на 33 та 14 %),

що можна розцінювати як перехід компонентів проокисно/антиоксидантної системи на нижчий рівень функціонування з переважанням депресії антиоксидантної активності. У слизовій ясен щурів даної експериментальної групи зміни показників ПОЛ та антиоксидантного захисту мали протилежне спрямування до таких у слизовій щоки: тут відбулося зростання вмісту ДК, МА, активності СОД, КТ та ГПО на 39, 31, 24, 60, 80 % відповідно. Отже, судячи зі ступеня вираженості змін, за даних експериментальних умов більше активується антиоксидантна активність, що свідчить про високі компенсаторні властивості даної тканини. Таким чином, у ранньому постішемичному періоді більш стійкою до ініційованих ішемією-реперфузією вільнорадикальних реакцій

Таблиця

Показники пероксидного окиснення ліпідів та активності антиоксидантних ферментів у слизовій оболонці ротової порожнини щурів із цукровим діабетом, ускладненим каротидною ішемією-реперфузією (M±m, n=11)

Група спостереження	Уміст		Активність ферментів		
	дієнових кон'югатів (нмоль/мг білка)	малонового альдегіду (нмоль/мг білка)	супероксид-дисмутази (од/хв·мг білка)	каталази (мкмоль/хв·мг білка)	глутатіон-пероксидази (нмоль G-SH/хв·мг білка)
Слизова щоки					
Контроль	2,113±0,118	0,891±0,069	13,17±0,46	39,24±3,45	1,005±0,060
Каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	1,756±0,098 p<0,004	0,834±0,087	11,70±0,61	26,19±1,88 p<0,006	0,837±0,031 p<0,05
Каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	1,950±0,077	0,896±0,023	9,10±0,73 p<0,001 p ₁ <0,02	15,94±0,668 p<0,001 p ₁ <0,001	0,828±0,032 p<0,05
Діабет	2,058±0,186	0,582±0,051 p<0,004	12,98±1,14	22,21±2,02 p<0,001	0,930±0,074
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	2,346±0,109	0,640±0,038	13,15±1,02	32,41±2,77 p ₂ <0,04	1,010±0,056
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	2,057±0,124	0,740±0,152	8,56±0,53 p ₂ <0,01 p ₃ <0,004	23,11±2,55 p ₃ <0,05	0,910±0,054
Слизова ясен					
Контроль	0,907±0,044	0,564±0,037	9,28±0,59	7,29±0,47	0,376±0,022
Каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/ 1 год)	1,260±0,087 p<0,003	0,738±0,061 p<0,03	11,5±0,66 p<0,05	11,65±0,78 p<0,001	0,676±0,086 p<0,005
Каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	0,728±0,050 p<0,03 p ₁ <0,001	0,377±0,036 p<0,006 p ₁ <0,001	4,66±0,376 p<0,001 p ₁ <0,001	5,04±0,391 p<0,006 p ₁ <0,001	0,301±0,014 p<0,05 p ₁ <0,004
Діабет	0,897±0,082	0,527±0,072	8,35±0,86	8,09±0,84	0,399±0,038
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	0,683±0,043 p ₂ <0,04	0,443±0,035	6,66±0,42	6,20±0,24 p ₁ <0,05	0,321±0,023
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	0,870±0,108	0,476±0,060	5,87±0,74	5,99±0,80	0,377±0,037

Примітки: тут та в наступній таблиці: вірогідність різниці порівняно з: p – контролем; p₁ – ішемією-реперфузією (20 хв/ 1 год) у контрольних тварин; p₂ – діабетом; p₃ – ішемією-реперфузією (20 хв/ 1 год) у тварин із діабетом

є слизова ясен.

На 12-ту добу експерименту в слизовій щоки щурів без ЦД стосовно контролю вміст ДК повертався до такого у тварин контрольної групи, однак з'явилося зниження активності СОД на 31 %, а активність КТ і ГПО знизилася ще суттєвіше, ніж у ранньому терміні - на 60 і 16 % стосовно контролю та 23 і 39 % - стосовно ранніх змін. Це свідчить про переважання відстрочених наслідків. У слизовій ясен відстрочені зміни вивчених показників були більш суттєвими, ніж у слизовій щоки, і проявлялися зниженням умісту ДК, МА, активності СОД, КТ, ГПО на 28, 33, 50, 31, 19 % та на 42, 49, 60, 57, 55 % порівняно з попереднім терміном спостереження.

Отже, в даному відділі слизової активація компонентів системи про- та антиоксидантного захисту після одногодинної реперфузії на 12-ту добу змінилася глибокою її депресією.

Виявлено також відмінності і в реагуванні досліджених відділів слизової на формування ЦД: у слизовій щоки щурів із ЦД достовірно знизився вміст МА та активність КТ на 35 і 44 % відповідно, що відображає перехід системи на більш низький рівень функціонування, а в слизовій ясен достовірних змін не відбулося.

На відміну від щурів без ЦД, у слизовій щоки ішемія-одногодинна реперфузія у тварин із ЦД на 46 % посилила активність КТ, не вплинувши на вміст продуктів ПОЛ, а в слизовій ясен - знизила вміст ДК та активність КТ на 24 та 23 %, що докорінно відрізняло реакцію на дане втручання в цей період спостереження від контрольних щурів.

Ефекти каротидної ішемії-реперфузії у тварин із ЦД відрізнялися від таких у контрольних тварин і на 12-ту добу: в слизовій щоки в цей період виявлено зниження активності СОД на 31 % стосовно показників за ЦД та СОД і КТ на 35 і 29 % - стосовно попереднього терміну спостереження, а в слизовій ясен на 12-ту добу спостереження всі показники поверталися до рівня, притаманного щурам із ЦД. Можна думати, що резерви тканини, виснажені діабетом, повністю реалізувалися в її негайній реакції.

Висновки

1. У щурів без діабету після 20-хвилинної ішемії з одногодинною реперфузією система ліпопероксидація-антиоксидантний захист в слизовій щоки переходить на нижчий рівень функціонування, а в слизовій ясен - на більш високий. На 12-ту добу спостереження в слизовій щоки має місце зниження антиоксидантної активності, а в слизовій ясен - депресія показників як ліпопероксидації, так й антиоксидантного захисту.

2. Цукровий діабет значно редукує реакцію на ішемію реперфузією обох досліджених відділів слизової в обидва терміни спостереження та нівелює структурні відмінності, притаманні контрольним щурам.

Перспективи подальших досліджень

Планується вивчення особливостей реагування даних відділів слизової ротової порожнини на цукровий діабет та каротидну ішемію-реперфузію за вмістом продуктів окиснювальної модифікації білків та метаболітів монооксиду нітрогену.

Література. 1. Influence of experimental diabetes on regulatory mechanisms of vascular response of rabbit carotid artery to acetylcholine / F.J. Miranda, J.A. Alabad?, S. Llorens [et al.] // *Life Sci.* - 2000. - Vol.66, №21. - P. 2071-2080. 2. Leo C.H. Short-term type 1 diabetes alters the mechanism of endothelium-dependent relaxation in the rat carotid artery / C.H. Leo, A. Joshi, O.L. Woodman // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2010. - Vol.299, №2. - P. 502-511. 3. Impairment of acetylcholine-mediated endothelium-dependent relaxation in isolated parotid artery of the alloxan-induced diabetic rabbit / J. Roganovi?, M. Radenkovi?, N. Tani? [et al.] // *Eur. J. Oral Sci.* - 2011. - Vol.119, №5. - P. 352-360. 4. 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. 5. The antioxidant paradox in diabetes mellitus / M. Sheikh-Ali, J.M. Chehad, A.D. Mooradian // *Am. J. Ther.* - 2011. - Vol.18, №3. - P.266-278. 6. Ткачук О. В. Церебральна реакція системи ліпопероксидація-антиоксидантний захист на двобічну каротидну ішемію-реперфузію в щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом / О. В. Ткачук // *Клінічна та експериментальна патологія.* - 2009. - Т. VIII, № 3 (29). - С. 105-108. 7. 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. 8. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / В.М.Магалис, А.О.Міхеев, Ю.Є.Роговий [та ін.] - Чернівці, 2001. - 42 с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РЕАКЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПРООКИСНО-АНТИОКСИДАНТНОГО ГОМЕОСТАЗА РАЗЛИЧНЫХ ОТДЕЛОВ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ НА ИШЕМИЧЕСКИ-РЕПЕРфуЗИОННЫЕ ПОВРЕЖДЕНИЯ

С.С.Ткачук, А.А.Галагодина, А.В.Ткачук, В.Ф.Мыслицкий

Резюме. Осуществлен сравнительный анализ реакции показателей системы липопероксидация-антиоксидантная защита слизистой щеки и десны на ишемию-реперфузию у крыс без сахарного диабета и с наличием последнего. Установлено, что у крыс без диабета после 20-минутной ишемии-часовой реперфузии система липопероксидация-антиоксидантная защита в слизистой щеки переходит на более низкий уровень функционирования, а в слизистой десен - на более высокий. На 12-е сутки наблюдения в слизистой щеки имеет место снижение антиоксидантной активности, а в слизистой десен - депрессия показателей как липопероксидации, так и антиоксидантной защиты. Сахарный диабет значительно редуцирует реакцию на ишемию-реперфузию обеих исследованных отделов слизистой в оба срока наблюдения и нивелирует структурные различия, присущие контрольным крысам.

Ключевые слова: слизистая ротовой полости, сахарный

диабет, каротидная ишемия-реперфузия, перекисное окисление липидов, антиоксидантная защита.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE REACTION OF PROOXIDATIVE-ANTIOXIDATIVE BALANCE INDICES OF DIFFERENT PARTS OF THE ORAL MUCOSA TO ISCHEMIA-REPERFUSION INJURY IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

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

Abstract. Comparative analysis of the reaction of the indices of lipoperoxidation and antioxidant defense systems of cheek and gum mucosa to ischemia-reperfusion in rats without and with diabetes mellitus has been performed. It has been established that in non diabetic rats after 20-minute ischemia followed by 1-hour reperfusion lipoperoxidation and antioxidant defense systems in cheek mucosa function on a lower level, whereas in gum mucosa they function on a higher level. On 12th

day of observation decrease in antioxidant activity occurs in cheek mucosa, and diminution of lipoperoxidation and antioxidant defense takes place in gum mucosa. Diabetes mellitus significantly decreases reaction to ischemia-reperfusion of both of the investigated parts of the oral mucosa in both terms of observation and eliminates structural differences characteristic for control rats.

Key words: oral mucosa, diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, lipoperoxidation, antioxidant defense.

Higher State Educational Establishment of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi

Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol. 14, №3 (53). - P. 147-150.

Надійшла до редакції 28.08.2015

Рецензент – доц. Н.Б. Кузник

© С.С.Ткачук, А.А. Галагдына, О.В.Ткачук, В.Ф.Мислицький,
2015