

УДК 616.311.-092:615.32:543.272.3:576.31/36:616.334-092.9

*Е.Г. Романенко*

## **ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ АНТИОКСИДАНТА И ПРЕПАРАТА ДОНОРА ОКСИДА АЗОТА В МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ДЕСНЕ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГАСТРОДУОДЕНИТЕ**

ГУ «Днепропетровская медицинская академия МЗ Украины»

Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что одной из причин поражения тканей пародонта является нарушение функции различных органов и систем, в том числе и желудочно-кишечного тракта [3, 11]. Анатомо-физиологическая общность тканей пародонта и пищеварительного тракта создает предпосылки для вовлечения пародонта в патологический процесс при гастроэнтерологических заболеваниях [5]. Одним из важнейших пусковых звеньев патогенеза заболеваний пародонта является оксидативный стресс. Активация свободнорадикального окисления в десне и более глубоких структурах пародонта может стать одним из факторов, подавляющих резистентность последнего к неблагоприятным воздействиям, что создает условия для практически беспрепятственного распространения воспалительного процесса.

Имеющиеся к настоящему времени данные позволяют считать, что, как в реакциях окислительного стресса, так и в механизмах антиоксидантной защиты принимает участие оксид азота. Физиологический эффект взаимодействия активных форм кислорода и NO остается предметом активных дебатов. В ряде работ *in vitro* было продемонстрировано, что NO может фактически замедлять пероксидное окисление липидов, действуя как сквенджер кислородных радикалов. Этот своеобразный "антиоксидантный" эффект NO позволил некоторым исследователям предположить, что взаимодействие между супероксиданионом и оксидом азота может быть биологически важным путем детоксикации потенциально опасных активных форм кислорода [9,12]. В тоже время, есть и противоположные данные, свидетельствующие о том, что оксид азота способен усиливать эффекты супероксидного радикала и других активных форм кислорода [2,4,13,14], роль которых в патогенезе заболеваний пародонта может считаться доказанной. Однако нет единого мнения о роли и взаимосвязи про- и антиоксидантных процессов и системы оксида азота в развитии заболеваний пародонта на фоне соматической патологии. Решение этого вопроса может стать основой для разработки и использования методов, направленных на регуляцию этих взаимодействий в организме, что может оказать

ся весьма эффективным способом предупреждения и лечения заболеваний полости рта, связанных с изменением продукции NO и нарушением антиоксидантного статуса.

Цель исследования: изучить состояние системы антиоксидантной защиты в сыворотке крови и тканях десны в условиях модуляции продукции оксида азота при экспериментальном гастродуодените.

### **Методика исследования.**

Модель хронического гастродуоденита воспроизводили на неполовозрелых крысах обоего пола линии Вистар массой 70-90 г (45 животных). Контрольную группу составили 10 интактных животных. Лабораторным крысам в течение 40 дней вводили 50% медицинскую желчь интрагастрально в количестве 1 мл на 100 г веса животного один раз в сутки. Эксперимент имел два этапа: первый - введение желчи в течение 30 дней, без ограничения суточного рациона, второй - введение желчи в течение 10 суток, с ограничением суточного рациона на 1/3[15]. Первый этап моделировал постепенные расстройства моторной функции и начальные морфологические изменения в верхних отделах пищеварительной системы, второй - обострение хронического гастрита и дуоденита. В контрольной группе крысам интрагастрально вводили стерильный физиологический раствор.

Для проведения лечебных мероприятий крысы экспериментальной группы были разделены на четыре подгруппы. Лекарственные препараты животные получали в течение 14 дней. Дозировку препаратов рассчитывали, исходя из веса животного. Дозировки из расчета на сутки на 1 кг веса крысы: кальций-Д3 Никомед (кальций карбонат - 74 мг/кг; витамин Д3 -11,75 мг/кг), альтан- 3 мг/кг, цитрагинин- 50 мг/кг.

Препараты вводили интрагастрально, в суточной дозе однократно. Подгруппа А получала препарат альтан («Altan», производитель ЗАО НПЦ "Борщаговский химико-фармацевтический завод", Украина) - комплексный препарат из веществ полифенольной природы, полученный из соплодий ольхи, подгруппа С- цитрагинин («Citrarginine», производитель «Zambon France» (Франция) - со-

единение двух компонентов природного происхождения: аргинина и бетаина, подгруппа АС- альтан и цитраргинин, подгруппа АСС - альтан, цитраргинин и кальций-Д3 Никомед («Calcium-D3 Nuscomed», производитель «Никомед Фарма АС», Норвегия). Животных содержали на обычном рационе в стандартных условиях вивария. Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20мг/кг массы тела внутривенно) путем тотального кровопускания из сердца. Гомогенаты десны получали путем растирания с толченым стеклом навески ткани в 0,05М Трис-НСI буфере (рН 7,4) с последующим центрифугированием при 2500g в течение 15 минут. Образование NO оценивали по суммарному уровню нитритов и нитратов (NO<sub>x</sub>) в сыворотке крови спектрофотометрическим методом по реакции Грисса (Поливода С.М., 2001) [8] с предварительной конверсией нитратов в нитриты. Состояние оксидантно-антиоксидантного баланса оценивали по уровню малонового диальдегида (МДА) (И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977) [10] в модификации М.С. Гончаренко и соавт., (1985) [1], а также по активности супероксиддисмутазы (СОД) (Е.В. Макаренко, 1988) [7] и каталазы (М.А. Королюк и соавт., 1988) [6] в плазме крови и гомогенатах десен.

### Результаты и обсуждение.

Результаты исследования (табл. 1) показали, что уровень стабильных метаболитов NO в гомогенатах десны крыс с гастродуоденитом достоверно снижался по сравнению с показателем в группе интактных животных, что свидетельствует об ухудшении кровоснабжения и развитии трофической недостаточности в тканях десны. В то

же время в плазме крови крыс с гастродуоденитом количество метаболитов оксида азота резко увеличивалось, что свидетельствует об их перераспределении в организме для улучшения кровоснабжения тканей и органов, особенно чувствительных к гипоксии.

Известно, что при физиологической концентрации оксид азота может тормозить процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), выступая в роли антиоксиданта [4]. Это предопределяет тесную регуляторную связь системы NO с окислительным метаболизмом. Анализ состояния перекисного окисления липидов показал, что концентрация МДА в гомогенатах десен крыс с экспериментальным гастритом и дуоденитом достоверно повышается по сравнению с группой интактных животных. В то же время наше исследование показало активацию антиоксидантной системы в ответ на интенсификацию процессов ПОЛ. На фоне повышения активности каталазы в гомогенатах десны крыс экспериментальной группы уровень СОД практически не различался с показателем контрольной группы, что свидетельствует о полной инактивации образующихся перекисей каталазой. В то же время исследование сыворотки крови показало, что содержание МДА у крыс с экспериментальным гастритом и дуоденитом снижается 2 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой интактных животных на фоне повышения активности каталазы. Снижение содержания МДА в сыворотке крови при одновременном повышении уровня каталазы подтверждает адаптацию организма в условиях заболевания.

Таблица 1

Показатели оксидантной и антиоксидантной активности в плазме крови и гомогенатах десны крыс (M±m)

Группы животных	СОД (у.о./мг белка)		Каталаза (мкат/мг белка)		МДА (нмоль/мг белка)		Метаболиты NO (мкмоль/л)	
	плазма крови	гомо генаты	плазма крови	гомо генаты	плазма крови	гомо генаты	плазма крови	гомо генаты
К (n=10)	0,20±0,01	3,43±0,22	6,83±1,21	14,12±0,73	2,00±0,10	1,51±0,11	2,22 ± 0,20	134,90 ± 3,41
Э (n=6)	0,20±0,02	3,22±0,41	8,84±0,53 p<0,05	55,62±2,11 p<0,001	1,01±0,10 p<0,05	2,72±0,12 p<0,05	37,64 ± 7, 31 p<0,001	49,32 ± 3,24 p<0,001
Э/Л								
А (n=10)	0,17±0,01	3,12±0,28	7,34±0,42	59,81±5,79 p<0,001	0,81±0,01 p<0,05	1,99±0,21	4,57±0,43 p<0,05	35,37±1,21 p<0,001
С (n=11)	0,15±0,04	3,16±0,21	14,08±1,32 p<0,05	57,32±4, 93 p<0,001	0,99±0,07 p<0,05	4,93±0,15 p<0,01	27,17±0,85 p<0,001	37,35±3,48 p<0,001
АС (n=10)	0,21±0,02	3,10±0,4	8,45±0,32	54,44±1,72 p<0,001	1,84±0,36	1,22±0,19	17,08±0,56 p<0,01	64,17±2, 32 p<0,05
АСС (n=8)	0,22±0,04	3,53±0,34	10,65±0,91 p<0,05	53,26±9,32 p<0,001	1,23±0,13	2,21±0,31	27,17±1,12 p<0,001	125,80±12, 65

Примечание: группы животных: К-контрольная; Э-экспериментальная; Э/Л-экспериментальные подгруппы с применением лечения; p – достоверность показателей по сравнению с контрольной группой животных.

повышение содержания МДА в тканях десны при одновременном повышении уровня каталазы говорит об относительной компенсации и напряженности антипероксидной защиты. Дефицит NO,

даже на фоне значительного повышения содержания каталазы, способствует двукратному росту содержания МДА в тканях десны. Прояснить роль NO в оксидантно-антиоксидантном балансе в

тканях десны и сыворотке крови крыс возможно, анализируя результаты биохимических анализов после проведенного лечения. В группе А исследование показало дальнейшее повышение уровня каталазы в тканях десны на фоне нормализации содержания фермента в крови. Уровень МДА в сыворотке крови несколько снизился, в тканях десны оставался достаточно высоким. Уровень оксида азота значительно снизился в крови по сравнению с экспериментальной группой, хотя ещё достоверно превышал уровень контрольной группы. В тканях десны наблюдалось дальнейшее снижение уровня оксида азота, свидетельствующее о хронической гипоксии. В группе С монотерапия цитрагенином привела к двукратному повышению содержания МДА в тканях десны, что свидетельствовало об усилении окислительных процессов при восстановлении кровоснабжения в десне. В плазме крови содержание метаболитов оксида азота оставалось высоким, что подтверждало воспалительный процесс в слизистой оболочке желудка и двенадцатиперстной кишки. В тканях десны содержание метаболитов NO было достоверно ниже нормы, что свидетельствовало о неполном восстановлении трофики десны.

В группе АС содержание МДА в плазме крови и тканях десны не имело достоверных отличий от показателя контрольной группы. Уровень метаболитов NO в плазме крови достоверно снизился, а в десне повысился по сравнению с результатами экспериментальной группы, что свидетельствовало о купировании воспалительного процесса в пищеварительном тракте и постепенном восстановлении микроциркуляции в десне. Интересными оказались результаты применения лечебного комплекса в группе АСС. На фоне высокой активности каталазы и высокого содержания метаболитов NO в сыворотке крови и десне уровень МДА в гомогенатах достоверно превышал показатель группы контроля. Очевидно, применение кальция вызывает сужение сосудов вразрез вазодилатирующему эффекту цитрагенина и как следствие восстановление микроциркуляции происходит неравномерно. Полученные результаты свидетельствуют, что сочетанное применение кальция и цитрагенина активирует синтез оксида азота с увеличением количества его стабильных метаболитов. Одновременно наблюдается нарушение прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону активации свободнорадикальных процессов в тканях десны.

Наше исследование показало, что постепенное усиление синтеза оксида азота способствует снижению образования МДА на фоне подъёма активности каталазы. В тоже время резкое повышение содержания NO в тканях десны после продолжительной гипоксии ведёт к активации окислительного стресса. Причинами биохимических нарушений в десне в постгипоксический реперфузионный период является неполное и неравномерное восстановление кровоснабжения тканей с интенсификацией перекисного окисления

липидов. Препараты кальция, с одной стороны, способствуют усилению синтеза NO и процессам вазодилатации, с другой стороны, вызывают вазоконстрикцию и тромбообразование, что замедляет восстановление трофики десны и регенерацию эпителия. После анализа результатов исследования предполагаем, что антиоксидант в сочетании с препаратом-донором оксида азота могут действовать как первая линия обороны от окислительного стресса при реперфузии в десне. Назначение препаратов кальция следует отложить до полного восстановления микроциркуляции в десне. При хронических гастродуоденитах в качестве антацидного средства следует применять препараты, не содержащие кальций, с целью предупреждения дистрофических процессов в тканях десны.

### Литература

1. Гончаренко М.С. Метод оценки перекисного окисления липидов / М.С.Гончаренко, А.М. Латина //Лабораторное дело. - 1985. - №1. - С.60-61.
2. Гузенко В.Е. Окислительный стресс при сахарном диабете и его фармакологическая коррекция / Гузенко В.Е., Макарова Л.М., Погорелый В.Е. // Российский педиатрический журнал. - 2010. - № 5. - С. 42-49.
3. Метаболический профиль крови и слюны при гастродуоденальных заболеваниях у детей / [Е.Ю. Егорова, А.П. Беляков, Е.Е. Краснова, В.В. Чемоданов] // Вестник ИвГМА. - 2005.- Вып. 3.- С. 13-19.
4. Зенков Н.К. Окислительный стресс. Биохимические и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Лапкин, Е.Б. Меньщикова. - М.: Наука / Интерпериодика, 2001. - 343 с.
5. Коморбидность болезней пародонта и желудочно-кишечного тракта /О.В. Еремин, А.В. Лепилин, И.В. Козлова [и др.] //Саратовский научно-медицинский журнал. - 2009. - Т. 5, № 3. - С. 393-398.
6. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова //Лабораторное дело. - 1988. - №1. - С.16-19.
7. Макаренко Е.В. Комплексное определение супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени / Е.В. Макаренко //Лабораторное дело. - 1988. - №11. - С.48-50.
8. Поливода С.М. Спосіб визначення оксиду азоту /С.М. Поливода, О.О.Черепок, О.В. Войтович //Промислова власність. - 2001. - №7.- С.36.
9. Серая И.П. Современные представления о биологической роли оксида азота / И.П. Серая, Я.Р. Нарциссов //Успехи современной биологии. - 2002. - Т.122, №3. - С.249-258.
10. 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.

11. Цимбалистов А.В. Патологические аспекты сочетанной патологии полости рта и желудочно-кишечного тракта /А.В.Цимбалистов, Н.С.Робакидзе // Стоматология для всех. - 2005. - №1. - С.28-34.

12. Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity/ J.D.Laskin, D.E.Heck, C.R.Gardner [and other] //Antioxidants & redox signalling. – 2001. – №3 (2). – P.261–271.

13. Huie R.E. The reaction of nitric oxide with superoxide / R.E. Huie, S. Padmaja //Free Radical Res. Commun. - 1993. - Vol. 18. - P.195-199.

14. The toxicology of inhaled nitric oxide [ B. Weinberger, D. L. Laskin, D. E. Heck, J. D. Laskin] // Toxicol. Sci. - 2001. - Vol. 59. - P. 5-16.

15. Декларацийний патент на корисну модель 78097 U, МПК (2013) G09B 23/28. Спосіб моделювання хронічного гастродуоденіту в експерименті / Романенко О.Г., Мамчур В.Й., Руденко А.І. [та ін.] - № u201209763; заявл. 13. 08.12; опубл. 11.03.13, Бюл. № 5. - 8 с.

**Стаття надійшла  
3.07.2013 р.**

#### Резюме

Изучено состояние системы антиоксидантной защиты в сыворотке крови и тканях десны в условиях модуляции продукции оксида азота при экспериментальном гастродуодените. Исследование показало активацию антиоксидантной системы в ответ на интенсификацию процессов ПОЛ. Постепенное повышение синтеза оксида азота при лечении снижает образование малонового диальдегида на фоне подъёма активности каталазы, резко повышает содержание NO в тканях десны и после продолжительной гипоксии ведёт к активации окислительного стресса. Причинами биохимических нарушений в десне в постгипоксический восстановительный период является неполное и неравномерное восстановление кровоснабжения тканей с интенсификацией перекисного окисления липидов.

**Ключевые слова:** оксид азота, антиоксидантная защита, десна, гастродуоденит.

#### Резюме

Вивчено стан системи антиоксидантного захисту в плазмі крові та тканинах ясен в умовах модуляції продукування оксиду азоту при експериментальному гастродуоденіті. Дослідження показало активацію антиоксидантної системи у відповідь на інтенсифікацію процесів ПОЛ. Поступове посилення синтезу оксиду азоту при лікуванні знижує утворення малонового діальдегіду на тлі підйому активності каталази, різко підвищує вміст NO в тканинах ясен і після тривалої гіпоксії веде до активації окисного стресу. Причинами біохімічних порушень у яснах у постгіпоксичний відновний період стає неповне і нерівномірне відновлення кровопостачання тканин з інтенсифікацією перекисного окислення ліпідів.

**Ключові слова:** оксид азоту, антиоксидантний захист, ясна, гастродуоденіт.

#### Summary

It was studied the state of the antioxidant defense system in blood plasma and gum tissues in condition of modulation production of nitric oxide in experimental gastroduodenitis. The study showed an activation of antioxidant system in response to the intensification of lipid peroxidation. Gradual increase of nitric oxide synthesis for the treatment reduces the formation of malondialdehyde against lifting catalase activity, sharp increase of NO in the gingival tissues after prolonged hypoxia leads to the activation of oxidative stress. The reasons for biochemical abnormalities in the gums in posthypoxic recovery period are incomplete and uneven recovery of tissue blood supply to the intensification of lipid peroxidation.

**Key words:** nitric oxide, antioxidant protection, gum, gastroduodenitis