

ПРООКСИДАНТНИЙ СТАН В ЯСНАХ ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ МАЛОЇ ІНТЕНСИВНОСТІ

Лахтін Ю.В.* , Романюк А.М.** , Кузенко Є.В.**

Харківська медична академія післядипломної освіти*; Сумський державний університет, медичний інститут **

Вступ. Одним з факторів впливу на стан здоров'я людини є несприятливий стан зовнішнього середовища. Особливе місце для теоретичної та практичної медицини посідають дослідження впливу на організм так званих хімічних факторів малої інтенсивності (в низьких дозах та концентраціях) [1], зокрема солі важких металів (СВМ). Проведені в цьому напрямку дослідження стосувалися в більшій мірі вивчення впливу окремих важких металів на стан різних систем та процесів в організмі, морфологічні зміни в тканинах. Проте найчастіше в реальних умовах одночасно на організм діє комбінація декількох важких металів. Тому токсичні ефекти, які виявляються при дослідженнях, є наслідком сумарної дії цих СВМ та їх різних комбінацій. Неодноразово звертаючись до цієї проблеми, нами було знайдено інформацію про вплив надлишку солей Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr на ультраструктуру остеобластів, будову, мінеральний обмін в кістках, тонку кишку, екзокринний апарат підшлункової залози, емаль зубів щурів та інше [2].

Останнім часом усе більшого визнання набула думка про участь важких металів у вільно-радикальних процесах, роль яких доведена при різних патологічних станах в організмі [3]. Відомо, що в органічних молекулах електрони на зовнішній оболонці розташовуються парами - одна пара на кожній орбіталі. Вільні радикали відрізняються від звичайних тим, що у них на зовнішній електронній оболонці є неспарений (поодинокий) електрон. Це робить радикали хімічно активними, оскільки радикал прагне або повернути собі відсутній електрон, відібравши його від оточуючих молекул, або віддати зайвий електрон. В обох випадках молекула-мішень модифікується. Особливо драматичні наслідки для мембранних структур клітин має реакція ланцюгового (перекисного) окислення ліпідів – ПОЛ. Негативна дія ПОЛ на біологічні мембрани обумовлена окисленням тіолових груп білків, збільшенням іонної проникності мембран і зниженням електричної міцності ліпідного бішару [4], що приводить до ушкодження спочатку на рівні мембран, а потім на рівні тканини (органу) і організму в цілому [5].

За даними літератури, різні комбінації СВМ викликають активацію вільно-радикальних процесів, зокрема перекисне окислення ліпідів, у результаті якого розвивається порушення цілісності мембранних структур [6, 7].

Так, в експерименті на щурах при вивченні впливу на стан зубів і тканин пародонту неорганічних й органічних токсикантів (Zn, Cd, Co, Fe, нітрати й нітрити Na, фенол, формальдегід і чотирьохлористий вуглець) на фоні поліфенольної недостатності було встановлено зниження активності антиоксидантної системи та активації продукта

ПОЛ малонового діальдегіду в гомогенатах ясен [8]. Проте з'ясовано, що накопичення продуктів ліпопероксидації має органоспецифічну спрямованість в залежності від комбінації металів і додаткових факторів негативного впливу [9].

Тому ми і поставили за мету нашого дослідження – вивчити процеси вільно-радикального окислення в яснах щурів за показниками ПОЛ при дії комбінації солей Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr.

Об'єкти та методи дослідження. Дослідження проводилося на 47 статевозрілих безпородних білих щурах-самцях з вихідною масою 180-200 г. Всі тварини були поділені на 2 групи: першу групу (n=26) становили контрольні щури, які отримували дистильовану воду. Тварини другої групи (n=21) отримували дистильовану воду з комбінацією СВМ: (ZnSO₄ x 7H₂O) – 5 мг/л, міді (CuSO₄ x 5H₂O) – 1 мг/л, заліза (FeSO₄) - 10 мг/л, марганцю (MnSO₄ x 5H₂O) - 0,1 мг/л, свинцю (Pb(NO₃)₂) – 0,1 мг/л, хрому (K₂Cr₂O₇) – 0,1 мг/л. У кожній групі тварин виводили з експерименту на 30, 60 та 90 добу. Під ефірним наркозом тварин декапітували, вилучали нижню щелепу, скелетували її, тканини ясен заморозували при температурі -20° С. Для оцінки інтенсивності перебігу процесу ПОЛ у гомогенатах ясен досліджували вміст первинних продуктів окислення вільних жирних кислот - дієнових кон'югат (ДК) та вторинних – малонового діальдегіду (МДА). Значення виражали в ммоль/кг. Біохімічні дослідження виконано в лабораторії біохімії Інституту стоматології АМН України (м. Одеса).

Статистичну обробку матеріалу проводили за параметричними критеріями (середнє значення – M, стандартна похибка – m), статистичну значущість відмінності між показниками двох незалежних груп - непараметричним критерієм (W-критерій Вілкоксона) за допомогою пакету статистичної програми AtteStat 10.8.4. for MS Excel. Статистично значущими вважали відмінності при p ≤ 0,05.

Під час експерименту лабораторних тварин утримували відповідно до правил, прийнятих Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, яких використовували для експерименту і наукових завдань (Страсбург, 1986 р.), принципів Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 р.р.), «Загальних етичних правил експериментів над тваринами», затверджених I Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р.

Результати та їх обговорення. Отримані дані свідчать, що середній вміст продуктів ПОЛ у тканинах ясен щурів за 3 місяці спостереження (таблиця) значно відрізняється між групами у бік

збільшення у тварин з хімічним навантаженням. Було встановлено, що первинні продукти (ДК) процесу ліпопероксидації зростають на 50,4% ($p=4E-06$), а вторинні (МДА) на 42,3% ($p=5E-06$) відносно групи контролю.

Таблиця. Середні значення продуктів ПОЛ в яснах щурів при вживанні СВМ ($M \pm m$)

Продукти ПОЛ	Контрольна група (n=26)	Основна група (n=21)	P
Дієнові кон'югати (ДК), ммоль/кг	3,77±0,20	5,67±0,30	4E-06
Малоновий діальдегід (МДА), ммоль/кг	11,31±0,51	16,09±0,57	5E-06

Якщо розглянути інтенсивність процесу ПОЛ за терміном вживання надлишку СВМ, то слід відзначити, що інтенсифікація ліпопероксидації реєструється вже після 1-го місяця дії хімічних речовин. Так, вміст ДК дорівнював 5,72±0,73 ммоль/кг проти 3,78±0,39 у контролі ($p=0,014$), через 2 місяці – 5,65±0,50 ммоль/кг проти 3,75±0,32 у контролі ($p=0,015$) та 5,65±0,45 через 3 місяці (контроль – 3,76±0,27, $p=0,005$). Як бачимо, рівень вмісту ДК статистично значуще більший на 51%, 50,7%, 50,3% відповідно контролю за терміном спостереження (рис.) і залишається незмінним в динаміці і в основній, і в контрольній групі.

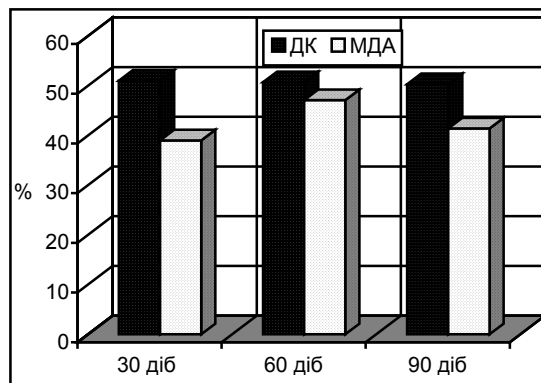


Рис. Вміст продуктів ПОЛ в яснах щурів в динаміці на тлі дії солей важких металів, % від групи контролю.

Аналогічна тенденція була відмічена і за кількісним вмістом кінцевого продукту перекисного окислення ліпідів – МДА. Він мав статистично значуще збільшення до 15,60±1,13 ммоль/кг проти контрольного 11,22±1,00 ($p=0,02$) через 1 місяць, до 16,03±0,99 проти 10,90±0,79 ($p=0,015$) через 2 місяці та 16,51±0,97 проти 11,68±0,75 ($p=0,006$) через 3 місяці. Незважаючи на ріст абсолютних значень, підвищення рівня МДА в яснах щурів при дії СВМ по відношенню до контролю не було однозначним (рис.). Так, після 1-го місяця дії забруднювачів МДА збільшився на 39%, 2-го – на 47,1% і 3-го – на 41,4%. Насамперед ми пов'язуємо цей факт з тим, що вміст МДА в яснах коливався і в групі контролю. Тим не менше, із збільшенням терміну дії хімічних речовин на тварин його рівень мав тенденцію до збільшення.

Таким чином, проведені дослідження показали, що при дії СВМ зростає інтенсивність процесів ПОЛ у тканинах ясен щурів. Якщо рівень підвищених ДК залишається постійним за весь час спостереження, то рівень МДА зростає з тривалістю

експерименту, тобто, йде його накопичення.

Тканини ясен є складовою пародонтального комплексу і ініціація запального процесу в пародонті починається саме з них, а вже потім поширюється на підлеглі тканини: пародонт, кісткову альвеолу, цемент кореня зуба.

На сучасному етапі розвитку стоматології сформульовано мембранну концепцію патогенезу пародонтиту. Проведені дослідження засвідчили, що генералізований пародонтит може виникнути при тривалій дії зовнішніх чинників, а порушення мембранного гомеостазу клітин є одним із ранніх етапів у його патогенезі [10]. Тобто, найбільш ранні та суттєві зміни при пародонтиті з'являються на рівні мембранних систем [10, 11]. Саме тому в патогенезі пародонтиту приділяється особлива увага процесам пероксидації ліпідів [11, 12].

Згідно сучасним уявленням, клітинні мембрани складаються з молекулярного ліпідного бішару, в якому молекули ліпідів орієнтовані назовні полярними гідрофільними голівками, а всередину – неполярними гідрофобними хвостами, і білків, розкиданих по мембрані без певної орієнтації. Оскільки значну частину мембран складають ліпіди, вплив патогенного агента саме на цей компонент може призвести до розвитку глибокої патології біомембран і загибелі клітини. Арахідонова кислота – важливий компонент фосfolіпідів мембран різних клітин – є джерелом утворення трьох груп сполук (ейкозаноїдів), які впливають на розвиток запалення: простагландинів, лейкотрієнів та тромбоксанів. Особливо важливе значення при гострому запаленні мають протилежно діючі простагланлін і тромбоксан А2. Простагланлін є підвидом простагландинів, продукується ендотеліальними клітинами мікросудин пародонту у відповідь на пошкодження і гальмує агрегацію тромбоцитів, підтримуючи рідкий стан крові, і, крім цього, викликає вазодилатацію. Тромбоксан А2, навпаки, утворюється тромбоцитами при їх активації, викликає агрегацію пластинок, секрецію інших медіаторів з їх гранул і обумовлює вазоконстрикцію мікросудин. Лейкотрієни викликають вазоконстрикцію мікросудин, підвищення проникності їх стінок, яке особливо значне в венулах. Послідовний процес гіпероксії – гіпоксії в пародонті викликає ланцюг деструктивних змін. До того ж, посилене утворення простагландинів при інтенсифікації ПОЛ сприяє стимулюванню резорбційних процесів у кістковій альвеолі за рахунок підвищення функціональної активності остеокластів [11, 13].

За результатами нашого дослідження під дією комбінації солей Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr вміст малонового діальдегіду та дієнових кон'югат у тканинах ясен щурів зростав до 39-51%, що свідчить про посилення процесів ПОЛ і як вінець пародонтального ушкодження – деструкцію альвеолярного відростка щелеп з наступним послабленням опорно-утримуючого апарату зубів і їх втратою. Ці дані є логічним продовженням наших попередніх досліджень і збігаються з ними – відмічається виражена деструкція альвеолярного відростка у щурів під дією вказаних СВМ [14], та реєструється більша поширеність захворювань пародонту серед населення, яке мешкає в умовах гіпермікроелементозу [15].

Висновки. Таким чином, аналіз отриманих даних показав, що при дії комбінації солей Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr відбувається посилення процесів перекисного окислення ліпідів бішару мембран за рахунок підвищення вмісту ДК на 50,3-51% і МДА на 39-47,1% в яснах шурів, які підсилюють деградацію ліпідної фази мембран. Підвищена активність процесу пероксидації ліпідів у тканинах ясен при дії солей важких металів може виступати як основною ланкою в патогенезі пародонтальної па-

тології, так і наслідком виниклого патологічного стану.

Перспективи подальших досліджень. Інтенсифікація процесів ліпопероксидації під впливом солей важких металів може обумовлюватись двома шляхами: підвищення ПОЛ за умов пригнічення системи антиоксидантного захисту (АОЗ) та підвищення ПОЛ при фізіологічному функціонуванні АОЗ. Для розкриття цього механізму планується вивчити стан системи антиоксидантного захисту.

ЛІТЕРАТУРА:

1. **Трахтенберг И. М.** Дискуссионные вопросы о критериях нормы, адаптации, предпатологии и патологии при воздействии на организм экзогенных химических веществ / И. М. Трахтенберг, В. А. Тычинин // Проблемы медицины труда. - К, 1998. - 44-51 с.
2. Морфофункціональні зміни внутрішніх органів та скелета під впливом несприятливих ендо- та екзогенних чинників і шляхи їх корекції : звіт про НДР (закл.) 24.12.2010 / Сумський державний університет ; керівн. А.М. Романюк ; викон. : Т. О. Бондаренко, С. В. Чирва [та ін.]. – Суми, 2010. – 122 с. – № держреєстрації 0109U001388.
3. **Andersen J. K.** Oxidative stress in neurodegeneration: cause or consequence? / J. K. Andersen // Nature Reviews Neuroscience. - 2004. - Vol.5. - P.18-25.
4. **Владимиров Ю. А.** Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соборский образовательный журнал. - 2000. - Т. 6, № 12. - С. 13-19.
5. Окислительный стресс: прооксиданты и антиоксиданты / Е. Б. Меньшикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков [и др.]. - М., 2001. - 556 с.
6. Mechanisms underlying iron and copper ions toxicity in biological systems: Pro-oxidant activity and protein-binding effects / M. E. Letelier, S. Sánchez-Jofré, L. Peredo-Silva [et al.] // Chem Biol Interact. - 2010 -Vol. 188, № 1. - P. 220-227.
7. **Stacey N. H.** Comparison of the effects of metals on cellular injury and lipid peroxidation in isolated rat hepatocytes / N. H. Stacey, C. D. Klaassen // J. Toxicol Environ Health. - 1981 -Vol. 7, № 1. - P. 139-147.
8. **Ковач І. В.** Роль екотоксикантів та недостатності аліментарних фітоадаптогенів у виникненні основних стоматологічних захворювань у дітей : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук : спец. 14.01.22 "Стоматологія" / І. В. Ковач. - О., 2006. - 32 с.
9. Комбинированные воздействия внешнего облучения в малой дозе и загрязнителей питьевой воды на прооксидантные и антиоксидантные процессы в организме / А. И. Дворецкий, Е. Г. Егорова, Е. Ю. Зайченко, Е. В. Севериновская // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. - 2002. - Т. 10, № 2. - С. 174-180.
10. **Зубачик В. М.** Мембранні механізми патогенезу та терапії запальних процесів пародонту : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня д-ра мед. наук / В. М. Зубачик. - Л, 2005. - 34 с.
11. **Воскресенский О. Н.** Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита / О. Н. Воскресенский, Е. К. Ткаченко // Стоматология. - 1991. - № 4. - С. 5-10.
12. Oxidative Stress, Systemic Inflammation, and Severe Periodontitis / F. D' Aiuto, L. Nibali, M. Parkar [et al.] // J. Dent. Res. - 2010 -Vol. 89, № 11. - P. 1241-1246.
13. **Грудянов А. И.** Этиология и патогенез воспалительных заболеваний пародонта / А. И. Грудянов, Е. В. Фоменко. – М : МИА, 2010. - 96 с.
14. **Лахтін Ю. В.** Морфометрична характеристика зубоальвеолярних блоків шурів при експериментальному комбінованому гіпермікроелементозі / Ю. В. Лахтін, В. Ф. Куцевляк, А. М. Романюк // Актуальні питання клінічної медицини. Актуальні проблеми діагностики та лікування хірургічних хвороб. Актуальні питання теоретичної медицини : матеріали міжнародних науково-практичних конференцій студентів, молодих вчених, лікарів та викладачів. – Суми : СумДУ, 2009. - С. 203-204.
15. **Куцевляк В. Ф.** Захворювання тканин пародонту у дорослого населення, яке мешкає в умовах нестійкого антропогенного мікроелементозу / В. Ф. Куцевляк, Ю. В. Лахтін // Вісник стоматології. – 2010. - № 1. - С. 15-18.

Лахтін Ю. В., Романюк А. Н., Кузенко Е. В. Прооксидантное состояние в десне крыс при действии химических факторов малой интенсивности // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 94-96.

Изучено состояние перекисного окисления липидов в гомогенатах десны крыс при действии комбинации солей Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr. Установлено, что уровень диеновых конъюгат вырос на 50,3-51%, малонового диальдегида на 39-47,1% по отношению к контрольной группе. Интенсификация процесса ПОЛ может быть как основным звеном патогенеза пародонтита, так и следствием возникшего патологического процесса в пародонте.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, соли тяжелых металлов, десна.

Лахтін Ю. В., Романюк А. М., Кузенко С. В. Прооксидантний стан в яснах шурів при дії хімічних чинників малої інтенсивності // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 94-96.

Вивчено стан перекисного окислення ліпідів в гомогенатах ясен шурів при дії комбінації солей Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr. Встановлено, що рівень діенових кон'югат виріс на 50,3-51%, малонового діальдегіду на 39-47,1% по відношенню до контрольної групи. Інтенсифікація процесу ПОЛ може бути як основною ланкою патогенезу пародонтиту, так і наслідком виниклого патологічного процесу в пародонті.

Ключові слова: перекисне окислення ліпідів, солі важких металів, ясна.

Lakhtin Yu. V., Romanuk A. M., Kuzenko Ye. V. Prooxidant state in the gingiva of rats under the influence of chemical factors of low intensity // Український медичний альманах. – 2011. – Том 14, №3. – С. 94-96.

The state of lipid peroxidation in homogenates of rats under the action of the gum combination of salts, Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr. Established that the level of diene conjugates increased by 50,3-51%, malondialdehyde in 39-47,1% relative to the control group. Intensification of LPO may be the main link of pathogenesis of periodontitis, and the consequence of a pathological process arising in periodontium.

Key words: lipid peroxidation, heavy metal salts, gingiva.

Надійшла 15.02.2011 р.
Рецензент: проф. В.І.Лузін