

УДК 616.31-002-092:612.015.11]-085.322:582.751]-092.4-.9

М.Ю. Хаврона, І.Л. Бензель, Р.М. Федін, О.Р. Піняжко, О.П. Хаврона

КОРЕКЦІЯ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ ТА ЕНДОГЕННІ ІНТОКСИКАЦІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ЕКСТРАКТУ ТРАВИ ГЕРАНІ БОЛОТНОЇ У ФОРМІ СТОМАТОЛОГІЧНОЇ ПЛІВКИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО СТОМАТИТУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Запальні процеси слизової оболонки ротової порожнини та різноманітні її uszkodження супроводжуються розвитком стоматитів і доволі часто трапляються в стоматологічній практиці.

Розвиток стоматиту супроводжується виникненням оксидативного стресу, для якого характерне зростання інтенсивності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), що призводить до порушення метаболізму ліпідів, які є основними структурними компонентами клітинних мембран, що супроводжується руйнуванням мембран та/чи порушенням їхньої проникності і, відповідно, порушенням метаболізму в слизовій оболонці ротової порожнини, що призводить до розвитку ендogenous інтоксикації [1]. Зважаючи на це, корекція патологічних процесів у слизовій оболонці ротової порожнини антиоксидантними препаратами дозволяє оптимізувати інтенсивність запалення, скоротити період катаболічної фази і пришвидшити початок регенерації [2].

З метою зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації й ендogenous інтоксикації використовували стоматологічну плівку з нанесеним на неї екстрактом трави Герані болотної, в якій в попередніх наших дослідженнях були виявлені антиоксидантні властивості [3]. Теоретично плівкова форма лікарського препарату ідеальна для використання в стоматології, оскільки препарати, нанесені на стоматологічні плівки, забезпечують локальне і рівномірне вивільнення діючої речовини з лікарської форми, створюючи її високу терапевтичну концентрацію в місцях використання [4].

З огляду на вищевказане, **метою** нашої роботи було дослідити в динаміці розвитку експериментального стоматиту антиоксидантні властивості екстракту трави Герані болотної у формі стоматологічної плівки.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили на кроликах-самцях масою 2-2,5 кг. Для експерименту тварин поділили на 2 групи. Перша група (10 тварин) – контрольна. Тваринам цієї групи викликали стоматит і не поводити жодного лікування. Експериментальну модель виразкового стоматиту отримували у тварин опіковим шляхом. Для цього під загальною анестезією на слизову ясен у ділянці нижніх передніх зубів прикладали на 10 с металевий стержень площею 7 мм², нагрітий до 100°C. Друга група (10 тварин) – дослідна. Тваринам цієї групи після розвитку опікового стоматиту проводили лікування, прикладаючи до рани стоматологічну плівку з нанесеним на неї екстрактом трави Герані болотної. Усі дослідження на лабораторних тваринах проводили з дотриманням принципів біоетики відповідно до положень Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у експериментальних та інших наукових цілях (Страсбург, 1986 р.), Директиви Ради Європи 2010/63/ЄУ, Закону України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Оскільки при виконанні роботи досліджувався характер перебігу експериментального вираз-

кового стоматиту, термінами спостереження було обрано його ключові етапи загоєння – 3-я, 5-а, 7-а і 10-а доба. У вказані терміни під наркозом із вушної вени в кожній піддослідній тварині проводили забір крові, в якій визначали динаміку прооксидантних процесів за вмістом гідропероксидів ліпідів (ГПЛ) [5] і малонового діальдегіду (МДА) [6] та ступінь ендogenous інтоксикації за вмістом молекул середньої маси (МСМ) [7]. Статистичну обробку отриманих результатів досліджень проводили за допомогою персонального комп'ютера з інстальованим відповідним програмним пакетом "StatSoft Statistica 10". При цьому достовірними вважали різницю $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Розвиток експериментального стоматиту супроводжується зростанням інтенсивності процесів ПОЛ. Проте необхідно звернути увагу на те, що в усі терміни спостереження вміст гідропероксидів ліпідів та кінцевого продукту процесів ліпопероксидації – малонового діальдегіду в крові дослідних тварин були статистично достовірно нижчими, ніж у контрольній групі, де не проводили лікування (табл. 1).

З отриманих результатів видно, що вміст гідропероксидів ліпідів у обох групах найвищий на 3 добу експерименту, коли відбувається пік запального процесу. Також у цей час спостерігається найбільша відмінність між показниками в контрольній і дослідній групах (у контрольній групі вміст ГПЛ був вищий на 10%). Отримані результати показують, що вже починаючи з 3-ї доби розвитку експериментального стоматиту досліджуваний рослинний препарат проявляє не тільки антиоксидантні властивості, а і виявлені нами раніше протизапальні властивості [8], полегшуючи перебіг запального процесу. У динаміці розвитку стоматиту різниця між контрольною і дослідною групами поступово знижується і на 10 добу експерименту вміст ГПЛ залишається на 5% вищим у контрольній групі, тоді як використання стоматологічної плівки з екстрактом Герані болотної приводило до нормалізації вмісту ГПЛ.

ТБК-активні продукти, зокрема малоновий діальдегід, є кінцевою сполукою, що утворюється при вільнорадикальному окисненні жирних кислот, і тому вважається прямим показником, що відображає рівень ПОЛ. Уміст МДА в нашому дослідженні ще більше відрізнявся в досліджуваних групах. Найбільша різниця, як і при дослідженні вмісту ГПЛ, спостерігалася на 3 (пік запального процесу) і 5 добу (завершення некролізу на виразковій поверхні) експерименту. На 3 добу вміст МДА в контрольній групі був вищим на 48%, а на 5 добу – на 55%, ніж у дослідній групі. Установлене нами різке зростання ТБК-активних продуктів є показником завершення процесу вільнорадикального uszkodження поліненасичених жирних кислот та випадінням їх із біліпідного шару клітинної мембрани [9], що призводить до їх руйнування. На 7 добу рівень МДА поступово знижувався в обох групах, проте на 10

добу експерименту видно, що в контрольній групі, де не проводили лікування, вміст МДА залишається на 12 % вищим, ніж у дослідній групі, де в цей час повністю нормалізуються процеси ПОЛ. Отже, отримані результати чітко показують, що екстракт Герані боло-

ної у формі стоматологічної плівки, пригнічуючи процеси ліпопероксидації, проявляє антиоксидантну дію, причому потужніша інгібувальна дія досліджуваного препарату виявляється на кінцевій стадії перекисного окиснення ліпідів, ніж на початковій.

Таблиця 1
Уміст гідропероксидів ліпідів і малонового діальдегіду в крові кроликів у динаміці перебігу експериментального стоматиту ($M \pm m$)

Термін	ГПЛ, ОДЕ/мл		МДА, мкмоль/мл	
	контрольна група	дослідна група	контрольна група	дослідна група
Початкові дані	0,370±0,003	0,371±0,004 $p_2 \geq 0,05$	2,22±0,01	2,21±0,09 $p_2 \geq 0,05$
3 доба	0,811±0,004 $p_1 \leq 0,05$	0,777±0,007 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	4,59±0,02 $p_1 \leq 0,05$	3,52±0,02 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
5 доба	0,645±0,005 $p_1 \leq 0,05$	0,624±0,006 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	4,03±0,02 $p_1 \leq 0,05$	2,79±0,01 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
7 доба	0,392±0,006 $p_1 \leq 0,05$	0,380±0,003 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \geq 0,05$	2,81±0,01 $p_1 \leq 0,05$	2,50±0,01 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
10 доба	0,389±0,002 $p_1 \leq 0,05$	0,372±0,003 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$	2,50±0,01 $p_1 \leq 0,05$	2,22±0,01 $p_1 \geq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$

Примітки: p_1 – коефіцієнт достовірності між початковими даними і даними на певний період спостереження в одній групі тварин;
 p_2 – коефіцієнт достовірності між експериментальними групами спостереження;
– статистично достовірна різниця.

ТБК-активні продукти, зокрема малоновий діальдегід, є кінцевою сполукою, що утворюється при вільнорадикальному окисненні жирних кислот, і тому вважається прямим показником, що відображає рівень ПОЛ. Уміст МДА в нашому дослідженні ще більше відрізнявся в досліджуваних групах. Найбільша різниця, як і при дослідженні вмісту ГПЛ, спостерігалася на 3 (пік запального процесу) і 5 добу (завершення некролізу на виразковій поверхні) експерименту. На 3 добу вміст МДА в контрольній групі був вищим на 48%, а на 5 добу – на 55%, ніж у дослідній групі. Установлене нами різке зростання ТБК-активних продуктів є показником завершення процесу вільнорадикального ушкодження поліненасичених жирних кислот та випадіння їх із біліпідного шару клітинної мембрани [9], що призводить до їх руйнування. На 7 добу рівень МДА поступово знижувався в обох групах, проте на 10 добу експерименту видно, що в контрольній групі, де не проводили лікування, вміст МДА залишається на 12 % вищим, ніж у дослідній групі, де в цей час повністю нормалізуються процеси ПОЛ. Отже, отримані результати чітко показують, що екстракт Герані боло-ної у формі стоматологічної плівки, пригнічуючи процеси ліпопероксидації, проявляє антиоксидантну дію, причому потужніша інгібувальна дія досліджуваного препарату виявляється на кінцевій стадії перекисного окиснення ліпідів, ніж на початковій.

Активізація процесів ПОЛ при експериментальному стоматиті призвела до різноманітних молекулярних змін як у зоні ушкодження, так і на рівні всього організму. Нагромадження продуктів порушеного метаболізму, деструктивних клітинних і тканинних структур, мікробних токсинів, гідропероксидів ліпідів та модифікованих білкових молекул у тканинах і рідинах організму призводить до ендогенної інтоксикації [10;11], основним показником якої в наш час вважають молекули середньої маси.

У динаміці розвитку захворювання найвищі показники вмісту МСМ у обох групах були зафіксовані на 3 добу експерименту, проте в дослідній групі вміст МСМ був на 13% нижчим, ніж у контрольній групі (табл.2).

Починаючи з 5 доби експерименту, вміст МСМ у дослідній групі почав різко знижуватися, тоді як у контрольній на 5 добу цей показник був вищим на 30%, на 7 добу – на 18% порівняно з дослідною групою. На 10 добу експерименту вміст МСМ у дослідній групі повністю нормалізувався, а в контрольній групі хоч незначно, але залишався вищим (на 2%).

Таблиця 2
Уміст молекул середньої маси в крові кроликів у динаміці перебігу експериментального стоматиту ($M \pm m$)

Термін	Група	
	контрольна	дослідна
Початкові дані	0,235±0,001	0,236±0,002 $p_2 \geq 0,05$
3 доба	0,336±0,003 $p_1 \leq 0,05$	0,306±0,003 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
5 доба	0,329±0,002 $p_1 \leq 0,05$	0,259±0,002 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
7 доба	0,282±0,002 $p_1 \leq 0,05$	0,240±0,002 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \leq 0,05$
10 доба	0,240±0,001 $p_1 \leq 0,05$	0,236±0,002 $p_1 \leq 0,05$ $p_2 \geq 0,05$

Примітки: p_1 – коефіцієнт достовірності між початковими даними і даними на певний період спостереження в одній групі тварин;
 p_2 – коефіцієнт достовірності між експериментальними групами спостереження;
* – статистично достовірна різниця.

Отже, отримані нами результати вказують на значну активізацію катаболічних процесів при експериментальному стоматиті, що призводить до порушень метаболізму і накопичення в тканинах продуктів, здатних викликати ендогенну інтоксикацію. Крім того, вміст МСМ є не тільки показником порушення білкового метаболізму й ендогенної інтоксикації, а й самі МСМ мають здатність посилювати патологічний процес,

набуваючи ролі вторинних токсинів, упливати на життєдіяльність усіх систем і органів [12;13]. Динаміка зміни вмісту МСМ показує, що застосування екстракту трави Герані болотної у формі стоматологічної плівки зменшує цей показник в усі досліджувані терміни та знижує ступінь інтоксикації в досліджуваних тварин.

Отже, використання стоматологічної плівки в лікуванні стоматиту дає змогу вивільнити лікарський засіб безпосередньо в зону ураження, що значно посилює терапевтичний ефект біологічно активних речовин фітокомплексу Герані болотної, а швидке розсмоктування плівки в ротовій порожнині забезпечує зручність у використанні. Ураховуючи ефективність, відсутність токсичності [8] і доступність досліджуваного лікарського засобу можна розглядати доцільність його використання в стоматологічній практиці для лікування стоматитів та інших запальних захворювань слизової оболонки ротової порожнини.

Висновки

При моделюванні стоматиту в кроликів спостерігали активацію процесів ПОЛ, на що вказують зростання вмісту ГПЛ і МДА та розвитку ендогенної інтоксикації, що виявляли за зростанням рівня маркера цього процесу – МСМ. Найвищі показники виявлені в пік запального процесу, на 3 добу експерименту. Використання екстракту трави Герані болотної у формі стоматологічної плівки показало зниження інтенсивності процесів ПОЛ та ендогенної інтоксикації в усі досліджувані терміни та значно швидшу нормалізацію вказаних порушень, що підтверджує антиоксидантні властивості досліджуваного препарату. Ефективність, зручність і доступність стоматологічної плівки з екстрактом Герані болотної доводять доцільність її застосування в лікуванні стоматитів.

Література

1. Кравченко Л. С. Зміни біохімічних та імунологічних показників факторів захисту ротової рідини при захворюваннях слизової оболонки порожнини рота / Л.С. Кравченко, Н.О. Бас // Український стоматологічний альманах. - 2011. - № 6. - С. 38-42.
2. Кордіак О.Й. Вивчення ролі процесів окиснення у виникненні пародонтиту в експерименті та обґрунтування способів медикаментозної корекції // Вісник проблем біології і медицини. - 2012, вип. 1(91). - С. 18-20.
3. Антиоксидантна активність рослинної сировини видів роду герань / [М.Ю. Хаврона, І.Л. Бензель, В.В. Огур-

4. Сулим Ю.В. Застосування гелів і плівок для лікування запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота і пародонта / Ю.В. Сулим, А.Ю. Бучковська, О.А. Петришин // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. - 2014. - № 4. - С. 72-79.
5. Мирончик В.В. Способ определения гидроперекисей липидов в биологических тканях. Авторское свидетельство №1084681 СССР, МКИ G № 33/48. (СССР). №3468369/2813; заявл. 08.07.82; опубл. 07.04.84. Бюл. №13.
6. Индекс антиоксидантной активности биоматериала / [В. Б. Мартынюк, С.Н. Ковальчук, М. Ф. Тымочко, Е. Н. Панасюк] // Лабораторное дело. - 1991. - № 3. - С. 19-22.
7. Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: методические рекомендации / [Габриэлян Н.И., Левицкий Э.П., Дмитриев Ф.Ф. и др.]. - М., 1985. - С. 11.
8. Дослідження гострої токсичності та протизапальної активності стоматологічної плівки на основі фітокомплексів герані болотної / [М.Ю. Хаврона, І.Л. Бензель, Р.М. Федін, О.Р. Піняжко] // Вісник стоматології. - 2016. - № 9(96). - С.23-27.
9. Паласюк Б.О. Перекисне окислення ліпідів та окисна модифікація білків у ротовій рідині в дітей середнього шкільного віку з хронічним катаральним гінгівітом / Б.О. Паласюк, О.І. Паласюк // Актуальні проблеми сучасної медицини. - 2012. - Т.12, вип. 4(40). - С. 50-54.
10. Макачук В. Динаміка зміни вільнорадикальних процесів і рівня ендогенної інтоксикації організму щурів за умов короткочасової оклюзії панкреатичної протоки / В. Макачук // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. - 2015, вип. 70. - С. 31-40.
11. Бондаренко В.В. Молекули середньої маси в тканинах слинних залоз при експериментальній опіковій хворобі / В.В. Бондаренко, Л.Г. Нетухайло, Д.С. Аветіков // Таврический медико-биологический вестник. - 2012. - Т. 15. - № 3, ч. 1(59). - С. 49-50.
12. Вміст молекул середньої маси та олігопептидів у крові та тканинах щурів за умов розвитку кислотного опіку стравоходу / Т.В. Коваль, Т.В. Ішук, Я.Б. Раєцька [та ін.] // Біологічні системи. - 2015. - Т. 7, вип. 2. - С. 143-148.
13. Сухомлин Т.А. Біохімічні зміни в тканинах легень за умов експериментальної опікової хвороби та їх корекція Ліпіном: дис. ... канд. мед. наук / Т.А. Сухомлин. - Полтава, 2015. - 118 с.

**Стаття надійшла
20.01.2018 р.**

Резюме

Розвиток стоматиту характеризується виникненням оксидативного стресу, що призводить до порушення метаболізму в слизовій оболонці ротової порожнини, внаслідок чого нагромаджуються токсичні продукти і розвивається ендогенна інтоксикація. З метою зниження інтенсивності процесів ліпопероксидації й ендогенної інтоксикації використовували екстракт трави Герані болотної у формі стоматологічної плівки. Такий спосіб лікування дозволяє локально вивільнити діючу речовину з лікарської форми і забезпечувати оптимальний терапевтичний ефект. У динаміці розвитку експериментального стоматиту показано, що екстракт трави Герані болотної у формі стоматологічної плівки проявляє антиоксидантні властивості, ефективно знижуючи інтенсивність процесів ліпопероксидації, особливо на завершальних стадіях, також виявлений позитивний вплив досліджуваного засобу на процеси ендогенної інтоксикації. Ураховуючи ефективність, нетоксичність і доступність досліджуваного засобу можна розглядати доцільність його використання в стоматологічній практиці.

Ключові слова: стоматологічна плівка, екстракт трави Герані болотної, антиоксидантні властивості, процеси ліпопероксидації, ендогенна інтоксикація.

Резюме

Развитие стоматита характеризуется возникновением оксидативного стресса, что приводит к нарушению метаболизма в слизистой оболочке ротовой полости, в результате чего накапливаются токсические продукты и развивается эндогенная интоксикация. С целью снижения интенсивности процессов липопероксидации и эндогенной интоксикации использовали экстракт травы Герани болотной в форме стоматологической пленки. Такой способ лечения позволяет локально высвободить действующее вещество из лекарственной формы и обеспечивать оптимальный терапевтический эффект. В динамике развития экспериментального стоматита показано, что экстракт травы Герани болотной в форме стоматологической пленки проявляет антиоксидантные свойства, эффективно

снижая интенсивность процессов липопероксидации, особенно на конечных стадиях, также обнаружено положительное влияние исследуемого средства на процессы эндогенной интоксикации. Учитывая эффективность, нетоксичность и доступность исследуемого средства, можно рассматривать целесообразность его использования в стоматологической практике.

Ключевые слова: стоматологическая пленка, экстракт травы Герани болотной, антиоксидантные свойства, процессы липопероксидации, эндогенная интоксикация.

UDC 616.31-002-092:612.015.11]-085.322:582.751]-092.4-9

CORRECTION OF PROCESSES OF LIPID PEROXIDATION AND ENDOGENIC TOXICITY WITH EXTRACT OF *GERANIUM PALUSTRE* HERB AS A DENTAL FILM IN CONDITIONS OF EXPERIMENTAL STOMATITIS

M.Yu. Khavrona, I.L. Benzel, R.M. Fedin, O.R. Pinyazhko, O.P. Khavrona

Danylo Halytsky Lviv National Medical University

Summary

The development of stomatitis is characterized by the appearance of oxidative stress, which is marked by an increase in the intensity of peroxide lipid oxidation processes, resulting in metabolic disturbance in oral mucosa. As a result, toxic substances accumulate and endogenous toxicity develops. Thus, correction of pathological processes in the oral mucosa with antioxidant medication enables to optimize the intensity of inflammation, shorten the period of catabolic phase and accelerate the regeneration. Extract of *Geranium palustre* herb as a dental film was used to reduce the intensity of processes of lipid peroxidation and endogenous intoxication. This treatment method enables to release an active substance from the drug locally and to provide optimal therapeutic effect. The efficacy of the experimental medication was studied in the dynamics of experimental ulcerative stomatitis development in rabbits. The experimental model of ulcerative stomatitis in animals was induced with a burn method. For the experiment, the animals were divided into 2 groups: control group, where treatment was not performed, and experimental group, where animals were treated by applying a dental film with *Geranium palustre* extract. The monitoring was conducted on the 3rd, 5th, 7th and 10th days of the experiment, which are key stages of healing.

During these periods, blood was taken under anesthesia from the auricular vein of each experimental animal. Dynamics of prooxidant processes was detected by the level of lipid hydroperoxides and malondialdehyde, and the level of endogenous toxicity by the content of middle molecules. Statistic processing of the obtained results of investigation was performed using personal computer with installed proper software package StatSoft Statistica 10. Reliable difference was considered $p < 0.05$.

It has been shown that extract of *Geranium palustre* herb, as a dental film, has antioxidant properties, which are effectively reducing the intensity of lipid peroxidation processes. It should be mentioned that the content of lipid hydroperoxides and final product of lipid peroxidation processes – malondialdehyde – in experimental animals' blood was statistically lower in all periods of investigation than in control group, where treatment was not performed. The obtained results show that higher inhibiting effect of experimental medication is marked during the final stage of lipid peroxide oxidation than during the initial stage.

As the result showed, the development of endogenous toxicity was observed in both groups and the highest indices were recorded at the peak of the inflammatory process on the third day of the experiment. Dynamics of middle molecules content shows that application of *Geranium palustre* extract, as a dental film, decreases this index during all investigated periods and reduces intoxication level in experimental animals.

Thus, application of dental film in stomatitis treatment enables to release medication directly into the damaged area, which significantly increases therapeutic effect of biologically active substances of *Geranium palustre* phytocomplex, and rapid absorption of the film in the oral cavity provides easy use. Considering efficacy, non-toxicity and availability of the investigated medication, the expediency of its application in dental practice for the treatment of stomatitis and other inflammatory diseases of the oral mucosa may be considered.

Key words: dental film, extract of *Geranium palustre* herb, antioxidant properties, processes of lipid peroxidation, endogenous toxicity.