

ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського”

**ВПЛИВ КОМБІНОВАНИХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ З КОРЕНЯ ЕХІНАЦЕЇ, АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЦИНКУ АСПАРАГІНАТУ НА ПЕРЕБІГ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ І СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ**

ВПЛИВ КОМБІНОВАНИХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ З КОРЕНЯ ЕХІНАЦЕЇ, АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ ТА ЦИНКУ АСПАРАГІНАТУ НА ПЕРЕБІГ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ І СТАН АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ – У дослідженнях на білих щурах встановлено, що використання комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагінату в лікуванні щурів з гострим пародонтитом на фоні цукрового діабету 2 типу приводить до активізації системи антиоксидантного захисту і зменшення процесів вільнорадикального окиснення.

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА С КОРНЯ ЭХИНАЦЕИ, АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЦИНКА АСПАРАГИНАТА НА ТЕЧЕНИЕ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И СОСТОЯНИЕ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ПАРОДОНТИТЕ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА – В исследованиях на белых крысах установлено, что использование комбинированных таблеток на основе экстракта корня эхинацеи, аскорбиновой кислоты и цинка аспарагината в лечении крыс с острым пародонтитом на фоне сахарного диабета 2 типа приводит к активизации системы антиоксидантной защиты и уменьшению процессов свободнорадикального окисления.

EFFECT OF COMBINED TABLETS ON THE BASIS OF ECHINACEA EXTRACT, ASCORBIC ACID AND ZINC ASPARTATE ON FREE RADICAL PROCESSES AND ANTIOXIDANT SYSTEM IN EXPERIMENTAL ACUTE PERIODONTITIS ON A BACKGROUND TYPE 2 DIABETES – In experiments on white rats has been shown that the use of combined tablets on the basis of Echinacea extract, ascorbic acid and zinc aspartate in the treatment of rats with acute periodontitis on a background of type 2 diabetes leads to the activation of antioxidant system and reduction of free radical oxidation processes.

**Ключові слова:** пародонтит, цукровий діабет, стрептозотцин, корекція.

**Ключевые слова:** пародонтит, сахарный диабет, стрептозотцин, коррекция.

**Key words:** periodontitis, diabetes, streptozotocin, correction.

**ВСТУП** В останні десятиліття захворюваність на цукровий діабет (ЦД) досягла епідемічних показників, посідаючи четверте місце за рівнем смертності, що спонукає дослідників до глибокого дослідження механізмів його розвитку. Науковці довели, що ЦД 2 типу включає у себе якнайменше два основні патогенетичні механізми: прогресуюче зменшення функції острівців Лангерганса підшлункової залози, що призводить до зниження секреції інсуліну та недостатньої супресії секреції глюкагону, і периферійна резистентність інсуліну, що зумовлює зниження метаболічної відповіді на інсулін [1–3]. При цьому дослідники запропонували оксидативний стрес в якості основної причини розвитку резистентності до інсуліну, β-клітинної дисфункції, порушення толерантності до глюкози та ЦД 2 типу [4]. Оксидативний стрес також бере участь у прогресуванні ускладнень діабету. При реакції глю-

кози з білками плазми утворюються кінцеві продукти глікозилювання, спричиняючи продукцію вільних радикалів.

У патогенезі пародонтиту при дослідженні механізмів запалення і деструкції важлива роль належить надмірному накопиченню вільних радикалів внаслідок пероксидного окиснення білків і ліпідів [5]. У науковій літературі зустрічається ряд публікацій, в яких автори вказують на високу поширеність пародонтиту на тлі ЦД і зниження показників резистентності організму. Однак ці дані не дають повного уявлення про ланки ураження пародонтального комплексу при цукровому діабеті.

Щоб запобігти оксидативним пошкодженням при ЦД, виправданим є використання лікарських препаратів, здатних коригувати розвиток цукрового діабету шляхом послаблення токсичної дії вільних радикалів кисню та продуктів вільнорадикального окиснення. Тому до комплексної фармакотерапії ЦД включають антиоксиданти, які знижують надмірну активність оксидативного стресу, зокрема в β-клітинах підшлункової залози та клітинах ендотелію [6, 7].

З огляду на все вищесказане, метою роботи було вивчити вплив комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагінату на інтенсивність процесів ліпідної пероксидації і стан антиоксидантної системи у тварин з експериментальним пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Ми провели дослідження на білих безпородних щурах обох статей, отриманих з віварію ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України”, згідно з вимогами Правил проведення роботи з використанням експериментальних тварин [8]. Тварини отримували звичайний раціон харчування та мали цілодобовий доступ до води. Експериментальний цукровий діабет 2 типу моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням щурам масою тіла (200±20) г розчину стрептозотцину з розрахунку 65 мг/кг, який розводили цитратним буфером (рН 4,5) з попереднім (за 15 хв введенням нікотинамідом в дозі 230 мг/кг [9, 10]. Для контрольної групи ми використовували щурів з тією ж масою тіла, яким вводили аналогічний об'єм розчинника (цитратний буфер з рН 4,5). За даними ряду авторів [10, 11] попереднє введення нікотинамідом підвищує стійкість β-клітин острівців Лангенгарса до пошкоджувальної дії стрептозотцину, що дозволяє моделювати стан, який значною мірою відповідає змінам, характерним для цукрового діабету 2 типу. Контролювали за рівнем глюкози в крові глюкозоксидазним методом з використанням наборів “Філісіт-діагностика” (Україна) на аналізаторі “Humalyser

2000", рівнем глюкози у сечі й наявністю кетонів у сечі з використанням напівавтоматичного аналізатора сечі "Combilyzer plus", ступенем толерантності до навантаження глюкозою [12].

Продукцію активних форм кисню (АФК) визначали методом проточної цитофлуориметрії на апараті Epics XL ("Beckman Coulter", Франція) із застосуванням барвника дихлорфлуоресцеїну діацетат (ДФФ-ДА) ("Sigma Aldrich", USA). Значення досліджуваного параметра виражали в умовних одиницях (інтенсивність світіння на клітину). Рівень гідропероксидів ліпідів (ГПЛ), вміст ТБК-активних продуктів (ТБП) визначали за загальноприйнятими спектрофотометричними методиками [13, 14]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) за методом [15] у модифікації [16] і каталази (КТ) [17], церулоплазміну в сироватці крові (ЦП) [18].

Вплив цукрового діабету на перебіг запального процесу в пародонті вивчали на моделі запалення, викликаного травмою м'яких тканин ясен [19]. Щурам під тіопенталовим наркозом (30 мк/кг) з вестибулярного боку до пародонтальних тканин нижнього різця підводили робочу головку ультразвукового генератора – випромінювач від ультразвукового скейлера ART (Тайвань), і впродовж 60 с чинили одноразовий направлений вплив коливаннями ультразвукової частоти при таких параметрах впливу: частота коливань – 50 кГц, потужність випромінювання – 1,2 Вт·см<sup>2</sup> при експозиції впливу 60 с. Операцію проводили на 21 добу після введення стрептозотоцину. Через 1 та 7 діб щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мк/кг).

Для комбінованих таблеток "Ехцивіт", які ми застосовували 1 раз на добу, умовно терапевтичну дозу для лабораторних тварин визначали за сумарним вмістом активних речовин (екстракту з кореня ехінацеї – 100 мг/табл., кислоти аскорбінової 300 мг/табл. та цинку аспарагіату – 25 мг/табл., всього: 425 мг/табл.), що становить для щурів – 37 мг/кг, але якщо визначати цю дозу за вмістом екстракту з кореня ехінацеї, то вона складає 10 мг/кг [20]. Досліджувані зразки суспензували з дистильованою водою та вводили протягом трьох тижнів після першого введення стрептозотоцину та протягом наступних 1 і 8 діб моделювання гострого пародонтиту внутрішньошлунково за допомогою металевго зонда у розрахунку 1 мл/кг.

Групу порівняння склали тварини з стрептозотиніндукованим цукровим діабетом і гострою механічною травмою м'яких тканин без медикаментозної корекції. Контролем був матеріал від інтактних тварин.

При статистичному аналізі даних застосовували такі показники варіаційної статистики, як середнє арифметичне значення (M), стандартну помилку середнього значення (m). Статистичну обробку результатів виконано у відділі системних статистичних досліджень університету в програмному пакеті Statsoft STATISTIKA. [21].

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** Наші результати досліджень свідчать про розвиток оксидативного стресу в тварин з гострим пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу, що підтверджено збільшенням інтенсивності продукування активних форм кисню, рівня гідропероксидів ліпідів

і продуктів тіобарбітурової кислоти (табл. 1). Отримані результати також свідчать про те, що гіперглікемічний статус при гострому пародонтиті впливає не тільки на продукцію активних метаболітів кисню в організмі, але і на активність антиоксидантного захисту, що проявлялось зниженням СОД, каталази і церулоплазміну.

Результати досліджень останніх років довели, що оксидативний стрес блокує синтез білка і нуклеїнових кислот, пригнічує гліколіз, сприяє роз'єднанню окисного фосфорилування, інгібує активність деяких ферментів, порушує функцію тканин [22]. Зазначені зміни виникають тоді, коли антиоксидантна система не здатна нейтралізувати токсичну дію вільних радикалів, тому для медикаментозної корекції важливим є застосування середників з антиоксидантними властивостями.

J. C. Will і T. Vuers Встановили, що рівень вітаміну С у хворих з цукровим діабетом менший, ніж у пацієнтів без діабету; це дало підставу вважати, що при оксидативному стресі потрібно підвищений рівень вітаміну С [23]. Ехінацея пурпурова виявляє вибірково імуностимулюючу дію, підвищує функціональну активність і кількість Т-лімфоцитів супресорної субпопуляції, стимулює фагоцитоз, має протизапальні, антифунгіцидні, антиоксидантні властивості, потенціює ефект інших антиоксидантних препаратів. При цукровому діабеті в організмі створюється дефіцит цинку внаслідок порушень усмоктування його в кишках та прискореного виведення нирками через поліурію. Цинк відіграє важливу роль у виділенні інсуліну, стабілізації його молекули [24].

Результати досліджень О. А. Бабіної показали, що у комплексному лікуванні дітей віком 12–16 років, хворих на цукровий діабет, з проявами пародонтального синдрому для інгібування підвищеної активності процесу пероксидації і стимуляції місцевого та системного імунітету доцільно призначати: перорально препарати антиоксидантів прямої дії – аскорбінову кислоту та імуностимулятор – екстракт ехінацеї пурпурової [25, 26]. Наші дослідження показали, що застосування комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагіату зумовлювало достовірне зниження показників активності вільнорадикальних процесів вже через добу, зокрема інтенсивність продукування АФК зменшилася на 8,1 % ( $p < 0,05$ ), рівень ГПЛ – на 23,6 % ( $p < 0,001$ ), ТБП – на 16,9 % ( $p < 0,001$ ) стосовно цієї ж групи без лікування. Потрібно відмітити, що на фоні корекції ехцивітом показники активності вільнорадикальних процесів у крові щурів з гострим пародонтитом на тлі гіперглікемії прогресивно зменшувалися до кінця 7 доби, зокрема інтенсивність продукування АФК була менша на 12,5 % ( $p < 0,01$ ), рівень ГПЛ – на 31,3 % ( $p < 0,001$ ), ТБП – на 27,4 % ( $p < 0,001$ ) стосовно цієї ж групи без лікування. Порівнюючи досліджувані показники на 2 і 8 доби встановлено, що використання комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагіату в лікуванні щурів з гострим пародонтитом на фоні цукрового діабету 2 типу достовірно зменшувало інтенсивність оксидативного стресу до кінця експерименту. Так, у сироватці крові щурів на 8 добу медикаментозної корекції рівень АФК був меншим на 7,4 % ( $p < 0,05$ ), ГПЛ – на 15,2 % ( $p < 0,01$ ) і ТБП

– на 26,8 % ( $p < 0,001$ ) відносно показників на 2 добу. Слід зазначити, що при застосуванні препарату “Ехцивіт” у щурів з гострим пародонтитом на тлі гіперглікемії показники активності вільнорадикальних процесів достовірно знижувалися, проте не поверталися до норми (табл. 1).

Антиоксидантний ефект комбінованих таблеток “Ехцивіт” проявлявся також активацією антиоксидант-

ного захисту: зростання рівня СОД, каталази і ЦП ( $p < 0,001$ ) у крові щурів з гострим пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу стосовно даних без медикаментозної корекції. Потрібно відмітити найвищі показники СОД і ЦП на 8 добу застосування ехцивіту при моделюванні досліджуваної патології, тоді як рівень каталази практично не змінювався у дослідних групах тварин на 2 і 8 доби корекції (табл. 2).

**Таблиця 1. Показники активності вільнорадикальних процесів у крові щурів з гострим пародонтитом на тлі гіперглікемії ( $M \pm m$ )**

Показник/група тварин	Інтактні тварини (n=10)	ЦД 2+гострий пародонтит			
		без корекції (n=10)		з медикаментозною корекцією (n=10)	
		2 доба		8 доба	
АФК (ум.од.)	0,32±0,01	0,74±0,02 $p < 0,001$	0,68±0,01 $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	0,72±0,00 $p < 0,001$	0,64±0,01 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
ГПЛ, сироватка (ум. од./мл)	2,64±0,07	6,73±0,17 $p < 0,001$	5,14±0,14 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	6,35±0,16 $p < 0,001$	4,36±0,09 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
ТБП, сироватка (мкмоль/л)	1,85±0,04	5,93±0,10 $p < 0,001$	4,93±0,17 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	4,97±0,10 $p < 0,001$	3,61±0,06 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка. Тут і у таблиці 2:

- 1)  $p$  – достовірність різниці тварин з ЦД 2+гострий пародонтит відносно інтактних тварин;
- 2)  $p_1$  – достовірність різниці тварин з ЦД 2+гострий пародонтит без корекції і з медикаментозною корекцією у відповідні доби дослідження;
- 3)  $p_2$  – достовірність різниці тварин з ЦД 2 і гострим пародонтитом з медикаментозною корекцією через 7 діб відносно групи тварин через 1 добу.

**Таблиця 2. Показники антиоксидантної системи у крові щурів з гострим пародонтитом на тлі гіперглікемії ( $M \pm m$ )**

Показник/група тварин	Інтактні тварини (n=7)	ЦД2+гострий пародонтит			
		без корекції (n=7)		з медикаментозною корекцією (n=7)	
		2 доба		8 доба	
СОД, кров (ум.од.)	1,17±0,02	0,51±0,07 $p < 0,001$	0,62±0,01 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	0,58±0,05 $p < 0,001$	0,88±0,02 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
Каталаза, кров (мкат/л)	1,50±0,12	0,62±0,04 $p < 0,001$	0,74±0,02 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	0,33±0,02 $p < 0,001$	0,77±0,01 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,05$
ЦП, сироватка (мг/л)	240,74±2,54	148,89±3,45 $p < 0,001$	158,64±2,57 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$	151,64±5,37 $p < 0,001$	178,03±2,38 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Отже, використання препарату “Ехцивіт” щурам з гострим пародонтитом на тлі гіперглікемії сприяє пригніченню утворення пероксидів і проміжних продуктів вільнорадикального окиснення ліпідів та активації системи ферментної і неферментної ланок антиоксидантного захисту.

**ВИСНОВОК** Аналіз приведених даних дозволяє зробити висновок про те, що використання комбінованих таблеток на основі екстракту з кореня ехінацеї, аскорбінової кислоти та цинку аспарагіату в лікуванні щурів з гострим пародонтитом на тлі цукрового діабету 2 типу приводить до активізації системи антиоксидантного захисту і зменшення процесів вільнорадикального окиснення.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ahren B. Islet adaptation to insulin resistance: mechanisms and implications for intervention / B. Ahren, G. Pacini // *Diabetes Obes Metab.* – 2005. – Vol. 7 (1). – P. 2–8.
2. Фактори ризику та профілактика цукрового діабету в практиці сімейного лікаря / Г. І. Лисенко, В. І. Ткаченко, Н. В. Ви-

- диборець [та ін.] // Сімейна медицина. – 2009. – № 3. – С. 12–15.
3. Адипокины: биологические, патофизиологические и метаболические эффекты / О. Н. Ковалева, Т. Н. Амбросова, Т. В. Ашеулова, Е. А. Гетман // Внутрішня медицина. – 2009. – № 3. – С. 18–26.
4. The role of nitric oxide in the development of diabetic angiopathy / F. Santilli, F. Cipollone, A. Mezzetti [et al.] // *Horm. Metab. Res.* – 2004. – Vol. 36. – P. 319–35.
5. Мороз К. А. Роль пероксидної оксидації ліпідів у розвитку патології пародонта // *Експерим. та клін. фізіологія і біохімія.* – 2004. – № 2. – С. 87–91.
6. Беленічев І. Ф. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення / І. Ф. Беленічев, С. І. Коваленко, В. В. Дунаєв // *Ліки.* – 2002. – № 1–2. – С. 43–46.
7. Оковитый С. В. Клиническая фармакология антиоксидантов / С. В. Оковитый. – «ФАРМиндекс Практик», 2003. – Вып. 5. – С. 85–111.
8. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.]. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
9. Islam S. Nongenetic Model of Type 2 Diabetes: A Comparative Study / S. Islam, H. Choi // *Pharmacology.* – 2007. – № 79. – P. 243–249.
10. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review / S. Islam, D. T. Loots // *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* – 2009. – № 31(4). – P. 249–261.
11. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 / А. А. Спасов, М. П. Воронкова, Г. Л. Снигур и др. // *Биомедицина.* – 2011. – № 3. – С. 12–18.
12. Ибрагимов Т. И. Прогнозирование эффективности лечения пародонтита на фоне сахарного диабета / Т. И. Ибрагимов, И. Ю. Лебедеко, С. Д. Арутюнов // *Terra medica.* – 2001. – № 4 (24). – С. 30–32.
13. Колесова О. Е. Перексидное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова, А. А. Маркин, Т. Н. Федорова // *Лаб. дело.* – 1984. – № 9. – С. 540–546.
14. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гавришвили // *Современные методы в биохимии; под ред. В. Н. Ореховича.* – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
15. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // *Лаб. дело.* – 1985. – № 11. – С. 678–681.
16. Макаревич О. П. Активность супероксиддисмутазы крови в острый период различных заболеваний / О. П. Макаревич, П. П. Голиков // *Лаб. дело.* – 1983. – № 6. – С. 24–27.
17. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // *Лабораторное дело.* – 1988. – № 1. – С. 16–18.
18. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск, 1982. – 311 с.
19. Патент на корисну модель № 65771: Мачоган В. Р., Авдєєв О. В. / Спосіб моделювання пародонтиту // *Бюлетень № 23.* – 2011 р.
20. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С. // *Доклады АН СССР.* – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
21. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К. : Морион, 2000. – 320 с.
22. Балаболкин М. И. Лечение сахарного диабета и его осложнений : руководство для врачей / М. И. Балаболкин, Е. М. Клебанова, В. М. Кремская // М. : Медицина, 2005. – 512 с.
23. Will J. C. Does diabetes mellitus increase the requirement for vitamin C? / J. C. Will, T. Byers // *Nutr. Rev.* – 1996. – Vol. 54. – P. 193–202.
24. Приступюк О. Метаболічна терапія хворих на цукровий діабет / О. Приступюк // *Міжнародний ендокринологічний журнал.* – 2010. – № 6 (30): [http://www.mif-ua.com/archive/article\\_print/14133](http://www.mif-ua.com/archive/article_print/14133)
25. Бабина О. А. Свободнорадикальное окисление липидов ротовой жидкости у больных инсулинзависимым сахарным диабетом с воспалительными заболеваниями тканей пародонта / О. А. Бабина, Ю. И. Силенко // *Вісник стоматології.* – 1999. – № 3. – С. 47–49.
26. Бабина О. А. Патогенетическое обоснование комплексного лечения заболеваний пародонта у детей, страдающих сахарным диабетом / О. А. Бабина // *Современные аспекты профилактики и лечения стоматологических заболеваний : сборник тез. докл. Междунар. науч.-практ. конф. 7-10 февраля 2000 г.* – Москва. – 2000. – С. 13–14.

Отримано 26.11.13