

## ДОВГОТРИВАЛІ ЕФЕКТИ ПОРУШЕННЯ КРОВООБІГУ В БАСЕЙНІ СОННИХ АРТЕРІЙ НА ПОКАЗНИКИ ПРОТЕО- І ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В СЛИЗОВІЙ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНІ ЩУРІВ ЗІ СТРЕПТОЗОТОЦИНІДУКОВАНИМ ДІАБЕТОМ

*Досліджено вплив гострого двобічного порушення каротидного кровообігу з реперфузією різної тривалості на показники протео- та фібринолітичної активності в слизовій щоки і ясен щурів з експериментальним цукровим діабетом. Показано, що цукровий діабет суттєво модифікує реакцію показників протео- та фібринолітичної активності слизової щоки і ясен на каротидну ішемію-реперфузію в ранній термін спостереження та фібринолітичної активності слизової ясен на 12-ту добу.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** слизова щоки, ясен, цукровий діабет, каротидна ішемія-реперфузія, протеоліз, фібриноліз.

ВСТУП. Гіперглікемія асоціюється з різноманітними ускладненнями з боку слизової ротової порожнини [6, 8, 14]. Багато в чому зниження репаративних властивостей слизової та її дисфункцію у хворих на цукровий діабет (ЦД) пов'язують із порушеннями функції слинних залоз, змінами трофіки та депресією імунного захисту, що спричиняє зміни оральної мікробіоти і підвищує схильність до інфекцій [1, 12]. Результатом є ксеростомія, кандидоз, підвищення частоти карієсу, гінгівітів і періодонтитів, періапикальних абсцесів, травматичних виразок слизової, фіброз тощо [1, 6, 13, 15].

Серед великого розмаїття життєво небезпечних ускладнень ЦД важливе місце посідають цереброваскулярні захворювання [2, 11]. Високу схильність хворих на ЦД до інсультів пов'язують, зокрема, з активацією тромбоцитарного та плазмового гемостазу і пригніченням фібринолізу [9, 10]. Універсальним механізмом розвитку ускладнень ЦД із наступним порушенням функції різних органів і тканин є також фіброзні зміни, які призводять до пошкодження екстрацелюлярного матриксу і потовщення основної мембрани клітин тих органів, які є мішенню ускладнень ЦД [2, 7]. В основі цих змін лежить опосередковане гіперглікемією порушення балансу протеази/антипротеази, продукування просклеротичних цитокінів [5, 7]. Ми не зустріли в літературі прикладів вивчення протео- та фібринолітичних систем слизової ротової порожнини при усклад-

ненні ЦД гострими порушеннями церебрального кровообігу, у зв'язку з чим було виконано дане дослідження.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Цукровий діабет відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення стрептозотоцину ("Sigma", США, 60 мг/кг маси) білим щурам-самцям віком 2 міс. [2]. Через 4 місяці в частини тварин моделювали двобічну каротидну ішемію-реперфузію шляхом кліпсування обох загальних сонних артерій протягом 20 хв [3]. Для вивчення ранніх наслідків ішемії-реперфузії частину щурів виводили з експерименту через 1 год від початку реперфузії, а відстрочених – на 12 добу. Тканинну протео- й фібринолітичну активність досліджували в гомогенатах слизової щоки та ясен із використанням реактивів "Simko Ltd" (Україна) [4]. Операційні втручання та етаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) з 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.

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** У слизовій щоки щурів без ЦД 20-хвилинне порушення кровообігу в сонних артеріях із наступною реперфузією протягом 1 год призвело до

зниження лізису високомолекулярних білків на 7 %. Проте на 12-ту добу ішемічно-реперфузійного періоду в цьому відділі слизової виявлено високодостовірне посилення лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену на 21, 15, 37 % відповідно. Порівняно з раннім терміном спостереження це посилення становило 20, 29, 50 % відповідно для лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену. У тварин із ЦД у даному відділі слизової також виявлено посилення лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу на 10, 14, 20 % (табл. 1).

Після каротидної ішемії з одногодинною реперфузією у тварин із ЦД відбулося посилення лізису низько- і високомолекулярних білків на 11 та 6 %, а на 12-ту добу – посилення лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену на 19, 16, 25 % порівняно з показниками за діабету. Достовірної динаміки досліджених показників у слизовій щоки не виявлено.

У слизовій ясен реакція протеолітичних систем на зазначені експериментальні втручання відрізнялася від такої в слизовій щоки.

У ранній ішемічно-реперфузійний період у щурів без ЦД показники лізису низько-, високомолекулярних білків та колагену знизилися на 14, 14 і 21 %, а на 12-ту добу, порівняно з контролем, достовірно зріс на 18 % лізис азоколу. Порівняно з раннім терміном спостереження в цій ділянці слизової показники лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу підвищилися на 18, 14, 50 %.

Не виявлено жодних змін зазначених показників у тварин із ЦД порівняно з контролем, а також їх реакції на ішемію/одногодинну реперфузію. Незважаючи на відсутність ранньої реакції протеолітичних систем слизової щоки на ішемію-реперфузію в щурів із ЦД, на 12-ту добу тут виявлено достовірне зростання лізису низько- та високомолекулярних білків на 50 і 47 %. Порівняно з раннім терміном спостереження ці параметри збільшились на 50 і 44 %. Незмінним за всіх термінів спостереження у даному відділі слизової при діабеті залишався лізис колагену.

Характеристику показників фібринолітичної активності слизової ротової порожнини

Таблиця 1 – Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на стан тканинного протеолізу в слизовій ротовій порожнині щурів із цукровим діабетом ( $M \pm m$ ,  $n=11$ )

Група спостереження	Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за 1 год)	Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за 1 год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за 1 год)
Слизова щоки			
Контроль	73,37±1,46	72,35±0,72	18,38±0,43
Каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	73,50±2,36	67,25±1,64 $p < 0,02$	16,79±0,79
Каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	88,56±2,05 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	86,86±1,67 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	25,11±0,91 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Діабет	80,83±1,66 $p < 0,001$	82,37±1,49 $p < 0,001$	22,13±0,59 $p < 0,001$
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	89,96±2,04 $p_2 < 0,005$	87,33±1,61 $p_2 < 0,05$	25,41±2,17
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	96,29±5,63 $p_2 < 0,01$	95,92±3,55 $p_2 < 0,001$	27,71±1,69 $p_2 < 0,01$
Слизова ясен			
Контроль	104,24±2,81	91,95±2,74	15,64±0,73
Каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	89,25±2,44 $p < 0,002$	79,31±2,01 $p < 0,004$	12,38±0,44 $p < 0,003$
Каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	105,57±3,13 $p_1 < 0,003$	90,64±2,84 $p_1 < 0,01$	18,52±1,02 $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$
Діабет	97,50±2,82	87,03±2,20	17,17±0,93
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	97,80±2,56	88,90±2,32	18,39±0,73
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	146,49±12,13 $p_2 < 0,003$ $p_3 < 0,002$	127,99±10,14 $p_2 < 0,003$ $p_3 < 0,002$	21,35±1,93

Примітка. У цій і наступній таблицях вірогідність різниці порівняно з:  $p$  – контролем;  $p_1$  – ішемією-реперфузією короткотривалою в контрольних тварин;  $p_2$  – діабетом;  $p_3$  – ішемією-реперфузією короткотривалою у тварин із діабетом.

щурів різних експериментальних груп наведено в таблиці 2. Результати свідчать про те, що каротидна ішемія з одноденною реперфузією в щурів контрольної групи не вплинула на жоден із досліджуваних показників у слизовій щоки. Однак на 12-ту добу спостереження тут виявлено зростання сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності на 39, 45, 35 % щодо контролю і на 39, 41, 38 % щодо попереднього терміну спостереження відповідно.

У тварин із ЦД зростає сумарна та неферментативна фібринолітична активність на 15 і 20 % щодо показників у контрольних тварин, а каротидна ішемія-реперфузія в щурів із цією патологією підвищила сумарну, неферментативну та ферментативну фібринолітичну активність на 17, 18, 16 % після одноденної реперфузії і на 28, 29, 24 % – на 12-ту добу.

Характерною була відсутність динаміки змін досліджуваних показників, що свідчить про їх стабільність.

У слизовій ясен щурів без ЦД не виявлено реакції досліджуваних показників на каротидну ішемію-реперфузію в обидва терміни спостереження.

ЦД достовірно не вплинув на стан фібринолізу в слизовій ясен, однак ішемія з одноденною реперфузією у тварин цієї групи знизила сумарну, неферментативну та ферментативну фібринолітичну активність стосовно діабету без ішемії на 14, 17, 12 %.

Це зниження на 12-ту добу спостереження змінилося зростанням сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності на 68, 69, 68 % стосовно контролю і на 97, 102, 91 % щодо попереднього терміну спостереження.

Таблиця 2 – Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на стан тканинного фібринолізу в слизовій ротовій порожнині щурів із цукровим діабетом ( $M \pm m$ ,  $n=11$ )

Група спостереження	Сумарна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)	Неферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)	Ферментативна фібринолітична активність (мкг азофібрину/г тканини за 1 год)
Слизова щоки			
Контроль	19,59±0,79	9,17±0,34	10,42±0,48
Каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	19,57±0,74	9,45±0,32	10,13±0,42
Каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	27,31±0,36 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	13,29±0,22 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	14,02±0,16 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
Діабет	22,48±0,63 $p < 0,02$	11,02±0,29 $p < 0,002$	11,46±0,36
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	26,31±0,66 $p < 0,001$	13,02±0,36 $p < 0,001$	13,28±0,31 $p < 0,003$
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	28,75±2,46 $p < 0,01$	14,21±1,26 $p < 0,01$	14,55±1,21 $p < 0,02$
Слизова ясен			
Контроль	26,45±0,96	13,53±0,45	12,92±0,54
Каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	28,00±0,78	14,37±0,50	13,64±0,41
Каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	25,27±1,20	12,05±0,57 $p_1 < 0,02$	13,21±0,64
Діабет	27,18±0,65	13,56±0,34	13,62±0,42
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (20 хв/1 год)	23,29±0,77 $p_2 < 0,003$	11,33±0,48 $p_2 < 0,003$	11,95±0,38 $p_2 < 0,01$
Діабет та каротидна ішемія-реперфузія (12 діб)	45,81±4,50 $p_2 < 0,002$ $p_3 < 0,001$	22,96±2,56 $p_2 < 0,005$ $p_3 < 0,001$	22,85±1,97 $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$

**ВИСНОВОК.** Цукровий діабет призводить до якісної модифікації реакції показників протео- та фібринолітичної активності слизової щоки і ясен на каротидну ішемію-реперфузію в ранній термін спостереження та

фібринолітичної активності слизової ясен на 12-ту добу.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується провести кореляційний аналіз взаємозв'язків протеолітичної активності та процесів окиснювальної модифікації білків.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Зубачик В. М. Місцева гуморальна проти-бактеріальна резистентність у хворих на генералізований пародонт / В. М. Зубачик, М. В. Лісничук, Г. О. Потьомкіна // Современ. стоматол. – 2009. – № 1. – С. 38–42.
2. 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.
3. Скибо Г. Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г. Н. Скибо // Патология. – 2004. – 1, № 1. – С. 22–30.
4. 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.
5. Alexandrova A. Proteasome activity in experimental diabetes / A. Alexandrova, L. Petrov, M. Kirkova // Central Europ. J. Biol. – 2006. – 1, № 2. – P. 289–298.
6. Association between metabolic control and oral health in adolescents with type 1 diabetes mellitus / I. M. S. Busatoa, M. S. Bittencourta, M. A. Naval Machadob [et al.] // Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol., Oral Radiol. and Endodontol. – 2010. – 109, Iss. 3. – P. 51–56.
7. 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. – 4, № 3. – P. 575–596.
8. Diabetes mellitus and oral mucosa alterations: prevalence and risk factors / A. S. Bastos, A. R. Leite, R. Spin-Neto [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2011. – 92, № 1. – P. 100–105.
9. 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. – 14, № 4. – P. 261–267.
10. Hyperglycemia Stimulates Coagulation, Whereas Hyperinsulinemia Impairs Fibrinolysis in Healthy Humans / M. E. Stegenga, N. S. Crabben, M. Levi [et al.] // Diabetes. – 2006. – 55, № 6. – P. 1807–1812.
11. Hyperglycemic crises in adult patients with diabetes: a consensus statement from the American Diabetes Association / A. E. Kitabchi, G. E. Umpierrez, M. B. Murphy [et al.] // Diabetes. – 2006. – 29, № 12. – P. 2739–2748.
12. Oral manifestations of diabetes mellitus in complete denture wearers / D. C. de Lima, G. C. Nakata, I. Balducci, J. D. Almeida // J. Prosthetic Dentistry. – 2008. – 99, Iss. 1. – P. 60–65.
13. Oral mucosal lesions in non oral habit diabetic patients and association of diabetes mellitus with oral precancerous lesions / R. Sainia, S. Ali Al-Maweria, D. Sainib [et al.] // Diabetes Res. Clin. Practice. – 2010. – 89, Iss. 3. – P. 320–326.
14. Taylor G. W. Periodontal disease: associations with diabetes, glycemic control and complications. Special Review in Periodontal Medicine / G. W. Taylor, W. S. Borgnakke // Oral Diseases – 2008. – 14. – P. 191–203.
15. Vernillo A. T. Diabetes mellitus: relevance to dental treatment / A. T. Vernillo // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2001. – 91. – P. 263–270.

**А. А. Галагдина**

*БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ*

## **ДОЛГОСРОЧНЫЕ ЭФФЕКТЫ НАРУШЕНИЯ КРОВООБРАЩЕНИЯ В БАСЕЙНЕ СОННЫХ АРТЕРИЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ ПРОТЕО- И ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В СЛИЗИСТОЙ ПОЛОСТИ РТА КРЫС СО СТРЕПТОЗОТОЦИНИНДУЦИРОВАННЫМ ДИАБЕТОМ**

### **Резюме**

*Исследовано влияние острого двустороннего нарушения каротидного кровообращения с реперфузией различной продолжительности на показатели протео- и фибринолитической активности в слизистой щеки и десен крыс с экспериментальным сахарным диабетом. Показано, что сахарный диабет существенно модифицирует реакцию показателей протео- и фибринолитической активности слизистой щеки и десен на каротидную ишемию-реперфузию в ранние сроки наблюдения и фибринолитической активности слизистой десен на 12-е сутки.*

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** *слизистая щеки, десен, сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, протеолиз, фибринолиз.*

**LONG-TERM EFFECTS OF THE BLOOD CIRCULATION DISORDERS  
IN THE CAROTID ARTERIES BASIN ON PERFORMANCE PROTEO-  
AND FIBRINOLYTIC ACTIVITY IN THE ORAL MUCOSA OF RATS  
WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES**

**Summary**

*The effect of acute bilateral carotid circulation disorders with reperfusion of varying duration on the proteo- and fibrinolytic activity in the buccal and gums mucosa of rats with experimental diabetes mellitus has been studied. It has been shown that diabetes mellitus significantly modifies the reaction of proteo- and fibrinolytic activity of buccal and gums mucosa on carotid ischemia-reperfusion in the early period of observation and fibrinolytic activity of gum mucous – on the 12th day.*

**KEY WORDS: buccal and gum mucosa, diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, fibrinolysis, proteolysis.**

Отримано 01.11.12

**Адреса для листування:** А. А. Галагдина, Буковинський державний медичний університет, площа Театральна, 2, Чернівці, 58000, Україна.