

УДК 616.314.17-092.18 : 577.12

Ляшенко Л.І., Денисенко С.В., Костенко В.О.

## РОЛЬ ТРАНСКРИПЦІЙНОГО ЯДЕРНОГО ФАКТОРА КВ У МЕХАНІЗМАХ ПОРУШЕНЬ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ І ДЕЗОРГАНІЗАЦІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

У експерименті на 30 білих щурах досліджено роль NF-κB у механізмах порушень вільнорадикальних процесів і стану сполучнотканинних структур пародонта при моделюванні метаболічного синдрому (МС). Виявлено, що введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діаміну) за цих умов знижує сумарну активність NO-синтази та концентрацію продуктів окиснення NO – нітрит-йонів. Показано, що активація NF-κB є важливою ланкою патогенезу декомпенсованого вільнорадикального окиснення ліпідів, колагенолізу та деполімеризації протеогліканів у тканинах пародонта. Введення JSH-23 знижує рівень утворення супероксидного аніон-радикала електронно-транспортними ланцюгами мітросом і мітохондрій, зменшує утворення вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів, підвищує антиоксидантний потенціал (у м'яких тканинах пародонта), зменшує вміст вільного оксипроліну та глікозаміногліканів (у м'яких і кістковій тканинах пародонта).

Ключові слова: метаболічний синдром, ядерний фактор κB, пародонт, пероксидне окиснення ліпідів, антиоксидантна система, біополімери сполучної тканини.

Робота є фрагментом НДР "Кисень- та NO-залежні механізми ушкодження внутрішніх органів та їх корекція фізіологічно активними речовинами" (№ держреєстрації 0108U010079).

Відомо, що серед хворих з ознаками метаболічного синдрому (МС) велике поширення мають запально-дистрофічні захворювання пародонта [4].

В останні роки висунуто припущення, що загальною ланкою, яка об'єднує всі компоненти МС та призводить до інсулінорезистентності, ліпотоксичності, системної гіперцитокінемії та артеріальної гіпертензії є порушення сигналізації за участю ядерного фактора κB (NF-κB) [1]. Останній є потужним транскрипційним фактором, який активує більшість прозапальних механізмів у патогенезі хвороб, асоційованих з віком (атеросклерозом, генералізованим пародонтитом) [9,15,17], у т.ч. експресію індукцибельної NO-синтази (NOS) [9].

NF-κB є гетеродимерним комплексом, що складається з 2-х субодиниць. До складу родини входить 5 гомологів: p50 (та його попередник p105), p52 (та його попередник p100), p65(RelA), c-Rel та RelB. За відсутності стимулів (цитокінів, активних форм кисню, факторів росту, вірусів) NF-κB знаходиться у цитоплазмі у неактивному вигляді, перебуваючи в комплексі з білками родини IκB [10]. Активація специфічної IκB кінази та наступна протеосомна деградація IκB призводить до звільнення NF-κB. Вільна форма останнього транслокується у ядро та зв'язується з κB-сайтами всередині промоторів відповідних генів для активації їхньої транскрипції [12]. Процес транслокації NF-κB порушується при надходженні інгібітора активації NF-κB II – JSH-23 [13].

У літературі наводяться дані про неоднозначну роль NF-κB на функціонування тканин пародонта у нормі та при розвитку генералізованого пародонтиту [3,15].

Метою роботи було вивчення ролі NF-κB у механізмах порушень вільнорадикальних проце-

сів і стану сполучнотканинних структур пародонта щурів за умов моделювання МС.

### Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на 30 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-230 г у 3-х серіях дослідів: у першій необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія), у другій – після моделювання МС, у третій – протягом відтворення МС тваринам вводили (внутрішньоочередово, 2 рази на тиждень) інгібітор активації NF-κB II – JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропіл)бензол-1,2-діамін) виробництва "Santa Cruz Biotechnology" (ФРН).

Для моделювання МС гризунам протягом двох місяців призначали 20% водний розчин фруктози для пиття та "діету західного типу", що містить такі складові: рафіноване пшеничне борошно – 45%, сухе знежирене коров'яче молоко – 20%, крохмаль – 10%, столовий маргарин (зі складом жирів 82%) – 20%, переокиснена соняшникова олія – 4%, натрію хлорид – 1%.

Активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-йонів ( $\text{NO}_2^-$ ) до та після інкубації гомогенату м'яких тканин пародонта у середовищі, що містить L-аргінін (субстрат NOS) та нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат відновлений (НАДФН). Концентрацію  $\text{NO}_2^-$  визначали шляхом утворення діазосполук у реакції з сульфаніловою кислотою, а потім проводили реакцію з α-нафтилетилендіаміном, у результаті якої утворюються похідні червоного кольору (азобарвники) [11].

Утворення супероксидного аніон-радикала ( $\text{O}_2^-$ ) у м'яких тканинах пародонта оцінювали при проведенні тесту з нітросинім тетразолієм з такими індукторами: НАДН – для оцінки продук-

ції  $O_2^-$  мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом (ЕТЛ); НАДФН – для оцінки продукції  $O_2^-$  мікросомальним ЕТЛ [6]. Рівень пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у тканинах оцінювали за утворенням у реакції тіо-барбітурової кислоти (ТБК) з ТБК-активними продуктами забарвленого триметінового комплексу до і після 1,5-годинної інкубації у прооксидантному залізоаскорбатному буферному розчині [2]. Активність антиоксидантної (АО) системи оцінювали за приростом концентрації ТБК-активних продуктів за час півторагодинної інкубації гомогенату тканин у залізоаскорбатному буферному розчині, а також за активністю катализи [2].

Стан колагену визначали за вмістом у м'яких і кістковій тканинах вільного оксипроліну [5].

Стан неколагенових білків (протеогліканів) оцінювали шляхом визначення їх мономерів - глікозаміногліканів (ГАГ) [7].

Отримані дані обробляли варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

### Результати дослідження та їх обговорення

Введення JSH-23 умов відтворення експериментального МС викликає достовірне зменшення сумарної активності NOS, що на 34.7% ( $p < 0,01$ ) поступається результату другої серії (табл. 1). Це, вочевидь, пов'язано з регулюючим впливом NF- $\kappa$ B на експресію індукцибельної NOS (iNOS) [14]. Концентрація нітрит-йонів також поступається результату другої серії (на 44.0%,  $p < 0,01$ ).

Таблиця 1  
Вплив JSH-23 на стан вільнорадикальних процесів у м'яких тканинах пародонту за умов МС ( $M \pm m$ ,  $n=15$ )

Показники	Серії дослідів		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	МС + JSH-23
NOS, мкмоль $[NO_2^-]/г \cdot хв.$	3.11 $\pm$ 0.21	8.03 $\pm$ 0.53 *	5.24 $\pm$ 0.42 */**
Вміст $NO_2^-$ , мкмоль/г	0.10 $\pm$ 0.02	0.18 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.01 **
Продукція $O_2^-$ , нмоль/г $\cdot$ с загальний фон	1.00 $\pm$ 0.10	1.49 $\pm$ 0.08*	1.20 $\pm$ 0.10
мікросомальним ЕТЛ (стимуляція НАДФН)	19.07 $\pm$ 1.52	28.40 $\pm$ 0.97*	22.13 $\pm$ 1.33**
мітохондріальним ЕТЛ (стимуляція НАДФН)	18.53 $\pm$ 1.15	29.87 $\pm$ 0.76*	23.73 $\pm$ 1.04 */**
ТБК-реактанти, мкмоль/г	20.7 $\pm$ 2.5	35.1 $\pm$ 1.6*	19.7 $\pm$ 3.4**
Приріст ТБК-реактантів за час інкубації	17.6 $\pm$ 1.2	29.9 $\pm$ 0.9*	16.7 $\pm$ 1.2**
Каталаза, мкат/г	2.73 $\pm$ 0.32	1.68 $\pm$ 0.22*	1.82 $\pm$ 0.35

Примітка: \* –  $p < 0,05$  при порівнянні з даними інтактних щурів; \*\* –  $P < 0,05$  при порівнянні з даними другої серії

Застосування JSH-23 за цих умов знижує

продукцію  $O_2^-$  у м'яких тканинах пародонта щурів: мікросомальним ЕТЛ – на 22.1% ( $p < 0,01$ ), мітохондріальним ЕТЛ – на 20.6% ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з даними другої серії.

Відомо, що активація NF- $\kappa$ B супроводжується посиленням продукції активних форм кисню, у тому числі через підвищення експресії iNOS [8].

Введення JSH-23 за умов експерименту знижує концентрацію ТБК-реактантів – на 43.9% ( $p < 0,01$ ) у порівнянні з результатом другої серії. Приріст концентрації ТБК-реактантів за час інкубації у прооксидантному буферному розчині зменшується на 44.1% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з даними другої серії.

Одержані результати свідчать, що розвиток у м'яких тканинах пародонту за умов МС деком-

пенсованого ПОЛ з істотним зниженням АО потенціалу залежить від функціональної активності NF- $\kappa$ B. У той же час введення JSH-23 істотно не позначається на активності каталази у м'яких тканинах пародонта за умов моделювання МС.

Нами досліджено вплив інгібітора активації NF- $\kappa$ B II (JSH-23) на зміни мономерів колагенових і неколагенових білків у тканинах пародонта за умов відтворення МС (табл. 2).

Введення JSH-23 за цих умов зменшує концентрацію вільного оксипроліну у м'яких тканинах пародонта – на 41.4% ( $p < 0,001$ ), у кістковій тканині – 41.0% ( $p < 0,001$ ); ГАГ у м'яких тканинах пародонта – на 41.8% ( $p < 0,001$ ); у кістковій тканині – на 42.9% ( $p < 0,001$ ) у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 2  
Вплив JSH-23 на зміни мономерів колагенових і неколагенових білків у тканинах пародонту за умов відтворення МС ( $M \pm m$ ,  $n=15$ )

Показники	М'які тканини пародонта			Кісткова тканина пародонта		
	Інтактні тварини	Відтворення МС	МС + JSH-23	Інтактні тварини	Відтворення МС	МС + JSH-23
Вільний оксипролін, мкмоль/г	3.82 $\pm$ 0.24	6.18 $\pm$ 0.18*	3.62 $\pm$ 0.31**	3.22 $\pm$ 0.20	5.42 $\pm$ 0.14*	3.20 $\pm$ 0.30**
ГАГ, мкмоль/г	1.15 $\pm$ 0.07	1.89 $\pm$ 0.04*	1.1 $\pm$ 0.08**	0.94 $\pm$ 0.04	1.7 $\pm$ 0.04*	0.97 $\pm$ 0.05**

Отримані дані свідчать, що порушення ядерної транслокації NF-κB супроводжується обмеженням у м'яких і кістковій тканинах пародонта щурів процесів дезорганізації сполучної тканини (колагенолізу та деполімеризації протеогліканів).

### Висновки

1. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 за умов відтворення МС знижує сумарну активність NOS та концентрацію продуктів окиснення NO – нітрит-йонів.

2. Активація NF-κB є важливою ланкою патогенезу декомпенсованого вільнорадикального окиснення ліпідів у м'яких тканинах пародонта за умов відтворення експериментального МС. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 за цих умов знижує рівень утворення

$O^2$  у м'яких тканинах пародонта НАДФН-залежним ЕТЛ мікосом і НАДН-залежним ЕТЛ мітохондрій, зменшує утворення вторинних продуктів ПОЛ, підвищує АО потенціал.

3. Функціональна активність NF-κB за умов експериментального МС сприяє колагенолізу та деполімеризації протеогліканів у м'яких і кістковій тканинах пародонта щурів. Введення інгібітора ядерної транслокації NF-κB JSH-23 зменшує вміст мономерів колагенових і неколагенових білків – вільного оксипроліну та ГАГ.

### Література

1. Кайдашев І.П. Активация NF-κB при метаболическому синдроме / І.П. Кайдашев // Фізіол. журн. – 2012. – Т. 58, №1. – С. 93-101.
2. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В.Беркало, О.В.Бобович, Н.О.Боброва та ін.] ; за ред. І.П. Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.
3. Перова М.Д. Новый взгляд на развитие и репарацию поврежденной тканей пародонта с позиций молекулярной медицины Часть 1. Механизмы рецепции патогенов и передачи сигналов о функциональном состоянии тканей / М. Д. Перова, М. Г. Шубич // Стоматология. – 2007. – №3. – С. 76-80.

4. Романенко И.Г. Генерализованный пародонтит и метаболический синдром. Единство патогенетических механизмов развития / И.Г. Романенко, Д.Ю. Крючков // Крымск. терапевт. журн. – 2011. – №1. – С. 60-67.
5. Тетянец С.С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови / С.С. Тетянец // Лабор. дело. – 1985. – №1. – С. 61-62.
6. Цебржинский О.И. Дифференцированное спектрофотометрическое определение продукции супероксида в тканях НСТ-тестом / О.И. Цебржинский // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2002. – Т. 2, №1. – С.96-97.
7. Шараев П.Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П.Н. Шараев // Лабор. дело. – 1987. – № 5. – С. 530-532.
8. Brady T.C. Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF-kappa B activation / T.C. Brady, L.Y. Chang, B.J. Day, J.D. Crapo // Am. J. Physiol. – 1997. – V. 273, №5 (Pt 1). – P. L1002-L1006.
9. Chung H.Y. Molecular inflammation as an underlying mechanism of the aging process and age-related diseases / H.Y. Chung, E.K. Lee, Y.J. Choi [et al.] // J. Dent. Res. – 2011. – V.90, №7. – P. 830-840.
10. Gloire G. NF-kappaB activation by reactive oxygen species: fifteen years later / Gloire G., Legrand-Poels S., Piette J. // Biochem. Pharmacol. – 2006. – V.72, №11. – P. 1493-1505.
11. Hevel J.M. Purification of the inducible murine macrophage nitric oxide synthase / J.M. Hevel // J. Biol. Chem. – 1991. – V. 266, №34. – P. 22789-22791.
12. Karin M. The I kappa B kinase (IKK) and NF-kappa B: key elements of proinflammatory signalling / M. Karin, M. Delhase // Semin. Immunol. – 2000. – V. 12, №1. – P. 85-98.
13. Kumar A. JSH-23 targets nuclear factor-kappa B and reverses various deficits in experimental diabetic neuropathy: effect on neuroinflammation and antioxidant defence / A. Kumar, G. Negi, S.S. Sharma // Diabetes Obes. Metab. – 2011. – V. 13, №8. – P.750-758.
14. Lee H.J. Moringa fruit inhibits LPS-induced NO/iNOS expression through suppressing the NF-κB activation in RAW264.7 cells / H.J. Lee, Y.J. Jeong, T.S. Lee // Am. J. Chin. Med. – 2013. – V.41, №5. – P.1109-1123.
15. Nichols T.C. Role of nuclear factor-kappa B (NF-kappa B) in inflammation, periodontitis, and atherogenesis / T.C. Nichols, T.H. Fischer, E.N. Deliarogris, A.S. Jr.Baldwin // Ann. Periodontol. – 2001. – V.6, №1. – P. 20-29.
16. Solan N.J. RelB cellular regulation and transcriptional activity are regulated by p100 / N.J. Solan, H. Miyoshi, E.M. Carmona [et al.] // J. Biol. Chem. – 2002. – V. 277, №2. – P. 1405-1418.
17. Xiao L. New paradigms in inflammatory signaling in vascular endothelial cells / L. Xiao, Y. Liu, N. Wang // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2014. – V. 306, №3. – P. H317-H325.

### Реферат

РОЛЬ ТРАНСКРИПЦИОННОГО ЯДЕРНОГО ФАКТОРА κB В МЕХАНИЗМАХ НАРУШЕНИЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И ДЕЗОРГАНИЗАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПАРОДОНТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Ляшенко Л.И., Денисенко С.В., Костенко В.А.

Ключевые слова: метаболический синдром, ядерный фактор κB, пародонт, пероксидное окисление липидов, антиоксидантная система, биополимеры соединительной ткани.

В эксперименте на 30 белых крысах исследована роль NF – κB в механизмах нарушений свободнорадикальных процессов и состояния соединительнотканых структур пародонта при моделировании метаболического синдрома (МС). Выявлено, что введение ингибитора ядерной транслокации NF-κB JSH-23 (4-метил-N-(3-фенилпропил)бензол-1,2-диамина) в этих условиях снижает суммарную активность NO-синтазы и концентрацию продуктов окисления NO – нитрит-ионов. Показано, что активация NF-κB является важным звеном патогенеза декомпенсированного свободнорадикального окисления липидов, колагенолиза и деполімеризации протеогліканов в тканях пародонта. Введение JSH-23 снижает уровень образования супероксидного анион-радикала электронно-транспортными цепями микросом и митохондрий, уменьшает образование вторичных продуктов пероксидного окисления липидов, повышает антиоксидантный потенциал (в мягких тканях пародонта), уменьшает содержание свободного оксипролина и гликозаминогликанов (в мягких и костной тканях пародонта).

### Summary

ROLE OF TRANSCRIPTION NUCLEAR FACTOR  $\kappa$ B IN MECHANISMS OF FREE RADICAL PROCESSES IMPAIRMENT AND CONNECTIVE TISSUE DISORGANIZATION IN PERIODONTIUM UNDER MODELED METABOLIC SYNDROME

Ljashenko L.I., Denisenko S.V., Kostenko V.A.

Key words: metabolic syndrome, nuclear factor  $\kappa$ B, periodontium, lipid peroxidation, antioxidant system, connective tissue biopolymers.

The role of NF- $\kappa$ B in the mechanisms of free radical processes impairment and disorders of connective tissue structures of periodontium under modeled metabolic syndrome (MS) was studied in the experiment on 30 white rats. We have found out the administration of an inhibitor of the nuclear translocation of NF- $\kappa$ B JSH-23 (4- methyl -N-( 3 – phenylpropyl ) benzene -1 ,2 -diamine) in these conditions reduces the total activity of NO-synthase and nitrite ions concentration. It has been shown the activation of NF- $\kappa$ B is an important link in the pathogenesis of decompensated free radical lipid peroxidation, collagenolysis and depolymerization of proteoglycans in the periodontal tissues. Introduction of JSH-23 reduces superoxide anion radical formation by electron transport chains of mitochondria and microsomes, decreases the formation of secondary products of lipid peroxidation, increases the AO potential (in soft periodontal tissues), lowers the amount of free hydroxyproline and glycosaminoglycans (in soft bone and periodontal tissues).

УДК 612.823.5:616-005.4

**Макаренко А.Н., Бибикова В.Н., Терещенко Н.Н., Савосько С.И.**

## **ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОНО- И ГЛИОГЛИАЛЬНЫХ ПРЕОБРАЗОВАНИЙ В КЛЕТОЧНЫХ СИСТЕМАХ ГОЛОВНОГО МОЗГА В НОРМЕ И ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНОЙ ПАТОЛОГИИ**

Киевский Национальный Университет им. Тараса Шевченко, Киев

ГУ «Днепропетровская Медицинская Академия», Днепропетровск

ОКУ «Днепропетровское Медицинское Училище», Днепропетровск

*Недостаточность мозгового кровообращения - одна из самых распространенных патологий современности. По уровню смертности, достигающей 11-12% в европейских странах и США, инсульт уступает лишь заболеваниям сердца и злокачественным новообразованиям. Опасность данной патологии состоит также в том, что она занимает первое место в структуре причин инвалидности, значительно меняет качество жизни пациента. В головном мозге при инсульте наравне с нейродегенеративными процессами происходит системная реакция всех элементов нервной ткани, а также эндотелия церебральных сосудов. В процессе исследования было отмечено взаимозависимое изменение численности клеточных популяций фиброзных астроцитов, перинейрональных олигодендроцитов и микроглиальных клеток. Изменения также коснулись эпендимы желудочков головного мозга и хориоидного эпителия. Таким образом, для объективной оценки состояния архитектоники нервной ткани в условиях острого нарушения мозгового кровообращения в норме, в острый и отдаленный период заболевания был проведен морфологический и количественный анализ сенсомоторного цереброкортекса. Нами также был разработан инновационный метод исследования цереброкортекса - Глиальный Индекс (ГИ) (Киев), который дает возможность оценить картину цереброкортекса в тот или иной период ГИ, а также позволяет установить взаимосвязь между клеточными структурами данного участка нервной ткани. В данной работе использовалась стандартизованная модель экспериментальной интрацеребральной геморрагии (Макаренко А.Н., 2002). Предложена методика качественного и количественного глиального анализа мозговой ткани в норме и в условиях патологии с помощью введения глиального индекса. Установили, что глиальные индексы астроглии растут как в остром, так и в отсроченном периодах аутогеморрагического инсульта. Снижение индекса перинейрональных сателлитов наблюдается в остром периоде геморрагического инсульта, их положительная динамика отмечается в периоде восстановления. Максимальный прирост микроглиального индекса был зафиксирован на 7-й день после моделирования аутогеморрагического инсульта, после чего снижается, однако все же превышает контрольные значения.*

Ключевые слова: мозговое кровообращение, головной мозг, цереброваскулярная патология.

Недостаточность мозгового кровообращения - одна из самых распространенных патологий современности. По уровню смертности, достигающий 11-12% в европейских странах и США, инсульт уступает лишь заболеваниям сердца и злокачественным новообразованиям. Опасность данного заболевания состоит также в том, что оно также занимает первое место в структуре причин инвалидности [1]. Одной из причин, объ-

ясняющих повышение заболеваемости инсультами, наблюдающихся в течение последних десятилетий, является увеличение средней продолжительности жизни. Хорошо известно, что с возрастом риск инсульта увеличивается. Так, в возрастной группе 45-54 года ежегодный риск составляет 0,1%, 65-74 года - 1%, старше 80 лет - 5% [2]. Таким образом, если в среднем возрасте инсульт поражает одного человека из 1000,