

УДК 616.831. – 018 - 053

С. С. Ткачук
А. А. ГалагодинаБуковинський державний медичний
університет, м. ЧернівціУМІСТ ПРОДУКТІВ ОКИСНЮВАЛЬНОЇ
МОДИФІКАЦІЇ БІЛКІВ ТА МЕТАБОЛІТІВ
МОНООКСИДУ НІТРОГЕНУ В СЛИННИХ
ЗАЛОЗАХ ЩУРІВ ІЗ ПОЄДНАНИМ
ВПЛИВОМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-
ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ ТА ДВОБІЧНОЇ
КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРFUЗІЇ

Ключові слова: слинні залози,
цукровий діабет, каротидна
ішемія-реперфузія, окиснювальна
модифікація білків, метаболіти
оксида азоту.

Резюме. Досліджено ранні та довготривалі зміни вмісту продуктів окиснювальної модифікації білків і метаболітів монооксиду нітрогену в привушній та підверхньощелепній слинних залозах контрольних щурів та тварин із цукровим діабетом після двобічної каротидної ішемії-реперфузії. Після 20-хвилинної ішемії та односторонньої реперфузії суттєві зміни досліджених показників у контрольних щурів виникають у підверхньощелепній залозі, а на 12 добу спостереження – в обох залозах. У тварин із цукровим діабетом в обидва терміни спостереження реакція досліджуваних показників на двобічну каротидну ішемію-реперфузію слабша, ніж у контрольних.

Вступ

Лікування одонтогенної патології у хворих на цукровий діабет потребує особливих підходів, розробка яких ґрунтується на розумінні її патогенезу. Протягом останніх десятиліть з'явилася чимала кількість робіт даного спрямування, однак вони присвячені, в основному, пародонтиту та запальним захворюванням слизової порожнини рота [3,5,6,16]. Стан слинних залоз у таких хворих, як правило, залишається поза увагою науковців. Крім того, відомо, що одним із найчастіших ускладнень цукрового діабету є ішемічні пошкодження головного мозку [10,15]. Серед найбільш важливих ланок патогенезу ішемічно-реперфузійного ушкодження будь-якої тканини є пошкодження макромолекул, у тому числі білкових, вільними радикалами [8,9]. Саме окисднативна модифікація протеїнів може лежати в основі найбільш тяжких наслідків порушення фізіологічних функцій та структурних змін органу, що зазнав ішемічного впливу. Оксидативний стрес, який виникає при цукровому діабеті, супроводжується порушеннями оксидатції білків [2,12]. Не остання роль у розвитку оксидативного стресу будь-якої етіології належить високореакційноздатним похідним оксиду азоту [1,13,14]. Таким чином, у патогенезі цукрового діабету та ішемії-реперфузії закладено спільні механізми пошкодження тканини, тому цілком логічним є дослідження поєданого впливу цих станів на вміст продуктів

окиснювальної модифікації білків та метаболітів монооксиду нітрогену в слинних залозах, оскільки саме цукровий діабет часто стає однією з основних причин метаболічного сіалоденіту.

Мета дослідження

Дослідити вміст продуктів окиснювальної модифікації білків та метаболітів монооксиду нітрогену в привушній та підверхньощелепній слинних залозах щурів із цукровим діабетом, ускладненим двобічною каротидною ішемією-реперфузією.

Матеріал і методи

Цукровий діабет І типу моделювали шляхом внутрішньочеревинного введення стрептозототину (Sigma, США, 60 мг / кг маси) білим самцям щурів віком два міс. [11], оскільки саме в дитячому та підлітковому віці хвороба, як правило, манифестує. Через чотири міс. у частини тварин із діабетом та в шестимісячних контрольних щурів моделювали двобічну каротидну ішемію-реперфузію шляхом кліпсування обох загальних сонних артерій протягом 20 хв. [7]. 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 досліджували вміст продуктів окиснювальної модифікації білків (ОМБ) нейт-

рального та основного характеру і метаболітів оксиду азоту із використанням реактивів Simko Ltd, Україна [4]. Оперативні втручання та етаназію 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 ЄЕС № 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

У контрольних шурів каротидна ішемія-реперфузія призвела до 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 (таблиці 1, 2).

Такий стан оксидзації білків може бути пов'язаний із достатньо високою активністю протеаз, які мають селективну чутливість до модифікованих протеїнів і здійснюють їх деградацію з метою запобігання надмірної акумуляції [2,8].

На 12 добу ішемічно-реперфузійного періоду вміст альдегідо- та кетонпохідних 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 % вмісту метаболітів NO в підверхньощелепній залозі.

У шурів із чотиримісячним цукровим діабетом виявлено накопичення окисно-модифікованих білків у тканині обох залоз. Приріст продуктів ОМБ нейтрального та основного характеру склав 14 і 15,5 % у привушній залозі та 14 і 11 % – у підверхньощелепній. Достовірних змін вмісту метаболітів монооксиду нітрогену не виявлено.

Як у ранньому, так і в пізньому ішемічно-реперфузійному періоді реакція вивчених показників у тварин із діабетом була зниженою. По закінченні одногодинної реперфузії в шурів даної групи встановлено зниження вмісту метаболітів оксиду азоту на 12 % у привушній залозі та продуктів ОМБ нейтрального характеру на 8 % – у підверхньощелепній. На 12 добу спостереження в привушній залозі на 11 % зріс вміст продуктів ОМБ нейтрального характеру та на 41 % знизився вміст метаболітів оксиду азоту в підверхньощелепній.

Результати роботи свідчать, що у тварин із цукровим діабетом зміни вмісту досліджуваних показників у слинних залозах за умов каротидної ішемії-реперфузії відрізняються від таких у контрольних шурів в обидва терміни спостереження.

Висновки

1. У контрольних шурів 20-хвилинна каротидна ішемія / одногодинна реперфузія знижує вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у слинних залозах, а на 12 добу спостереження виявлено підвищення їх вмісту. В обидва терміни спостереження в підверхньощелепній слинній залозі виявлено зменшення вмісту метаболітів монооксиду нітрогену.

2. Цукровий діабет тривалістю чотири місяці призводить до накопичення окисно-модифікованих білків нейтрального та основного характеру в обох слинних залозах, а каротидна ішемія-реперфузія в слинних залозах даної групи тварин в обидва терміни спостереження має обмежений вплив на досліджені показники.

Перспективи подальших досліджень

Отримані результати вказують на перспективність дослідження активності в слинних залозах тканинного протеолізу.

Література. 1.Барінова М.Э. Роль внутриклеточной сигнальной системы ENOS-протеинкиназа G в развитии дисрегуляторного синдрома у больных сахарным диабетом / М.Э.Барінова // Архив клин.и эксперим.мед. -2008.-Т.17, №1.-С.66-69. 2.Дубинина Е.Е. Окислительная модификация протеинов, ее роль при патологических состояниях / Е.Е.Дубинина, А.В.Пустынина // Укр. біохім. журн. - 2008. - Т.80, №6. - С.5-18. 3.Козлов В.А. Особенности течения воспалительных заболеваний одонтогенной этиологии у больных сахарным диабетом / В.А.Козлов // Мед. акад. журн. - 2008. - Т.8, №1. - С. 242-248. 4.Мещинен І.Ф., Пошловий В.П. Механізм окислювальної модифікації білків // Бук.мед.вісник. - 1999. - Т.3, №1. - С. 196-205. 5.Пиекалните І.Я. Особенности обследования и лечения генерализованного пародонтита на фоне сахарного диабета / И.Я.Пиекалните, Г.Л.Саввиди, В.В.Битюков //Матер. X Междунар. конф. челюстно-лицевых хирургов и стоматологов. - СПб., 2005. - С. 140. 6.Рябых Л.А. Профилактика послеоперационных осложнений у больных инсулинозависимой формой сахарного диабета / Л.А.Рябых, Ф.З.Мирсаева // Матер. XII междунар. конф. челюстно-лицевых хирургов и стоматологов. - СПб., 2007. - С. 187-188. 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.Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease / I.Dalle-Donne, R.Rossi, R.Colombo [et al.] // Clin.Chem. -2006.-Vol.52, №4.-P.601-623. 9.Cell death during ischemia: relationship to mitochondrial depolarization and ROS generation / J.Levraut, H.Iwase, Z.H.Shao [et al.] // Am.J.Physiol. Heart Circ.Physiol. - 2003. - № 284. - P.549-558. 10.Glymour M.M. Can Self-Reported Strokes Be Used to Study Stroke Incidence and Risk Factors? / M.M.Glymour, M.Avendano // Stroke. - 2009. - Vol.40, №3. - P.873-879. 11.Importance of a thymus dysfunction in the pathophysiology of type 1 diabetes / V.Geeen, F.Brilot, C.Louis [et al.] // Rev. Med. Liege. - 2005.- Vol. 60, N 5-6.-P. 291-295. 12.Ischemia/reperfusion-induced oxidative stress causes structural changes of brain membrane proteins and lipids / R.Murin, A.Drgova, P.Kaplan [et al.] // General physiology and biophysics. - 2001. - Vol.20, №4. - P.431-438. 13.MCI-186

Таблиця 1

Вплив ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків та метаболітів монооксида нітрогену в привушній залозі щурів із цукровим діабетом (M±m, n=11)

Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетоніохідних		Вміст метаболітів оксиду азоту
	нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм)	
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

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

Таблиця 2

Вплив ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків та метаболітів монооксида нітрогену в підверхньощелепній залозі щурів із цукровим діабетом (M±m, n=11)

Група спостереження	Вміст альдегідо- та кетоніохідних		Вміст метаболітів оксиду азоту
	нейтрального характеру (о.о.г./г білка, 370 нм)	основного характеру (о.о.г./г білка, 420 нм)	
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

prevents spinal cord damage and affects enzyme levels of nitric oxide synthase and Cu/Zn superoxide dismutase after transient ischemia in rabbits / G. Takahashi, M. Sakurai, K. Abe [et al.] // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. - 2003. - Vol. 126, № 5. - P. 1461-1466. 14. Neuroprotection by selective nitric oxide synthase inhibition at 24 hours after perinatal hypoxia-ischemia / C. Peeters-Scholte, J. Koster, W. Veldhuis [et al.] // Stroke. - 2002. - Vol. 33, №9. - P. 2304-2310. 15. The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death / T. Almdal, H. Scharling, J.S. Jensen [et al.] // Arch. Intern. Med. - 2004. - № 164. - P. 1422-1426. 16. Waddington R.J. Reactive oxygen species: a potential role in the pathogenesis of periodontal disease / R.J. Waddington, R. Moseley, G. Ember // J. Periodontol. - 2000. - Vol. 6. - P. 138-151.

СОДЕРЖАНИЕ ПРОДУКТОВ ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И МЕТАБОЛИТОВ МОНООКСИДА НИТРОГЕНА В СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗАХ КРЫС С СОЧЕТАННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ДИАБЕТА И ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ

С. С. Качук, А. А. Галагодина

Резюме. Исследованы ранние и отдаленные изменения содержания продуктов окислительной модификации белков и метаболитов монооксида азота в околоушной и под-

верхнечелюстной слюнных желез контрольных крыс и животных с сахарным диабетом после двусторонней каротидной ишемии-реперфузии. После 20-минутной ишемии и односторонней реперфузии существенные изменения исследованных показателей у контрольных крыс возникают в подверхнечелюстной железе, а на 12 сутки наблюдения – в обеих железах. У крыс с сахарным диабетом в оба периода наблюдения реакция исследованных показателей на двустороннюю каротидную ишемию-реперфузию ниже, чем у контрольных.

Ключевые слова: слюнные железы, сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, окислительная модификация белков, метаболиты оксида азота.

**THE LEVEL OF OXIDATIVE PROTEIN
MODIFICATION PRODUCTS AND NITROGEN
MONOOXIDE METABOLITES IN THE SALIVARY
GLANDS OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-
INDUCED DIABETES COMPLICATED WITH
BILATERAL CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION**

S. S. Tkachuk, A. A. Galagdina

Abstract. The early and long-term changes of oxidative protein modification products and nitrogen monoxide metabolites lev-

els in the parotid and submaxilar salivary glands of control rats and animals with diabetes mellitus after bilateral carotid ischemia-reperfusion has been investigated. After 20 min of ischemia and one hour of reperfusion important changes of investigated parameters arose in the parotid gland, and on the 12th day of observation – in both glands. In rats with diabetes mellitus reaction of investigated parameters on carotid ischemia-reperfusion was lower than in control animals in both periods of observation.

Key words: salivary glands, diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, oxidative protein modification, nitrogen monoxide metabolites.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. - 2011 - Vol. 10, №2 (36). - P. 109-112.

Надійшла до редакції 24.05.2011

Рецензент – проф. В. Ф. Мислицький

© С. С. Ткачук, А. А. Галагдіна, 2011