

А. М. Єлінська, О. О. Швайковська, В. О. Костенко

Вплив епігалокатехін-3-галату на продукцію активних форм кисню й азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системної запальної відповіді

Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Ключові слова: сигнальний шлях *Keap1 / Nrf2 / ARE*, епігалокатехін-3-галат, системна запальна відповідь, активні форми кисню й азоту, пародонт, слинні залози

Відомо, що до порушень структури та функції пародонта та слинних залоз (СЗ) призводить низка соматичних захворювань (метаболічний синдром, атеросклероз, хронічний пієлонефрит, травматична хвороба тощо), розвиток яких включає системну запальну відповідь (СЗВ) як важливу ланку патогенезу [1, 2]. Значну роль у цьому процесі відіграє окисно-нітрозативний стрес, пов'язаний з тривалою активацією певних редокс-чутливих транскрипційних факторів (NF-κB, AP-1) [3, 4]. Наслідком цього є експресія генів запальних цитокінів, індукцибельної NO-синтази (NOS), металопротеїназ, молекул клітинної адгезії, циклооксигенази-2 та ін., здатних індукувати продукцію активних форм кисню й азоту [5, 6].

Важливе місце серед редокс-чутливих систем клітини займає сигнальний шлях *Keap1 / Nrf2*, що активує експресію генів за рахунок взаємодії транскрипційним фактора *Nrf2* з цис-регуляторним енхансером, відомим як антиоксидант-респонсивний елемент (ARE). Нещодавно доведено регуляторну дію останнього на механізми запалення, канцерогенезу, фіброзу, а також у захисті від дії стресорів різної природи [7, 8]. Особлива роль ARE визначається тим, що від його активності залежить стан NF-κB- і AP-1-асоційованих сигнальних шляхів [9, 10]. Тому система *Keap1 / Nrf2 / ARE* може мати

особливе значення в механізмах розвитку запально-дистрофічних захворювань пародонта та СЗ і бути перспективною мішенню в розробці нових фармакологічних засобів.

Нещодавно було показано, що низка фармакологічних ефектів зеленого чаю (антиоксидантних, протиалергічних, антиканцерогенних, антибактеріальних) пов'язана з наявністю в його складі епігалокатехін-3-галату (epigallocatechin-3-gallate – EGCG) [11]. Експериментально доведено, що механізм дії цього поліфенолу реалізується через активацію *Nrf2* унаслідок протеолізу інгібіторного білка *Keap1* [12, 13]. Цей шлях посилює антиоксидантну активність низки ферментів, зокрема, глутатіон-S-трансферази і НАД(Ф)Н-хіноноксидоредуктази, що пригнічують вільнорадикальні процеси й зменшують ознаки запалення.

Проте вплив EGCG на розвиток окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта та СЗ залишається нез'ясованим. Розв'язання цього завдання дозволить оцінити роль цього поліфенолу як потенційного засобу патогенетичної терапії запально-дистрофічних захворювань пародонта та СЗ.

Мета дослідження – вивчити вплив індуктора системи *Keap1 / Nrf2 / ARE* епігалокатехін-3-галату на джерела продукції активних форм кисню й азоту в тканинах пародонта та піднижньощелепних СЗ щурів за умов експериментального СЗВ.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на 30 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–220 г, розподілених на 3 групи: 1 – інтактні тварини, 2 – після відтворення СЗВ, 3 – тваринам внутрішньоочередивно вводили

ли EGCG (виробництво «Sigma-Aldrich, Inc.», США) у дозі 21,1 мг/кг 3 рази на 1 тиждень, починаючи з 30 доби відтворення СЗВ [14].

СЗВ відтворювали шляхом внутрішньоочередового введення ліпополісахариду (ЛПС) *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал», Росія) у дозі, яка сприяла підвищенню температури тіла щурів на 1,5 °С, за схемою (модифіковано за [15]): протягом першого тижня вводили по 4 мінімальні пірогенні дози (МПД), що складає 0,4 мкг на 1 кг маси щура 3 рази на 1 тиждень. Протягом наступних семи тижнів експерименту щурам вводили по 4 МПД /кг маси 1 раз на 1 тиждень.

Дослідження проведено відповідно до принципів біомедичної етики. Тварин декапітували під ефірним наркозом. Об'єктами дослідження були м'які тканини пародонта та тканини піднижньощелепних СЗ.

Утворення супероксидного аніонрадикала (САР) оцінювали в тесті з нітросинім тетразолієм з використанням спектрофотометра Ulab у гомогенаті тканин з індукторами у вигляді НАДН – для оцінки продукції САР мітохондріальним електронно-транспортним ланцюгом, НАДФН – ендоплазматичним ретикуломом і NOS, пірогеналу – НАДФН-оксидазою лейкоцитів [16].

Сумарну активність NOS визначали за різницею концентрації нітрит-іонів до та після інкубації гомогенату в середовищі, що містить аргінін (субстрат NOS) та НАДФН [17]. Активність нітратредуктази (НАР), нітритредуктази (НИР) і концентрацію пероксинітрит-іонів у гомогенаті визначали спектрофотометрично [17].

Отримані результати статистично обробляли. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Уїлка. Якщо вони відповідали нормальному розподілу, то для їхнього порівняння використовували критерій t-Стюдента для незалежних вибірок. У разі, коли ряди результатів не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні

розрахунки проводили з використанням програми «StatisticSoft 6.0».

Результати та їх обговорення. Моделювання СЗВ призводило до достовірних змін продукції САР у тканинах пародонта та СЗ (табл. 1). Так, загальний фон генерації САР (нестимульована продукція) підвищувався на 40,8 % ($p < 0,01$) і 37,9 % ($p < 0,01$) відповідно. Вироблення САР НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами (мікосомальним і NO-синтазою) зростало – на 38,3 % ($p < 0,01$) та 41,7 % ($p < 0,01$), а дихальним ланцюгом мітохондрій – на 40,5 % ($p < 0,01$) і 37,6 % ($p < 0,01$). Генерація САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів також підвищувалася на 32,9 % ($p < 0,01$) і 70,8 % ($p < 0,01$) відповідно.

Уведення EGCG зменшувало загальний фон генерації САР у тканинах пародонта і СЗ на 23,7 % ($p < 0,01$) і 23,3 % ($p < 0,02$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Вироблення САР НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами за цих умов знижувалося на 22,9 % ($p < 0,02$) і 24,1 % ($p < 0,02$), а дихальним ланцюгом мітохондрій – на 22,9 % ($p < 0,02$) і 25,8 % ($p < 0,01$) порівняно з відповідними результатами другої групи. Продукція САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів також поступалася на 23,3 % ($p < 0,02$) і 41,2 % ($p < 0,01$) відповідним даним другої групи.

Нещодавно доведена здатність системи Keap1 / Nrf2 / ARE контролювати інші редокс-чутливі елементи, у тому числі чинники NF-κB і AP-1 [9, 10]. Раніше було показано, що активація NF-κB збільшує продукцію САР мітохондріями та НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами в тканинах пародонта [18, 19] і СЗ [20]. Ефективними стимуляторами продукції САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів є прозапальні цитокіни, синтез яких залежить від активації NF-κB [6].

За умов СЗВ активність NOS у тканинах пародонта та СЗ (табл. 2) збільшилася – у 2,45 разу ($p < 0,001$) та на 86,5 % ($p < 0,001$) відповідно. Це, вочевидь, пов'язано зі здатністю ЛПС забезпечувати NF-κB-залежну активацію індукбельної NO-синтази [6].

Стимульована продукція супероксидного аніон-радикала в тканинах пародонта та піднижньощелепних слинних залоз за умов системної запальної відповіді та впливу EGCG, н.моль/г·с (M + m, n = 30)

Група дослідів	Пародонт				Слинні залози			
	Загальний фон	Індуктор			Загальний фон	Індуктор		
		НАДФН	НАДН	ЛПС		НАДФН	НАДН	ЛПС
Інтактні тварини	1,20 ± 0,09	12,47 ± 0,87	15,41 ± 1,08	1,58 ± 0,12	1,40 ± 0,08	14,65 ± 0,72	18,69 ± 1,02	1,92 ± 0,13
Модель системної запальної відповіді	1,69 ± 0,07*	17,25 ± 0,66*	21,65 ± 1,01*	2,10 ± 0,09*	1,93 ± 0,11*	20,76 ± 1,01*	25,72 ± 1,10*	3,28 ± 0,32*
Модель системної запальної відповіді + EGCG	1,29 ± 0,09*	13,51 ± 0,89**	16,69 ± 1,09**	1,61 ± 0,12**	1,48 ± 0,10	15,75 ± 1,10**	19,08 ± 1,24**	1,93 ± 0,14

Примітка. Тут і в табл. 2: *p < 0,05 порівняно з результатами інтактної групи, **p < 0,05 порівняно з результатами другої групи.

Показники нітрозативного стресу в тканинах пародонта та піднижньощелепних слинних залоз за умов системної запальної відповіді та впливу EGCG (M + m, n = 30)

Група дослідів	Пародонт				Слинні залози			
	NOS, мкмоль NO ₂ ⁻ / г • хв	НАР, мкмоль / хв • г білка	НИР, мкмоль / хв • г білка	Перокси-нітрит, мкмоль/г	NOS, мкмоль NO ₂ ⁻ / г • хв	НАР, мкмоль / хв • г білка	НИР, мкмоль / хв • г білка	Перокси-нітрит, мкмоль/г
Інтактні тварини	4,20 ± 0,22	11,98 ± 0,88	3,43 ± 0,25	0,83 ± 0,04	7,27 ± 0,52	32,23 ± 2,42	7,20 ± 0,66	0,99 ± 0,07
Модель системної запальної відповіді	10,3 ± 0,50	16,33 ± 0,74*	4,61 ± 0,39*	1,08 ± 0,05*	13,56 ± 0,86	43,23 ± 3,64*	9,96 ± 0,82*	2,56 ± 0,43
Модель системної запальної відповіді + EGCG	5,76 ± 0,46*/**	12,96 ± 0,75**	3,71 ± 0,25	0,85 ± 0,06**	8,37 ± 0,54**	34,86 ± 2,35	7,80 ± 0,66	1,06 ± 0,07**

У той самий час у тканинах пародонта та СЗ збільшувалася активність НАР – на 36,3 % ($p < 0,01$) і 34,1 % ($p < 0,05$), а також НИР – на 34,4 % ($p < 0,05$) і 38,3 % ($p < 0,05$) відповідно. Ці ферментативні системи утворення нітрит-іонів і NO активуються в тканинах, головним чином, за умов гіпоксії. Активація цих ферментів на тлі збільшення утворення NO NOS свідчить про порушення механізму авторегуляції фізіологічної концентрації NO у тканинах [21]. Закономірним наслідком цього було виявлене збільшення утворення активних форм азоту: уміст пероксинітриту підвищувався в тканинах пародонта та СЗ – на 30,1 % ($p < 0,01$) і в 2,6 разу ($p < 0,01$) відповідно.

Пероксинітрит здатний, у свою чергу, підвищувати продукцію САР у тканинах пародонта та СЗ [22], що пов'язують з його здатністю інактивувати НАДН- та НАДФН-залежні оксидоредуктази, порушувати мітохондріальні ферментні комплекси [23].

Уведення EGCG зменшувало активність NOS у тканинах пародонта і СЗ (табл. 2) – на 44,2 % ($p < 0,001$) і на 38,3 % ($p < 0,001$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Показники стану нітрат- / нітритредуктазної ланки циклу NO, що є резервним механізмом утворення останнього за умов гіпоксії, змінювалися в меншій мірі. Так, активність НАР у тканинах пародонта поступалася даним другої групи – на 20,6 % ($p < 0,02$), але в тканинах СЗ суттєво не змінювалася. Активність НИР у тканинах пародонта та СЗ вірогідно не відрізнялася від результатів інших груп.

У той самий час уміст пероксинітриту зменшувався в тканинах пародонта та СЗ – на 21,3 % ($p < 0,02$) і на 58,6 % ($p < 0,01$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Це, вочевидь, було наслідком зменшення генерації САР і NO, необхідних для утворення пероксинітриту.

Отримані результати вказують, що застосування EGCG знижує генерацію САР електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій, ендоплазматичного ретикулула (мікросом) та NOS,

НАДФН-оксидазою лейкоцитів, що вказує на обмеження в тканинах пародонта та СЗ за відтворення СЗВ проявів окисного стресу. За цих умов зменшується генерація цитотоксичних концентрацій NO, що забезпечується індукбельною ізоформою NOS. Усе це закономірно позначається на зниженні в тканинах пародонта та СЗ концентрації пероксинітриту.

Враховуючи, що всі наведені вище показники окисно-нітрозативного стресу залежать від активації транскрипційного чинника NF-κB, можливо припустити, що результат позитивного впливу EGCG як індуктора системи Keap1 / Nrf2 / ARE пов'язаний з обмеженням NF-κB-сигналізації. Раніше було показано, ЛПС-опосередкована активація NF-κB може зменшуватися в разі введення в організм індукторів Nrf2 (фенетилізотіоціанату, сульфорафану та куркуміну) [9]. Призначення сульфорафану та дибензоїлметану окремо або в комбінації суттєво пригнічує розвиток аденоми кишечника в мишей ArcMin разом зі зниженням концентрації простагландину E2, лейкотрієну B4 та активності циклооксигенази-2, синтез яких пов'язаний з NF-κB-залежним сигнальним шляхом. Окрім того, виявилось, що введення фенетилізотіоціанату та сульфорафану пригнічує фосфорилування на ділянці ІκB-кіназний комплекс (ІКК) / інгібіторний білок ІκB з подальшою ядерною транслокацією субодиниці p65, отже порушує NFκB-залежний сигнальний шлях [24]. Повідомляється також про можливість зменшення активності ІККβ [25] та каспаза-опосередкованого протеолізу NF-κB/p65 [26] у разі застосування EGCG.

Проте останнім часом було повідомлено, що NF-κB здатний безпосередньо пригнічувати Nrf2-сигналізацію на рівні транскрипції. Він конкурує з Nrf2 на рівні транскрипційного коактиватора CREB-зв'язуючого білка (СВР) [27]. Крім того, NF-κB може залучати деацетилазу гістонів 3 (HDAC3), що забезпечує гіпоацетилювання з порушенням Nrf2-сигналізації.

Таким чином, здатність EGCG пригнічувати активацію NF-κB є важливою

особливістю цього поліфенолу, що створює передумови для успішної реалізації цитопротективних властивостей системи Keap1 / Nrf2 / ARE.

Висновок

Таким чином, введення епігалокатехін-3-галату за відтворення системної запальної відповіді є ефективним засобом корекції окисно-нітративного стресу в тканинах пародонта

та піднижньощелепних слинних залоз щурів: зменшує в них генерацію супероксидного аніон-радикала, зокрема, його продукцію електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму та NOS, НАДФН-оксидазою лейкоцитів, а також знижує сумарну активність NO-синтази та концентрацію перокси-нітриду.

1. Состояние слюнных желез у больных с метаболическим синдромом / В. В. Афанасьев, Р. И. Стрюк, С. Э. Арутюнян [и др.] // Росс. стоматол. журн. – 2011. – № 3. – С. 17–19.
2. Host response mechanisms in periodontal diseases / N. Silva, L. Abusleme, D. Bravo [et al.] // J. Appl. Oral. Sci. – 2015. – V. 23, № 3. – P. 329–355.
3. Кайдашев И. П. Роль NF-κB в функционировании отдельных тканей, развитии и синтропии заболеваний основных систем организма / И. П. Кайдашев // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18, № 2. – С. 186–198.
4. Расин М. С. Роль ядерных транскрипционных факторов в синтропии современной внутренней патологии / М. С. Расин, И. П. Кайдашев // Укр. мед. часопис. – 2014. – № 1. – С. 17–21.
5. Оксидативный стресс и воспаление: патогенетическое партнерство : [монография] / под ред. О. Г. Хурцилавы, Н. Н. Плужникова, Я. А. Накатиса. – Санкт-Петербург : Изд-во СЗГМУ им. И. И. Мечникова, 2012. – 340 с.
6. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A. K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // Trends Cell. Biol. – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557–566.
7. Vomhof-Dekrey E. E. The Nrf2-antioxidant response element pathway: a target for regulating energy metabolism / E. E. Vomhof-Dekrey, M. J. Sr. Picklo // J. Nutr. Biochem. – 2012. – V. 23, № 10. – P. 1201–1206.
8. Ma Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity / Q. Ma // Annu Rev. Pharmacol. Toxicol. – 2013. – V. 53. – P. 401–426.
9. Activation of Nrf2-antioxidant signaling attenuates NF-κB-inflammatory response and elicits apoptosis / W. Li, T. O. Khor, C. Xu [et al.] // Biochem. Pharmacol. – 2008. – V. 76, № 11. – P. 1485–1489.
10. Wardyn J. D. Dissecting molecular cross-talk between Nrf2 and NF-κB response pathways / J. D. Wardyn, A. H. Ponsford, Ch. M. Sanderson // Biochem. Soc. Trans. – 2015. – V. 43, № 4. – P. 621–626.
11. Kim H. S. New insights into the mechanisms of polyphenols beyond antioxidant properties; lessons from the green tea polyphenol, epigallocatechin 3-gallate / H. S. Kim, M. J. Quon, J. A. Kim // Redox Biol. – 2014. – V. 2. – P. 187–195.
12. Protective effect of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) via Nrf2 pathway against oxalate-induced epithelial mesenchymal transition (EMT) of renal tubular cells / R. Kanlaya, S. Khamchun, C. Kapincharanon [et al.] // Sci Rep. – 2016. – V. 6. – Publ. 30233.
13. Epigallocatechin gallate upregulates NRF2 to prevent diabetic nephropathy via disabling KEAP1 / W. Sun, X. Liu, H. Zhang [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2017. – V. 108. – P. 840–857.
14. Repeated dose studies with pure Epigallocatechin-3-gallate demonstrated dose and route dependent hepatotoxicity with associated dyslipidemia / B. Ramachandran, S. Jayavelu, K. Murhekar, T. Rajkumara // Toxicol. Rep. – 2016. – V. 3. – P. 336–345.
15. Пат. 14222 Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб експериментального моделювання інсулінорезистентності / Третяк І. В., Амброскіна В. В., Крячок Т. А., Талаєва Т. В., Ларіонов О. П.; № 0200509354; заявл. 04.10.2005, опубл. 15.05.2006. Бюл. № 5.
16. Костенко В. О. Продукція супероксидного аніон-радикала та оксиду азоту у тканині нирок після хірургічного втручання / В. О. Костенко, О. І. Цебржинський // Фізіол. журн. – 2000. – Т. 46, № 5. – С. 56–62.
17. Akimov O. Ye. Functioning of nitric oxide cycle in gastric mucosa of rats under excessive combined intake of sodium nitrate and fluoride / O. Ye. Akimov, V. O. Kostenko // Ukr. Biochem. J. – 2016. – V. 88, № 6. – P. 70–75.
18. Ляшенко Л. І. NF-κB-опосередкований вплив NO-синтаз на вільнорадикальні процеси у тканинах пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому / Л. І. Ляшенко, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, № 2. – С. 140–143.
19. Богданов О. В. Вплив інгібітора ядерної транслокації транскрипційного фактора κB на окисний метаболізм у тканинах пародонта щурів за умов поєданого надлишкового надходження нітрату та фториду натрію / О. В. Богданов, В. О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2017. – Т. 17, № 1. – С. 217–219.

20. *Нагорняк І. В.* Ефективність поєданого застосування L-аргініну та інгібітора ядерного фактора κВ для корекції вільнорадикальних процесів і функцій слинних залоз щурів за умов дії метилового ефіру метакрилової кислоти / *І. В. Нагорняк, В. О. Костенко* // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2015. – Т. 15, № 3, Ч. 1. – С. 221–225.
21. Механізми ауторегуляції утворення оксиду азоту в організмі свавців та їх порушення при розвитку патологічних процесів / *В. О. Костенко, Н. В. Соловйова, О. В. Коваленко* [та ін.] // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2011. – Т. 11, № 3. – С. 150–154.
22. NO- и пероксинитрит-зависимые изменения продукции супероксидного анион-радикала в органах крыс при экспериментальном метаболическом синдроме / *В. А. Костенко А. Н. Елинская, Л. И. Ляшенко* [и др.] // Журн. Гродненского гос. мед. ун-та. – 2014. – № 2. – С. 74–77.
23. *Szabó S.* Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics / *C. Szabó, H. Ischiropoulos, R. Radi* // Nature Reviews. – 2007. – V. 6. – P. 662–680.
24. Suppression of NF-κappaB and NF-κappaB-regulated gene expression by sulforaphane and PEITC through IκappaBα, IKK pathway in human prostate cancer PC-3 cells / *C. Xu, G. Shen, C. Chen* [et al.] // Oncogene. – 2005. – V. 24. – P. 4486–4495.
25. The green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate blocks nuclear factor-κappa B activation by inhibiting Iκappa B kinase activity in the intestinal epithelial cell line IEC-6 / *F. Yang, H. S. Oz, S. Barve* [et al.] // Mol. Pharmacol. – 2001. – V. 60, № 3. – P. 528–533.
26. *Gupta S* Essential role of caspases in epigallocatechin-3-gallate-mediated inhibition of nuclear factor κappa B and induction of apoptosis / *S. Gupta, K. Hastak, F. Afaq* [et al.] // Oncogene. – 2004. – V. 23, № 14. – P. 2507–2522.
27. *Liu G. H.* NF-κappaB/p65 antagonizes Nrf2-ARE pathway by depriving CBP from Nrf2 and facilitating recruitment of HDAC3 to MafK / *G. H. Liu, J. Qu, X. Shen* // Biochim. Biophys. Acta. – 2008. – V. 1783. – P. 713–727.

А. М. Єлінська, О. О. Швайковська, В. О. Костенко

Вплив епігалокатехін-3-галату на продукцію активних форм кисню й азоту в тканинах пародонта та слинних залоз щурів за умов системної запальної відповіді

Мета дослідження – вивчити вплив індуктора системи Keap1 / Nrf2 / ARE епігалокатехін-3-галату (EGCG) на джерела продукції активних форм кисню та азоту в тканинах пародонта та піднижньощелепних слинних залоз (СЗ) щурів за умов експериментального системної запальної відповіді (СЗВ).

Дослідження були проведені на 30 білих щурах лінії Вістар масою 180–220 г, розподілених на 3 групи: 1 – інтактні тварини, 2 – після відтворення СЗВ, 3 – тваринам внутрішньоочеревинно вводили EGCG (виробництво «Sigma-Aldrich, Inc.», США) у дозі 21,1 мг/кг 3 рази на 1 тиждень, починаючи з 30 доби відтворення СЗВ (шляхом внутрішньоочеревинного введення препарату ліпополісахариду *Salmonella typhi* – пірогеналу).

Уведення EGCG знижувало нестимульовану генерацію супероксидного аніон-радикала (САР) у тканинах пародонта та СЗ на 23,7 % ($p < 0,01$) та 23,3 % ($p < 0,02$) відповідно порівняно з результатом другої групи. Вироблення САР НАДФН-залежними електронно-транспортними ланцюгами зменшувалося на 22,9 % ($p < 0,02$) та 24,1 % ($p < 0,02$), а дихальним ланцюгом мітохондрій – на 22,9 % ($p < 0,02$) та 25,8 % ($p < 0,01$). Продукція САР НАДФН-оксидазою лейкоцитів поступалося на 23,3 % ($p < 0,02$) та 41,2 % ($p < 0,01$) відповідним даним другої групи. Активність NOS у тканинах пародонта і СЗ знижувалося на 44,2 % ($p < 0,001$) та на 38,3 % ($p < 0,001$) відповідно. Уміст пероксинітриту зменшувався в тканинах пародонта і СЗ на 21,3 % ($p < 0,02$) і на 58,6 % ($p < 0,01$).

Зроблено висновок, що введення EGCG за умов відтворення СЗВ є ефективним засобом корекції окисно-нітрозативного стресу в тканинах пародонта та піднижньощелепних СЗ щурів: зменшує в них генерацію супероксидного аніон-радикала, зокрема, його продукцію електронно-транспортними ланцюгами мітохондрій, ендоплазматичного ретикулуму та NOS, НАДФН-оксидазою лейкоцитів, а також знижує сумарну активність NO-синтази та концентрацію пероксинітриту.

Ключові слова: сигнальний шлях Keap1 / Nrf2 / ARE, епігалокатехін-3-галат, системна запальна відповідь, активні форми кисню й азоту, пародонт, слинні залози

А. Н. Елинская, Е. О. Швайковская, В. А. Костенко

Влияние эпигаллокатехин-3-галлата на продукцию активных форм кислорода и азота в тканях пародонта и слюнных желез крыс в условиях системного воспалительного ответа

Цель исследования – изучить влияние индуктора системы Keap1 / Nrf2 / ARE эпигаллокатехин-3-галлата (EGCG) на источники продукции активных форм кислорода и азота в тканях пародонта и поднижнечелюстных слюнных желез (СЖ) крыс в условиях экспериментального системного воспалительного ответа (СВО).

Исследования были проведены на 30 белых крысах линии Вистар массой 180–220 г, разделенных на 3 группы: 1 – интактные животные, 2 – после воспроизведения СВО, 3 – животным внутрибрюшинно вводили EGCG (производство «Sigma-Aldrich, Inc.», США) в дозе 21,1 мг/кг 3 раза в 1 неделю, начиная с 30 суток воспроизведения СВО (путем внутрибрюшинного введения препарата липополисахарида *Salmonella typhi* – пирогенала).

Введение EGCG снижало нестимулированную генерацию супероксидного анион-радикала (САР) в тканях пародонта и СЖ на 23,7 % ($p < 0,01$) и на 23,3 % ($p < 0,02$) соответственно по сравнению с результатом второй группы. Выработка САР НАДФН-зависимыми электронно-транспортными цепями уменьшалась на 22,9 % ($p < 0,02$) и на 24,1 % ($p < 0,02$), а дыхательной цепью митохондрий – на 22,9 % ($p < 0,02$) и на 25,8 % ($p < 0,01$). Продукция САР НАДФН-оксидазой лейкоцитов уступала на 23,3 % ($p < 0,02$) и на 41,2 % ($p < 0,01$) соответствующим данным второй группы. Активность NOS в тканях пародонта и СЖ снижалась на 44,2 % ($p < 0,001$) и на 38,3 % ($p < 0,001$) соответственно. Содержание пероксинитрита уменьшалось в тканях пародонта и СЖ на 21,3 % ($p < 0,02$) и на 58,6 % ($p < 0,01$).

Сделан вывод, что введение EGCG при воспроизведении СВО является эффективным средством коррекции окислительно-нитрозативного стресса в тканях пародонта и поднижнечелюстных СЖ крыс: уменьшает в них генерацию супероксидного анион-радикала, в частности, его продукцию электронно-транспортными цепями митохондрий, эндоплазматического ретикулула и NO-синтазы, НАДФН-оксидазой лейкоцитов, а также снижает суммарную активность NO-синтазы и концентрацию пероксинитрита.

Ключевые слова: сигнальный путь Keap1 / Nrf2 / ARE, эпигаллокатехин-3-галлат, системный воспалительный ответ, активные формы кислорода и азота, пародонт, слюнные железы

A. M. Yelins'ka, O. O. Shvaykovs'ka, V. O. Kostenko
Influence of epigallocatechin-3-gallate on production of reactive oxygen and nitrogen species in tissue of peridontium and salivary glands under systemic inflammatory response in rats

The purpose of the study was to investigate the effect of an inducer of the Keap1 / Nrf2 / ARE epigallocatechin-3-gallate (EGCG) on sources of reactive oxygen and nitrogen species in the tissues of periodontium and submandibular salivary glands (SG) of rats under the modeled systemic inflammatory response (SIR).

The studies were conducted on 30 white rats of the Wistar line weighing 180–220 g, divided into 3 groups: the 1st included intact animals, the 2nd – animals after induced SIR, and the 3rd included animals, which were injected EGCG (production of Sigma-Aldrich, Inc., USA) intraperitoneally in a dose of 21,1 mg / kg 3 times a 1 week, starting on the 30th day of SIR induction by intraperitoneal administration of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide – pyrogenal).

The administration of EGCG reduced unstimulated generation of superoxide anion radicals (SAR) in periodontal and SG tissues by 23,7 % ($p < 0,01$) and 23,3 % ($p < 0,02$) respectively compared with the result in the second group. SAR production by NADPH-dependent electron transport chains decreased by 22,9 % ($p < 0,02$) and 24,1 % ($p < 0,02$), and by the mitochondrial respiratory chain lowered by 22,9 % ($p < 0,02$) and 25,8 % ($p < 0,01$). SAR production by leukocytes NADPH-oxidase yielded by 23,3 % ($p < 0,02$) and 41,2 % ($p < 0,01$) to relevant data of the second group. The activity of NOS in periodontal and SG tissues decreased by 44,2 % ($p < 0,001$) and 38,3 % ($p < 0,001$) respectively. Peroxynitrite content went down in periodontal tissues and SG by 21,3 % ($p < 0,02$) and 58,6 % ($p < 0,01$).

We can conclude that EGCG introduction in the SIR modeling is an effective mean to correct oxidative-nitrosative stress in the tissues of periodontium and submandibular SG in the rats: it reduces the generation of superoxide anion radicals, in particular, its production by mitochondrial electron transport chain, microsomal and NO synthase electron transport chains, leukocyte NADPH-oxidase, as well as reduces the total activity of NO-synthase and peroxynitrite concentration.

Key words: signal pathway Keap1 / Nrf2 / ARE, epigallocatechin-3-gallate, systemic inflammatory response, reactive oxygen and nitrogen species, periodontium, salivary glands

Надійшла: 28 грудня 2017 р.

Контактна особа: Костенко Віталій Олександрович, доктор медичних наук, професор, кафедра патофізіології, ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», буд. 23, вул. Шевченка, м. Полтава, 36000. Тел.: + 38 0 532226966.
Електронна пошта: e-mail: patofiziolog@umsa.edu.ua