

УДК 616.831. - 018 - 053

О.В. Ткачук,

С.С. Ткачук,

В.Ф. Мислицький,

О.М. Леньков

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

ПОКАЗНИКИ ПРОТЕО- ТА ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ В КОРІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ПРИ ПОЄДНАНІЙ ДІЇ СТРЕПТОЗОТОЦИН- ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ ТА ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ

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

Резюме. Досліджено вплив каротидної ішемії-реперфузії на показники протео- та фібринолітичної активності в корі лобової та потиличної часток головного мозку щурів зі стрептозотоцин-індукованим цукровим діабетом. Встановлено, що в обох досліджених частках кори цукровий діабет суттєво модифікує вплив ішемії-реперфузії головного мозку на протео- та фібринолітичну активність.

Вступ

Особливості перебігу інсульту визначаються доінсультним (фоновим) станом мозкового метаболізму, його енергетичними потребами та статусом і реактивністю нейроімуноендокринної системи організму. Серед фонових захворювань, на тлі яких розвивається ішемія головного мозку, цукровий діабет (ЦД) є одним із найбільш поширених [1, 2]. ЦД підвищує ризик розвитку ішемічних уражень головного мозку в декілька разів. Особливого значення набувають такі ускладнення ЦД, як гіпоглікемічні, кетоацидотичні та гіпоглікемічні коми [3, 4], що призводять до розвитку неповної глобальної ішемії головного мозку з подальшою реперфузією, яка додатково ускладнює порушення енергетики нейронів та глії.

У комплексі місцевих реакцій, які виникають при ішемії-реперфузії, важливу роль відіграють зміни в системах тканинного протеолізу і фібринолізу, котрі є маркерами відповіді тканини на стрес [5, 6]. Взаємодія цих двох систем багато в чому визначає патогенез ішемічно-реперфузійних змін, ступінь пошкодження клітин, а також адаптацію і виживання ураженої тканини головного мозку [6, 7]. Показано, що активація деяких протеолітичних ферментів може брати участь в ініціації каскаду екситотоксичності [8, 9], порушувати проникність гематоенцефалічного бар'єру, особливо під час реперфузії [10]. З іншого боку, відомими є порушення активності даних систем у хворих на ЦД [11, 12]. Таким чином, зміни активності протео- та фібринолітичної систем притаманні як для ішемічно-реперфузійних пошкоджень головного мозку, так і для ЦД, однак ми не зустріли в опрацьованих літературних джерелах даних стосовно стану тканинної протео- та фібринолітичної активності в корі різних часток голо-

ного мозку при поєднаній дії ЦД та ішемічно-реперфузійного пошкодження мозку, що зумовлює актуальність такого наукового пошуку.

Мета дослідження

Вивчити ефекти двобічної каротидної ішемії-реперфузії на показники тканинної протео- та фібринолітичної активності в корі лобової та потиличної часток щурів зі стрептозотоциновим цукровим діабетом.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проведено на самцях щурів, яким у віці два місяці однократно внутрішньочеревно вводили стрептозотоцин (Sigma, США, 60 мг на 1 кг маси тіла) [13]. Рівень глікемії визначали глюкозооксидазним методом. Тривалість ЦД становила три місяці. По закінченні даного терміну в частини щурів під каліпсоловим наркозом (75 мг/кг маси тіла) моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом двобічного кліпсування загальних сонних артерій протягом 20 хв [14]. Реперфузійний період становив 60 хв. Евтаназію тварин здійснювали декапітацією під наркозом. Усі втручання та забій тварин проводилися паралельно в дослідних та контрольних групах.

Показники тканинної протеолітичної активності (лізис низько-, високомолекулярних білків та колагену) і фібринолітичної активності (сумарна - СФА, неферментативна - НФА та ферментативна ФФА)) визначали в гомогенатах кори лобової та потиличної часток реактивами Simko Ltd, Україна [14]. Структури забирали, звіряючись з атласом стереотаксичних координат [15].

Отримані результати опрацьовано математично за допомогою пакета прикладних програм "Statistica" ("Statsoft", США). Згідно теста Шапіро-

Уілка групи порівняння мали нормальний розподіл. Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента, достовірними вважали зміни при $P \leq 0,05$.

Усі дослідження та евтаназію тварин проводили з дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000).

Обговорення результатів дослідження

У корі лобової та потиличної часток тварин без діабету після ішемії-реперфузії головного мозку зріс лізис високомолекулярних білків та колагену в 1,2 і 1,1 раза та в 1,4 і 1,2 раза відповідно (табл.1).

У щурів із ЦД у корі потиличної частки достовірно знизився (в 1,2 раза) лізис низькомолекулярних білків та зріс (в 1,3 раза) лізис колагену, а в корі лобової частки знизився в 1,2 раза лізис низькомолекулярних білків.

У тварин із ЦД, яким моделювали ішемію-реперфузію, порівняно з показниками за діабету в обох частках кори знизився лізис колагену в 1,6 раза.

Отже, цукровий діабет суттєво модифікував реакцію вказаних відділів кори на ішемію-реперфузію: на відміну від контрольних щурів, не страждав лізис високомолекулярних білків та протилежних змін - зниження-знизав лізис колагену. Ймовірно, найбільш вразливими до ішемічно-реперфузійних впливів при діабеті в головному мозку є білки сполучної тканини.

Зміни показників тканинного фібринолізу за вказаних експериментальних умов показані в табл. 2.

За умов моделювання ішемії-реперфузії у щурів без діабету, порівняно з контролем, у корі лобової та потиличної часток зросли всі показники: СФА - в 1,44 та 1,50 раза, НФА - в 1,32 та 1,48 раза, ФФА - в 1,51 та 1,53 раза.

У щурів із тримісячним ЦД, порівняно з контролем, у корі лобової частки зросли: СФА - в 1,3 раза, ФФА - в 1,4 раза; у корі потиличної частки: СФА, НФА та ФФА в 1,46, 1,38, 1,53 раза відповідно. В обох частках кори тварин із тримісячним ЦД, яким виконано ішемію-реперфузію, порівняно з показниками за діабету достовірних змін вивчених показників не виявлено.

Таблиця 1

Показники тканинного протеолізу в лобовій та потиличній частках кори при поєднаній дії цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку ($M \pm m$, $n=11$)

Група спостереження	Лізис низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну /г тканини за год)	Лізис високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізис колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
кора лобової частки			
Контроль	115,22±3,1	81,7±2,5	5,10±0,13
Ішемія	113,3±2,3	98,9±2,8 $p_1 < 0,001$	5,70±0,15 $p_1 < 0,01$
Діабет	93,0±7,4 $p_1 < 0,05$	86,5±4,4	6,10±0,53
Діабет та ішемія-реперфузія	93,6±2,9	85,7±3,7	3,89±0,55 $p_2 < 0,01$
кора потиличної частки			
Контроль	110,3±2,2	75,6±2,2	4,41±0,13
Ішемія-реперфузія	113,7±4,9	102,8±2,9 $p_1 < 0,0001$	5,27±0,18 $p_1 < 0,001$
Діабет	88,9±5,61 $p_1 < 0,002$	84,7±5,54	5,84±0,49 $p_1 < 0,01$
Діабет та ішемія-реперфузія	94,7±5,2	86,9±4,5	4,20±0,31 $p_2 < 0,01$

Примітка: тут та в наступній таблиці – вірогідність змін порівняно з показниками: p_1 - у контрольних тварин; p_2 – у тварин із цукровим діабетом

Таблиця 2

Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного фібринолізу в корі лобової та потиличної часток самців-щурів за умов цукрового діабету ($M \pm m$, $n=11$)

	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)
Кора лобової частки	Контроль	36,8±1,0	19,4±0,5	17,4±0,8
	Ішемія-реперфузія	51,5±1,4 $p_1 < 0,001$	25,1±1,0 $p_1 < 0,001$	26,4±1,0 $p_1 < 0,001$
	Діабет	47,7±3,7 $p_1 < 0,05$	22,8±1,8	24,9±1,9 $p_1 < 0,01$
	Діабет та ішемія-реперфузія	48,5±1,7	25,3±1,2	23,2±0,6
Кора потиличної	Контроль	34,7±0,8	17,4±0,4	17,3±0,5
	Ішемія-реперфузія	52,1±0,7 $p_1 < 0,01$	25,7±0,7 $p_1 < 0,02$	26,4±0,6 $p_1 < 0,01$
	Діабет	50,7±0,9 $p_1 < 0,002$	24,1±0,8 $p_1 < 0,007$	26,5±1,4 $p_1 < 0,001$

Висновки

1. В обох досліджених частках кори цукровий діабет знижує лізис низькомолекулярних білків, у потиличній частці кори - підвищує лізис колагену.

2. У щурів із цукровим діабетом ішемія-реперфузія головного мозку знижує лізис азоколу в обох частках кори на противагу зростанню даного показника після подібного втручання в контрольних щурів.

3. Тримісячний цукровий діабет спричиняє зростання сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в корі потиличної частки та сумарної і ферментативної - в корі лобової. Цукровий діабет усуває притаманне тваринам без даного страждання зростання всіх видів фібринолітичної активності після каротидної ішемії-реперфузії.

Перспективи подальших досліджень

Результати дослідження свідчать про доцільність вивчення ефектів ускладнення цукрового діабету ішемічно-реперфузійним пошкодженням головного мозку на показники прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу, порушення якого може лежати в основі виявлених змін.

Література. 1. Ji R. Ischemic stroke and transient ischemic attack in young adults: risk factors, diagnostic yield, neuroimaging, and thrombolysis / R.Ji, L.H.Schwamm, M.A.Pervez, A.B.Singhal // JAMA Neurol. - 2013. - Vol.70, №1. - P.51-57. 2. Lifestyle risk factors for ischemic stroke and transient ischemic attack in young adults in the Stroke in Young Fabry Patients study / V.von Sarnowski, J.Putaala, U.Grittner [et al.] // Stroke. - 2013. - Vol.44, №1. - P.119-125. 3. Simmons B.V. Transient ischemic attack: Part II. Risk factor modification and treatment / B.B.Simmons, A.B.Gadegbeku, B.Cirignano // Am. Fam. Physician. - 2012. - Vol.86, №6. - P.527-32. 4. Wilkinson L. Neurology / L.Wilkinson, G.Lennox // Malden - Oxford - Carlton: Blackwell Publishing, 2005. - 278 p. 5. Шимків О.Д. Деякі біохімічні кореляти впливу емоксипіну на відстрочені наслідки неповної глобальної ішемії мозку / О.Д.Шимків // Клін. та експерим. патол. - 2003. - Т.2, №2. - С.35-40. 6. Brain regional and cellular localization of gelatinase activity in rats that have undergone transient middle cerebral artery occlusion / D.Amantea, M.T.Corasaniti, N.B.Mercuri [et al.] // Neuroscience. - 2008. - Vol.152, №1-3. - P.8-17. 7. Kimura Y. Calpain-dependent proteolysis of NF2 protein: involvement in schwannomas and meningiomas / Y.Kimura, H.Saya, M.Nakao // Neuropathol. - 2000. - Vol.20, №3. - P. 153-160. 8. Lecker S.H. Protein Degradation by the Ubiquitin-Proteasome Pathway in Normal and Disease States / S.H.Lecker, A.L.Goldberg, W.E.Mitch // J.Am.Soc.Nephrol. - 2006. - №17. - P.1807-1819. 9. Tanaka K. The proteasome: overview of structure and functions / K.Tahaka // Proc.Jpn.Acad.Ser.B.Phys.Biol.Sci. - 2009. - Vol.85, №1. - P.12-36. 10. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases in reperfusion injury to rat brain: Activation of MMP-9 linked to stromelysin-1 and microglia in cell cultures / G.A.Rosenberg, L.A.Cunningham, E.Y. Estrada et al. // Elsev. Netherlands. - 2001. - № 1-2. - P. 104-112. 11. Hyperglycemia Stimulates Coagulation, Whereas Hyperinsulinemia Impairs Fibrinolysis in Healthy Humans / M.E. Stegenga, N.S. Crabben, M. Levi [et al.] // Diabetes. - 2006. - Vol.55, №6. - P. 1807-1812. 12. The association of plasma fibrinogen concentration with diabetic microvascular complications in young adults with early-onset of type 2 diabetes / D.S. Le, R. Miles, P.J. Savage [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. - 2008. - Vol.82, №3. - P. 317-323. 13. Леньков О.М. Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі головного мозку і гіпокампі при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М.Леньков, С.С.Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. - 2009. - Т.VIII, № 3(29). - С.37-39. 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. 14. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буквинської державної медичної академії / В.М.Магальяс, А.О.Міхеев, Ю.С.Роговий [та ін.] - Чернівці, 2001. - 42 с. 15. Sherwood N.M. A stereotaxis atlas of the developing rat brain /

fication and treatment / B.B.Simmons, A.B.Gadegbeku, B.Cirignano // Am. Fam. Physician. - 2012. - Vol.86, №6. - P.527-32. 4. Wilkinson L. Neurology / L.Wilkinson, G.Lennox // Malden - Oxford - Carlton: Blackwell Publishing, 2005. - 278 p. 5. Шимків О.Д. Деякі біохімічні кореляти впливу емоксипіну на відстрочені наслідки неповної глобальної ішемії мозку / О.Д.Шимків // Клін. та експерим. патол. - 2003. - Т.2, №2. - С.35-40. 6. Brain regional and cellular localization of gelatinase activity in rats that have undergone transient middle cerebral artery occlusion / D.Amantea, M.T.Corasaniti, N.B.Mercuri [et al.] // Neuroscience. - 2008. - Vol.152, №1-3. - P.8-17. 7. Kimura Y. Calpain-dependent proteolysis of NF2 protein: involvement in schwannomas and meningiomas / Y.Kimura, H.Saya, M.Nakao // Neuropathol. - 2000. - Vol.20, №3. - P. 153-160. 8. Lecker S.H. Protein Degradation by the Ubiquitin-Proteasome Pathway in Normal and Disease States / S.H.Lecker, A.L.Goldberg, W.E.Mitch // J.Am.Soc.Nephrol. - 2006. - №17. - P.1807-1819. 9. Tanaka K. The proteasome: overview of structure and functions / K.Tahaka // Proc.Jpn.Acad.Ser.B.Phys.Biol.Sci. - 2009. - Vol.85, №1. - P.12-36. 10. Immunohistochemistry of matrix metalloproteinases in reperfusion injury to rat brain: Activation of MMP-9 linked to stromelysin-1 and microglia in cell cultures / G.A.Rosenberg, L.A.Cunningham, E.Y. Estrada et al. // Elsev. Netherlands. - 2001. - № 1-2. - P. 104-112. 11. Hyperglycemia Stimulates Coagulation, Whereas Hyperinsulinemia Impairs Fibrinolysis in Healthy Humans / M.E. Stegenga, N.S. Crabben, M. Levi [et al.] // Diabetes. - 2006. - Vol.55, №6. - P. 1807-1812. 12. The association of plasma fibrinogen concentration with diabetic microvascular complications in young adults with early-onset of type 2 diabetes / D.S. Le, R. Miles, P.J. Savage [et al.] // Diabetes Res. Clin. Pract. - 2008. - Vol.82, №3. - P. 317-323. 13. Леньков О.М. Вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії на вміст продуктів окиснювальної модифікації білків у корі головного мозку і гіпокампі при експериментальному цукровому діабеті в самців-щурів / О.М.Леньков, С.С.Ткачук // Клінічна та експериментальна патологія. - 2009. - Т.VIII, № 3(29). - С.37-39. 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. 14. Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буквинської державної медичної академії / В.М.Магальяс, А.О.Міхеев, Ю.С.Роговий [та ін.] - Чернівці, 2001. - 42 с. 15. Sherwood N.M. A stereotaxis atlas of the developing rat brain /

N.M.Sherwood, P.S.Timiras - Berkely -Los Angeles - London:
University of California Press, 1970. - 208 p.

**ПОКАЗАТЕЛИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ И
ФИБРИНОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРИ
СОЧЕТАННОМ ВОЗДЕЙСТВИИ
СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО
САХАРНОГО ДИАБЕТА И ДВУСТОРОННЕЙ
КАРОТИДНОЙ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ**

А.В.Ткачук, С.С.Ткачук, В.Ф.Мыслицкий, А.М.Леньков

Резюме. Исследовано влияние каротидной ишемии-реперфузии на показатели протео- и фибринолитической активности в коре лобной и затылочной долей головного мозга крыс со стрептозоточин-индуцированным сахарным диабетом. Показано, что в обоих исследованных долях коры сахарный диабет существенно модифицирует влияние ишемии-реперфузии головного мозга на протео- и фибринолитическую активность.

Ключевые слова: сахарный диабет, каротидная ишемия-реперфузия, протеолиз, фибринолиз, кора.

**PROTEOLITIC AND FIBRINOLITIC ACTIVITY
INDICES IN RATS BRAIN CORTEX UNDER
COMBINED INFLUENCE OF STREPTOZOTOCIN-
INDUCED DIABETES AND BILATERAL CAROTID
ISCHEMIA-REPERFUSION**

O.V. Tkachuk, S. S. Tkachuk, V.F.Myslickij, A.M.Lenkov

Abstract. The influence of the carotid ischemia-reperfusion on the indices of proteolytic and fibrinolytic activity in occipital and frontal cortex of rats brain with streptozotocin-induced diabetes has been studied. It has been shown that diabetes mellitus significantly modify the influence of the brain ischemia-reperfusion upon fibrino- and proteolytic activity in both parts of cortex under research.

Key words: diabetes mellitus, carotid ischemia-reperfusion, proteolysis, fibrinolysis, cortex.

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

Clin. and experim. pathol.- 2015.- Vol.14, №2 (52).-P.212-215.

Надійшла до редакції 01.04.2015

Рецензент – проф. І.І. Заморський

© О.В.Ткачук, С.С.Ткачук, В.Ф.Мыслицкий, О.М.Леньков,

2015