

УДК 616.831-005.4:616.379-008.64]:577.1-019

О.М.Леньков

## СТАН ТКАНИННОГО ПРОТЕОЛІЗУ ТА ФІБРИНОЛІЗУ В КОРІ ГОЛОВНОГО МОЗКУ І ГІПОКАМПИ ЗА УМОВ ДВОБІЧНОЇ КАРОТИДНОЇ ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ В САМЦІВ-ЩУРІВ

Кафедра патологічної фізіології (зав. – проф. Ю.Є.Роговий)  
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

**Резюме.** Дослідження впливу двобічної каротидної ішемії-реперфузії на тлі цукрового діабету на показники тканинного протеолізу та фібринолізу встановило зниження лізису колагену і не виявило суттєвих змін фібринолітичної активності в корі головного мозку і гіпокампі самців-щурів.

**Ключові слова:** головний мозок, каротидна ішемія-реперфузія, стрептозотоциновий цукровий діабет, протеоліз, фібриноліз.

**Вступ.** Цереброваскулярна патологія є однією з найбільш актуальних проблем сучасної медицини, що зумовлено зростанням розповсюдженості судинних захворювань. Особливу увагу привертають ішемічні пошкодження головного мозку, які становлять більше 2/3 усіх цереброваскулярних хвороб, тому процес ішемії мозку багато в чому є визначальним щодо рівня здоров'я й тривалості життя [2, 7]. Встановлено, що особливості перебігу інсульту визначаються доінсультним (фоновим) станом мозкового метаболізму, його енергетичними потребами та статусом і реактивністю нейроімунно-ендокринної системи організму. І серед фонових захворювань, на тлі яких розвивається ішемія головного мозку, цукровий діабет (ЦД) є одним із найбільш поширених [4, 7]. ЦД підвищує ризик розвитку ішемічних уражень головного мозку в декілька разів. Особливого значення набувають такі ускладнення ЦД, як гіпоглікемічні, кетоацидотичні та гіпоглікемічні коми [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 [2, 8]. Взаємодія цих двох систем багато в чому визначає патогенез ішемічно-реперфузійних змін, ступінь пошкодження клітин, а також адаптацію і виживання ураженої тканини головного мозку [2, 3, 8].

На сьогодні накопичено певний об'єм наукової інформації щодо показників протео- та фібринолітичної активності при різних пошкодженнях головного мозку [2, 3, 5, 6, 8]. Проте, аналізуючи літературу з даної проблеми, ми не знайшли даних щодо дослідження тканинного протеолізу та фібринолізу за умов поєднаної дії ішемії-реперфузії головного мозку і цукрового діабету у філогенетично різних кіркових структурах, що підтверджує актуальність нашої роботи.

**Мета дослідження.** Дослідити вплив двобічної каротидної ішемії-реперфузії при цукровому діабеті на показники тканинної протеолітичної та фібринолітичної активності в корі головного мозку та окремих полях гіпокампа самців-щурів.

**Матеріал і методи.** Дослідження проведено на 44 самцях білих нелінійних щурів чотирьох груп: контрольні тварини, щури, яким виконано двобічну каротидну ішемію-реперфузію (ДКІР), щури з ЦД і щури з ЦД, яким виконано ДКІР. ЦД моделювали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного введення стрептозотоцину (Sigma, Aldrich) у дозі 60 мг/кг самцям щурів віком два місяці. Тривалість діабету – три місяці. Для виконання ДКІР під внутрішньоочеревинним наркозом (каліпсол, 75 мг/кг) переднім середнім шийним доступом виділяли обидві загальні сонні артерії, які кліпсували на 20 хвилин, після чого кліпси знімали для реперфузії упродовж 1 години. Забій тварин здійснювали декапітацією під каліпсоловим наркозом. Після фіксації мозку в рідкому азоті, користуючись атласом стереотаксичних координат забирали для дослідження кору лобової частки (КЛЧ) та поля CA1, CA2 і CA3 гіпокампа. У гомогенатах вказаних структур вивчали тканинну протеолітичну та фібринолітичну активність [1]. Для дослідження протеолітичної активності визначали лізис низькомолекулярних (ЛНМБ), високомолекулярних білків (ЛВМБ) і лізис колагену (ЛК), а для вивчення фібринолітичних процесів – сумарну фібринолітичну (СФА), неферментативну (НФА) і ферментативну фібринолітичну активність (ФФА).

Отримані дані перевіряли на нормальність розподілу за допомогою критерію Шапіро-Уїлка. Вірогідність різниці між середньоарифметичними виборок оцінювали за t-критерієм Стьюдента. Критичний рівень значущості при перевірці статистичних гіпотез приймали рівним 0,05.

Експерименти проведені з дотриманням Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986).

**Результати дослідження та їх обговорення.**  
Результати дослідження представлені в таблицях 1 і 2.

У КЛЧ, полях СА2 та СА3 гіпокампа тварин, яким виконана ДКІР, порівняно з контролем достовірно зріс ЛВМБ (в 1,2 раза в усіх структурах) і ЛК (в 1,1, 1,4 і 1,4 раза відповідно). У полі СА1 в 1,2 раза знизилась активність ЛНМБ.

У тварин із тримісячним ЦД порівняно з контролем ЛНМБ знижується в 1,2 раза в КЛЧ та полі СА1. У полях СА2 та СА3 зростає ЛВМБ (в 1,1 та 1,2 раза відповідно) та ЛК (в 1,4 та 1,5 раза відповідно).

У групі тварин із тримісячним ЦД, яким виконано ДКІР, порівняно з групою тримісячного діабету знижуються показники ЛК: у КЛЧ та полі СА1 – в 1,6 раза, у полях СА2 та СА3 – в 1,4 та 1,5 раза відповідно.

Щодо показників тканинного фібринолізу, то вони зазнали таких змін. За умов виконання ДКІР, порівняно з контролем, у КЛЧ зросли всі показники: СФА – в 1,4 раза, НФА – в 1,3 раза, ФФА – в 1,5 раза. У полі СА1 гіпокампа збільшилася ФФА в 1,1 раза. У полі СА2 всі показники зросли в 1,2 раза, у полі СА3 всі види фібринолітичної активності достовірно не змінилися.

У щурів із тримісячним ЦД порівняно з контролем у КЛЧ зросли: СФА – в 1,3 раза, ФФА – в 1,4 раза. У полі СА1 СФА та НФА зросли в 1,3 раза, а ФФА – в 1,4 раза. У полях СА2 та СА3 збільшилися всі показники в 1,4 раза.

У групі тварин із тримісячним ЦД, яким виконано ДКІР, порівняно з групою тримісячного діабету достовірно знижуються показники ФФА: у полі СА2 – в 1,4 раза, у полі СА3 – в 1,2 раза.

Таблиця 1

**Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного протеолізу в корі лобової частки та різних зонах гіпокампа самців-щурів за умов цукрового діабету (M±m, n=11)**

	Група спостереження	Лізіс низькомолекулярних білків (мкг азоальбуміну/г тканини за год)	Лізіс високомолекулярних білків (мкг азоказеїну/г тканини за год)	Лізіс колагену (мкг азоколу/г тканини за год)
Кора лобової частки	Контроль	115±3	81,7±2,5	5,10±0,13
	Ішемія-реперфузія	113±2	98,9±2,8 p <sub>1</sub> <0,001	5,70±0,15 p <sub>1</sub> <0,01
	Діабет	93,0±7,4 p <sub>1</sub> <0,05	86,5±4,4	6,10±0,53
	Діабет та ішемія-реперфузія	93,6±2,9 p <sub>3</sub> <0,001	85,7±3,7 p <sub>3</sub> <0,05	3,89±0,55 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,01
Поле СА1	Контроль	127±3	95,1±2,5	6,06±0,18
	Ішемія-реперфузія	105±5 p <sub>1</sub> <0,01	102±4	6,58±0,31
	Діабет	104±9 p <sub>1</sub> <0,05	105±9	7,33±0,83
	Діабет та ішемія-реперфузія	102±6	95,3±6,2	4,67±0,58 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,05
Поле СА2	Контроль	128±3	102±2	5,71±0,13
	Ішемія-реперфузія	133±5	127±5 p <sub>1</sub> <0,001	7,92±0,38 p <sub>1</sub> <0,001
	Діабет	114±6	116±6 p <sub>1</sub> <0,05	7,76±0,55 p <sub>1</sub> <0,01
	Діабет та ішемія-реперфузія	118±6	110±5 p <sub>3</sub> <0,05	5,60±0,57 p <sub>2</sub> <0,05 p <sub>3</sub> <0,01
Поле СА3	Контроль	122±4	92,8±1,9	4,86±0,13
	Ішемія-реперфузія	113±5	109±3 p <sub>1</sub> <0,01	6,63±0,11 p <sub>1</sub> <0,001
	Діабет	112±6	109±5 p <sub>1</sub> <0,05	7,33±0,64 p <sub>1</sub> <0,01
	Діабет та ішемія-реперфузія	107±5	100±5	5,04±0,44 p <sub>2</sub> <0,01 p <sub>3</sub> <0,01

Примітки. вірогідність різниці порівняно з: p<sub>1</sub> – контролем, p<sub>2</sub> – діабетом, p<sub>3</sub> – ішемією-реперфузією

Таблиця 2

**Вплив ішемії-реперфузії на показники тканинного фібринолізу в корі лобової частки та різних зонах гіпокампа 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 $p_3 < 0,05$
Поле СА1	Контроль	44,2±0,8	22,0±0,7	22,1±0,6
	Ішемія-реперфузія	45,0±1,0	21,3±1,0	23,6±0,3 $p_1 < 0,05$
	Діабет	59,4±4,6 $p_1 < 0,01$	28,7±2,2 $p_1 < 0,01$	30,6±2,4 $p_1 < 0,01$
	Діабет та ішемія-реперфузія	51,6±3,5	25,3±1,8	26,3±1,8
Поле СА2	Контроль	44,9±1,3	22,0±0,7	23,0±0,9
	Ішемія-реперфузія	54,2±1,3 $p_1 < 0,001$	25,8±1,0 $p_1 < 0,01$	28,4±1,0 $p_1 < 0,01$
	Діабет	63,8±3,4 $p_1 < 0,001$	30,6±1,9 $p_1 < 0,001$	33,2±1,8 $p_1 < 0,001$
	Діабет та ішемія-реперфузія	58,6±3,7	34,1±2,5 $p_3 < 0,01$	24,5±3,1 $p_2 < 0,05$
Поле СА3	Контроль	44,4±1,3	21,3±0,6	23,2±0,9
	Ішемія-реперфузія	45,1±1,4	21,7±0,3	23,4±1,4
	Діабет	62,4±4,0 $p_1 < 0,001$	29,8±2,1 $p_1 < 0,01$	32,6±1,9 $p_1 < 0,001$
	Діабет та ішемія-реперфузія	54,5±3,2 $p_3 < 0,05$	27,4±1,9 $p_3 < 0,01$	27,1±1,4 $p_2 < 0,05$

Примітки. вірогідність різниці порівняно з:  $p_1$  – контролем,  $p_2$  – діабетом,  $p_3$  – ішемією-реперфузією

Разом із тим, у цих структурах не змінюється НФА, тому СФА не зазнає достовірних змін.

### Висновки

1. За умов тримісячного цукрового діабету в корі лобової частки та полі СА1 гіпокампа знижується лізис низькомолекулярних білків, у полях СА2 та СА3 – зростає лізис високомолекулярних білків та колагену. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія на тлі тримісячного цукрового діабету пригнічує лізис колагену в усіх досліджуваних структурах.

2. Тримісячний цукровий діабет спричиняє зростання сумарної, неферментативної та ферментативної фібринолітичної активності в усіх досліджуваних ділянках мозку. Двобічна каротидна ішемія-реперфузія на фоні тримісячного цукрового діабету позначається лише на зниженні ферментативної фібринолітичної активності в полях СА2 та СА3.

3. Показники усіх структур головного мозку, що вивчалися, реагували на цукровий діабет та двобічну каротидну ішемію-реперфузію односпрямовано або не реагували, тобто були відсутні дискордантні зміни.

**Перспективи подальших досліджень.** Результати свідчать про перспективність досліджень інших механізмів ішемічно-реперфузійних пошкоджень структур мозку на тлі цукрового діабету, знання яких може стати основою їх патогенетичної корекції.

### Література

- Сучасні методи експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії Буковинської державної медичної академії / [В.М.Магальяс, А.О.Міхеев, Ю.С.Роговий та ін.]. – Чернівці, 2001. – 42 с.
- Шимків О.Д. Деякі біохімічні кореляти впливу емкоксипіну на відстрочені наслідки неповної

- глобальної ішемії мозку / О.Д.Шимків // Клін. та експерим. патол. – 2003. – Т. 2, № 2. – С. 35-40.
3. Brain regional and cellular localization of gelatinase activity in rats that have undergone transient middle cerebral artery occlusion / D.Amantea, M.T.Corasanti, N.B.Mercuri [et al.] // Neuroscience. – 2008. – Vol. 152, № 1-3. – P. 8-17.
  4. Joslin's Diabetes Mellitus / [C.R.Kahn, C.W.Gordon, L.K.George et al.]. – [14th ed.]. – Philadelphia.: Lippincott Williams & Wilkins, 2005. – 1224 p.
  5. Micieli G. Safety and efficacy of alteplase in the treatment of acute ischemic stroke / G.Micieli, S.Marcheselli, P.A.Tosi // Vasc. Health Risk Manag. – 2009. – № 5. – P. 397-409.
  6. Reductions in mRNA of the neuroprotective agent, neuroserpin, after cerebral ischemia-reperfusion in diabetic rats / W.Liang, L.Chuan-Zhen, D.Qiang [et al.] // Brain Research. – 2004. – Vol. 1015, № 1-2. – P. 175-180.
  7. Wilkinson L. Neurology / L.Wilkinson, G.Lennox // Malden – Oxford – Carlton: Blackwell Publishing, 2005. – 278 p.
  8. Yamashita T. Differential response to ischemia in adjacent hippocampal sectors: neuronal death in CA1 versus neurogenesis in dentate gyrus / T.Yamashita, A.B.Tonchev, C.V.Borlogan // Biotechnology Journal. – 2007. – Vol. 2, № 5. – P. 596-607.

**СОСТОЯНИЕ ТКАНЕВОГО ПРОТЕОЛИЗА И ФИБРИНОЛИЗА В КОРЕ ГОЛОВНОГО  
МОЗГА И ГИППОКАМПЕ В УСЛОВИЯХ ДВУСТОРОННЕЙ КАРОТИДНОЙ  
ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ  
САХАРНОМ ДИАБЕТЕ У САМЦОВ КРЫС**

*А.М.Леньков*

**Резюме.** Исследование влияния двусторонней каротидной ишемии-реперфузии на фоне сахарного диабета на показатели тканевого протеолиза и фибринолиза установило снижение лизиса коллагена и не выявило существенных изменений фибринолитической активности в коре головного мозга и гиппокампе самцов крыс.

**Ключевые слова:** головной мозг, каротидная ишемия-реперфузия, стрептозотоциновый сахарный диабет, протеолиз, фибринолиз.

**THE STATE OF TISSUE FIBRINOLYSIS AND PROTEOLYSIS IN THE BRAIN  
CORTEX AND HIPPOCAMPUS UNDER THE CONDITIONS OF BILATERAL  
CAROTID ISCHEMIA-REPERFUSION IN EXPERIMENTAL  
DIABETES MELLITUS IN MALE RATS**

*A.M.Lenkov*

**Abstract.** An investigation of the influence of bilateral carotid ischemia-reperfusion against a background of diabetes mellitus on the tissue proteolysis and fibrinolysis indices revealed a decrease of collagen lysis, but not significant changes of the fibrinolytic activity in the brain cortex and hippocampus of male rats.

**Key words:** brain, carotid ischemia-reperfusion, streptozotocin-induced diabetes mellitus, proteolysis, fibrinolysis.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – проф. Г.І.Ходоровський

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol.13, №3.–P.115-118

Надійшла до редакції 7.07.2009 року