

О.Г. Романенко

ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ БАЛАНС У КРОВІ І ТКАНИНАХ ЯСЕН ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГАСТРОДУОДЕНІТОМ

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»
кафедра дитячої стоматології
(зав. – д. мед. н., проф. І.В. Ковач)

Ключові слова: ясна,
експериментальний
гастроуденіт, антиоксидантна
система

Key words: gum, experimental
gastroduodenitis, antioxidant system

Резюме. С целью изучения начальных изменений в тканях пародонта при заболеваниях верхних отделов желудочно-кишечного тракта было проведено исследование оксидантно-антиоксидантного баланса в тканях дёсен и сыворотке крови крыс с экспериментальным гастроуденитом. Зарегистрировано повышение уровня малонового диальдегида в гомогенатах дёсен и сыворотке крови в 1,5 и 2 раза, уровня каталазы в 3,9 и 1,6 раза соответственно. Уровень супероксиддисмутазы в тканях десны и сыворотке крови у крыс с гастроуденитом не изменялся по сравнению с контрольной группой животных. Подобные изменения характерны для состояния гипоксии. Активация свободнорадикального окисления липидов в гомогенатах десны не сопровождалась усилением окислительной модификации белков, что проявляется практическим отсутствием достоверных изменений основных маркеров-альдегидфенилгидразонов и кетонфенилгидразонов. При повышении содержания малонового диальдегида в эксперименте в тканях дёсен и сыворотке крови у крыс наблюдается относительная компенсация и напряженность антипероксидной защиты, ведущая к образованию эндогенного кислорода, что позволяет поддерживать жизнедеятельность клеток в условиях гипоксии. С увеличением интенсивности окислительного стресса, очевидно, происходит декомпенсация антипероксидной защиты и частичная утрата барьерных функций эпителиальными клетками, что увеличивает возможность возникновения воспалительного процесса в десне.

Summary. To study the initial changes in the periodontal tissues in diseases of the upper gastrointestinal tract, the study of the oxidant-antioxidant balance in the gum tissue and serum of rats with experimental gastroduodenitis was conducted. Increase in MDA in homogenates of the gums and blood serum by 1,5 and 2 times, and the level of catalase by the 3,9 and 1,6 times, respectively was registered. The level of superoxide dismutase in gingival tissues and serum of rats with gastroduodenitis did not change as compared to control animals. Such changes are characteristic of hypoxia state. Activation of free radical oxidation of lipids in gum homogenates is not accompanied by increased oxidative modification of proteins, which is manifested by absence of significant changes in the main marker and aldehydphenylhydrazons ketonphenylhydrazons. When malondialdehyde content in the gum tissue a blood serum of rats increases in the experiment relative intensity and compensation of antiperoxid protection is observed, leading to the formation of endogenous oxygen that keeps cells activity in hypoxic conditions. With increase of intensity of oxidative stress, obviously, decompensation of antiperoxid protection and partial loss of the barrier function by epithelial cells occurs; this increases the possibility of inflammation development in the gums.

Високий рівень поширеності захворювань пародонту є результатом поєданого впливу багатьох факторів. У патогенезі захворювань пародонту провідна роль належить мікробній бляшці, але в порожнині рота здорової дитини існує

система захисних механізмів, що перешкоджають реалізації патогенного потенціалу мікроорганізмів. Супутні соматичні захворювання, що мають хронічний перебіг, знижують резистентність організму дитини, виснажують систему

антиоксидантного захисту (АОЗ). Доведено, що ослаблення антиоксидантного захисту та неконтрольована активність процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) є одними з провідних ланок патогенезу хвороб шлунково-кишкового тракту, стоматологічної патології та інших захворювань [1, 4, 5, 11]. Дослідники відзначають високу ураженість тканин пародонту у дітей з патологією верхніх відділів травного каналу, але до цього часу недостатньо висвітлено питання про стан перекисного окиснення ліпідів, окиснювальної модифікації білків (ОМБ) та антиоксидантної системи в слизовій оболонці ясен при поєднанні цих захворювань. Біохімічне дослідження тканин пародонту тварин з експериментальним відтворенням хронічного гастродуоденіту дозволяє з'ясувати причини початкових змін у тканинах ясен і екстраполювати їх на пацієнтів дитячого віку.

Мета дослідження: вивчити оксидантно-антиоксидантний баланс у крові і гомогенатах ясен щурів пубертатного віку з експериментальним гастродуоденітом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Модель хронічного гастродуоденіту відтворювалася на щурах пубертатного віку обох статей лінії Вістар масою 70-90 г (22 тварини). Контрольну групу склали 10 інтактних тварин. Лабораторним щурам протягом 40 діб вводили 50% розчин медичної жовчі інтрагастрально в кількості 1 мл на 100 г ваги тварини один раз на добу. У контрольній групі щурам інтрагастрально вводили стерильний фізіологічний розчин. При виконанні експерименту дотримувалися рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин відповідно до Європейської конвенції. Тварин утримували на звичайному раціоні в стандартних умовах віварію. Евтаназію тварин здійснювали

під тіопенталовим наркозом (20мг/кг маси тіла внутрішньоочеревинно) шляхом тотального кровопускання із серця. Гомогенати ясен отримували шляхом розтирання з товченим склом навіски тканини в 0,9% розчині NaCl з наступним центрифугуванням при 2500 g протягом 15 хвилин. Стан оксидантно-антиоксидантного балансу оцінювали за рівнем малонового діальдегіду (МДА) (І.Д. Стальна, Т.Г. Гарішвілі, 1977) [12] в модифікації М.С. Гончаренко та співавт., (1985) [2], а також за активністю супероксиддисмутази (СОД) (Е.В. Макаренко, 1988) [8] і каталази (М.А. Королюк та співавт., 1988) [7] в плазмі крові та гомогенатах ясен. Показники окисної модифікації білка в плазмі крові та гомогенатах ясен щурів визначали за методом В. Halliwell (1985) [14].

Статистична обробка цих досліджень проводилася з використанням ліцензійної програми STATISTICA 6.1. Визначали середню арифметичну величину (М), величину помилки середнього (m), критерій значущості (t) Стьюдента, ступінь достовірності відмінностей (p).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз стану перекисного окиснення ліпідів показав, що концентрація малонового діальдегіду в гомогенатах тканинах ясен щурів з експериментальним гастритом і дуоденітом збільшується в 1,5 рази (p < 0,01) порівняно з групою інтактних тварин (таблиця). Але активація вільнорадикального окиснення ліпідів у гомогенатах ясен не супроводжується посиленням окиснювальної модифікації білків, що проявляється практичною відсутністю достовірних змін основних маркерів ОМБ: альдегідфенілгідрозонів (АФГ), які є показниками фрагментації, і кетонфенілгідрозонів (КФГ), які є показниками агрегації білкової молекули.

Показники оксидантної та антиоксидантної активності у гомогенатах ясен щурів (М ± m)

Групи тварин	СОД (у.о./мг білка)	Каталаза (мкат/мг білка)	МДА (нмоль/мг білка)	АФГ (у.о./мг білка)	КФГ (у.о./мг білка)
Контрольна (n =10)	3,4±0,2	14,1±0,7	1,8±0,1	0,2±0,0	0,3±0,0
Експериментальна (n =22)	3,2±0,4 p=0,02	55,6±2,1 p<0,001	2,7±0,1 p<0,01	0,3±0,0 p<0,07	0,3±0,0 p=0,6

Примітка: p-достовірність показників порівняно з контрольною групою тварин

У той же час наше дослідження показало активацію антиоксидантної системи у відповідь на інтенсифікацію процесів ПОЛ. Активність каталази гомогенатів ясен щурів з експериментальним гастродуоденітом значно підвищувалася ($p < 0,001$). Рівень активності супероксиддисмутази (СОД) в експериментальній групі не мав достовірних відмінностей порівняно з контрольною групою. Дослідження сироватки крові показало, що вміст МДА у щурів з експериментальним гастритом і дуоденітом збільшується в 2 рази ($p < 0,01$) порівняно з групою інтактних тварин. Відповідно спостерігалось підвищення активності каталази до $12,3 \pm 0,6$ мкат / мг в експериментальній групі проти $7,6 \pm 0,4$ мкат / мг ($p < 0,01$) у контрольній групі тварин, що характерно для стану гіпоксії. Інші показники оксидантно-антиоксидантної активності сироватки крові в експериментальній і контрольній групах щурів достовірних відмінностей не мали. Підвищення вмісту малонового діальдегіду при одночасному підвищенні рівня каталази свідчить про відносну компенсацію і напруженість антипероксидного захисту. Очевидно, сигнальними посередниками в процесі підвищення активності антиоксидантних ферментів можуть бути продукти ПОЛ [9]. Деякі автори вважають, що первинній атаці АФК піддаються не ліпіди, а білки плазматичних мембран [4,13]. Однак стабільний зміст основних маркерів ОМБ у гомогенатах ясен і сироватці крові тварин при експериментальному гастродуоденіті не підтверджує цієї теорії. Як відомо, одну з перших ліній захисту клітин від агресивної дії вільних радикалів забезпечують ферменти – супероксиддисмутаза, каталаза, глутатіонзалежна пероксидаза та трансфераза, що видаляють органічні перекиси [3,5]. У той же час у захисті клітин від окиснювального стресу, викликаного високими концентраціями перекису водню, ключова роль належить каталазі. Встановлено, що накопичення в середовищі перекису водню веде до інактивації СОД [13]. При збереженій активності каталази активність СОД не пригнічується. У нашому випадку в тканинах ясен і сироватці крові активність СОД не змінена порівняно з контрольною групою, що свідчить про повну інактивацію утворених перекисів каталазою. Як показують

літературні дані, вільнорадикальні реакції, які відбуваються в організмі, безпосередньо ведуть до утворення ендogenous кисню [3, 4, 11]. При цьому підвищується активність каталази, а концентрація малонового діальдегіду знижується. Автори дійшли висновку, що пероксид водню не тільки проявляє окиснювальну дію, але й прямо бере участь у підтримці окиснювально-відновних процесів, які підвищують активність утилізації недоокиснених метаболітів. Таким чином, функціонування системи ПОЛ спрямовано на збільшення антиоксидантного потенціалу живої системи, підтримання в тканинах високого рівня кисню. Каталаза - це антиокиснювальний фермент, який не тільки виконує функції антирадикального захисту, усуваючи активні форми кисню і знімаючи їх токсичний вплив на клітинні мембрани, але й бере участь в ініціації оксигенації гемоглобіну. Розпад H_2O_2 до води і кисню в результаті реакції, що здійснюється каталазою, створює умови для оксигенації частини відновленого гемоглобіну [3, 10]. Таким чином, в умовах гіпоксії відбувається накопичення недоокиснених продуктів і, як наслідок, накопичення проміжних активних радикалів, що, у свою чергу, активізує вироблення каталази.

ВИСНОВКИ

1. При підвищенні вмісту МДА в експерименті в тканинах ясен і плазмі крові спостерігається відносна компенсація і напруженість антипероксидного захисту, яка призводить до утворення ендogenous кисню і оксигенації гемоглобіну.

2. При гіпоксії функціонування системи ПОЛ спрямоване на підтримку в тканинах достатнього рівня кисню, необхідного в аеробному енергетичному обміні. Зі збільшенням інтенсивності окисного стресу, очевидно, відбувається декомпенсація антипероксидного захисту і часткова втрата бар'єрних функцій епітеліальними клітинами, що збільшує можливість виникнення запального процесу в яснах.

3. Перспективи подальших досліджень ми бачимо у визначенні методів корекції оксидативного стресу в тканинах слизової оболонки ясен, що виникає на тлі гастродуоденальної патології та апробації цих методів у клініці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Белоклицкая Г.Ф. Возможности антиоксидантной коррекции перекисного окисления липидов при заболеваниях пародонта разной тяжести / Г.Ф. Белоклицкая // Соврем. стоматология. – 2000. – № 1. – С. 38–41.

2. Гончаренко М.С. Метод оценки перекисного окисления липидов / М.С. Гончаренко, А.М. Латинова // Лаб. дело.-1985.- №1.- С.60-61

3. Зинчук В.В. Роль кислородсвязующих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантно-

ного равновесия организма / В.В. Зинчук, М.В. Борисюк // Успехи физиол. наук. – 1999. – Т. 30, № 3. – С. 38–48.

4. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Лапкин, Е.Б. Меньщикова. – М.: Наука, Интерпериодика, 2001. – 343с.

5. Казимирко В.К. Антиоксидантная система и ее функционирование в организме человека / В.К. Казимирко, В.И. Мальцев // Здоровье Украины. – 2004. – № 98. – С. 40-45.

6. Коровина Н.А. Антиоксиданты при обострении хронических гастродуоденитов у детей / Н.А. Коровина, И.Н. Захарова, Е.В. Скоробогатова // Врач. – 2007. – №9. – С.79-81.

7. Королук М.А. Метод определения активности каталазы / М.А.Королук, Л.И.Иванова, И.Г. Майорова // Лаб. дело.-1988.- №1.- С.16-19.

8. Макаренко Е.В. Комплексное определение супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени / Е.В.Макаренко // Лаб. дело.-1988.- №11.- С.48-50.

9. Петрина С.Н. Роль липидов в адаптационных

реакциях организма на экстремальные воздействия / С.Н. Петрина, Л.В. Юшина // Патол. физиология. и эксперим. терапия. – 1989. – № 2. – С.51 - 53.

10. Подходы к пониманию механизмов образования эндогенного кислорода / М.Ф., Тимочко Я.И., Алексевич Л.И., Кобылинская Е.А Коваленко // Neuroxia Medical J. – 1996. – № 2. – С. 65.

11. Скулачев В.П. Кислород в живой клетке: добро или зло? / В.П. Скулачев // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии. – 1999. – № 1. – С. 12–18.

12. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д.Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С.66-68.

13. Чеснокова Н.П. Молекулярно-клеточные механизмы инактивации свободных радикалов в биологических системах / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи соврем. естествознания. – 2006. – № 7 – С. 29-36.

14. Halliwell B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J.M. Gutteridge. – Oxford: Clarendon Press, 1985. – 346p.

