

УДК 616.311.2-002+616.314.17-008.6+616.716.85-002]:616.153.49:547.495.9]-092.9
DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10606742>

З. Л. Сольвар, Я. О. Погорецька

**ЗМІНИ В СИСТЕМІ ОКСИДУ АЗОТУ В ЛЕГЕНЯХ МУРЧАКІВ З
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ АЛЬВЕОЛІТОМ ТА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ПАРОДОНТИТОМ
У РІЗНІ ПЕРІОДИ МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТУ**

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Z. L. Solvar -<https://orcid.org/0000-0003-2695-7911>

Y. O. Pohoretska -<https://orcid.org/0000-0002-1252-0121>

Summary. Solvar Z. L., Pohoretska J. O. **CHANGES IN THE NITRIC OXIDE SYSTEM IN THE GUINEA PIGS' LUNGS WITH EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS AND EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AT DIFFERENT PERIODS OF EXPERIMENT SIMULATION.** – *Danila Halitskiy Lviv National Medical University; e-mail: bayda_m@ukr.net.* Nitric oxide (NO) plays the role of immune response effector in cells influencing the processes of their maturation, differentiation, proliferation and apoptosis. The change in NO concentration is an important and promising indicator for the treatment of many diseases, as it predicts the use of drugs that lead to an increase or decrease in the number of its metabolites. The aim: to evaluate the state of nitric oxide system in guinea pigs' lungs homogenate with experimental allergic alveolitis and experimental periodontitis in different periods of its formation. The obtained results show a significant increase of nitric oxide stable metabolites concentration as well as a progressive increase in the NOS total activity in all groups of experimental animals in comparison with intact guinea pigs, reaching a maximum value on the 24-th day against the depression of L-arginine concentration, which may indicate the important role of NO pathway in inflammatory process development in experiment.

Key words: nitric oxide, L-arginine, NO-synthase, experimental allergic alveolitis, experimental periodontitis.

Реферат. Сольвар З. Л., Погорецька Я. О. **ЗМІНИ В СИСТЕМІ ОКСИДУ АЗОТУ В ЛЕГЕНЯХ МУРЧАКІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ АЛЕРГІЧНИМ АЛЬВЕОЛІТОМ ТА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ПАРОДОНТИТОМ У РІЗНІ ПЕРІОДИ МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТУ.** Оксид азоту (NO) відіграє роль ефектора імунної відповіді у клітинах, впливаючи на процеси їх дозрівання, диференціювання, проліферації та апоптоз. Зміна концентрації NO є важливим та перспективним показником для лікування багатьох захворювань, оскільки прогнозує застосування препаратів, що ведуть до підвищення або зниження кількості його метаболітів. Метою нашого дослідження було оцінити стан системи оксиду азоту у гомогенаті легень мурчаків з експериментальним алергічним альвеолітом та експериментальним пародонтитом у різні періоди його формування. Одержані результати показують достовірне зростання концентрації стабільних метаболітів оксиду азоту а також прогресуюче підвищення сумарної активності NOS у всіх групах експериментальних тварин у порівнянні з інтактними мурчаків з досягненням максимального значення на 24-у добу на тлі депресії концентрації L-аргініну, що може свідчити про важливу роль сигнального шляху NO у розвитку запального процесу при моделюванні експерименту.

Ключові слова: оксид азоту, L-аргінін, NO-синтаза, експериментальний алергічний альвеоліт, експериментальний пародонтит.

Вступ

Оксид азоту (NO) є всюдисущою сигнальною молекулою, яка опосередковує численні клітинні процеси, пов'язані з серцево-судинною, дихальною, нервовою та імунною системами, а також відіграє важливу роль у регуляції гомеостазу кісток [1].

Це водорозчинна, газоподібна, короткоживуча молекула вільного радикалу, яка відіграє багатогранну роль у широкому діапазоні фізіологічних і патологічних процесів у ссавців [2]. NO утворюється NO-синтазою (NOS) в результаті процесу перетворення L-аргініну (L-arg) в L-цитрулін за участю кисню і нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату. Було ідентифіковано три ізоформи NOS: нейрональна NOS (nNOS) і ендотеліальна NOS (eNOS) є конститутивно експресованими кальцій-залежними ферментами, які характеризуються швидким виробництвом невеликої кількості NO; індукований NOS (iNOS) є кальцій-незалежним ферментом, який активується на транскрипційному рівні під час запалення, спричиняючи відносно повільне, але підвищене виробництво NO [2, 3].

Низка досліджень показала, що NO має двофазний вплив на формування та функцію остеокластів: опосередковує злиття преостеокластів через активізацію ремоделювання актинового цитоскелета [4].

NO широко бере участь у біомеханічній реакції пародонту має дозозалежний і двофазний вплив на функціональний статус остеобластів, остеокластів, остеоцитів і фібробластів, сприяє проліферації, диференціації або інгібуванню функціонування клітин. Як запальний фактор і ключовий другий месенджер у механічній трансдукції, NO диференційовано експресується на стороні натягу та стиснення під час руху зуба, що свідчить про комплексну участь у ремоделюванні кістки [4].

Крім того, що NO синтезується організмом, він може вироблятися бактеріями порожнини рота в умовах гіпоксії шляхом перетворення нітрату слини на нітрит. При захворюваннях, пов'язаних із накопиченням зубного нальоту, включаючи періодонтит, повідомлялося про підвищення рівня NO як у крові, так і в слині [5].

Рівні експресії та виробництва iNOS помітно збільшуються після пошкодження, коли клітини активуються зовнішніми подразниками [6].

NO опосередковує патологічні ефекти ліпополісахариду (LPS), TNF, IL-1 та інших цитокінів, регулює адгезію лейкоцитів і епітеліальних клітин, пригнічує проліферацію Т-клітин і покращує активність природних клітин - кілерів (NK), серед інших процесів, пов'язаних з імунною системою. Ці результати показали, що NO тісно пов'язаний з імунною функцією, а отже, може відігравати ключову роль у прогресуванні коморбідної патології [6].

Мета дослідження: оцінити стан системи оксиду азоту у гомогенаті легень мурчаків з експериментальним пародонтитом та експериментальним екзогенним альвеолітом у різні періоди його формування.

Матеріал і методи дослідження. Експериментальні дослідження проводились на 55 морських свинках (самцях) масою 180 — 220 г, поділених на 5 груп по 9 тварин у кожній, крім першої (10 тварин): перша – інтактні тварини – контроль; друга група - тварини з експериментальним пародонтитом ЕП та експериментальним алергічним альвеолітом ЕАА на 4-у добу експерименту, до третьої групи відносили мурчаки з поєднаною патологією на 7-у добу моделювання хвороби, до четвертої - тварини на 14-у добу експерименту і до п'ятої – тварини на 24-у добу спостереження. Експериментальна модель пародонтиту відтворювалась на мурчаках за методом О. Н. Воскресенського [7], експериментальний алергічний альвеоліт - за методом О. О. Орехова, Ю. А. Кирилова [8]. Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах виварію Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом та визначали біохімічні показники відносно встановлених методик у гомогенаті легень.

Вміст стабільних метаболітів оксиду азоту визначали за методом Н. Н. Shmidt [9], активність iNOS та cNOS – за методом В. В. Сумбаєва [10], концентрацію L-аргініну (L-Arg)

–за методом Т. М. Алейнікова [11].

Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Проведені експериментальні дослідження виявили зміни метаболізму оксиду азоту за умов розвитку ЕП та ЕАА у порівнянні з контрольною групою тварин. Представлені дані показують достовірне зростання концентрації стабільних метаболітів оксиду азоту на 90%, 95%, 100%, 110% ($p < 0,05$) відповідно на 4-у, 7-у, 14- у, та 24-у доби проведення експерименту (Рис.1) Також встановлено прогресуюче підвищення сумарної активності NOS у всіх групах експериментальних тварин на у порівнянні з інтактними мурчаками з досягненням максимального значення на 24-у добу, що становило 133, 3% ($p < 0,05$) проти контролю (Рис.1). Дані зміни можна трактувати як активацію системи оксиду азоту, яка зумовлена імунологічною відповіддю організму за умов розвитку поєднаної патології. Натомість спостерігалось зниження концентрації L-Arg, як донатора оксиду азоту, починаючи вже з 4-ї доби моделювання цих патологій на 57,5% ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольною групою, далі цей показник продовжував знижуватись на 7-у та 14- у доби відповідно на 62,5% ($p < 0,05$) і 65% ($p < 0,05$) проти контролю і зазнавав стійкої депресії на 24-у добу експерименту - 70% ($p < 0,05$) у порівнянні з інтактними тваринами (Рис.1). З літературних джерел відомо, що в результаті зниження рівня L-аргініну підвищується продукція пероксинітриду, що має проконтракційну і прозапальну дію. Низькі концентрації L-аргініну можуть призвести не тільки до зниження рівня оксиду азоту або NO-синтази, але і до збільшення вмісту активних форм кисню, які викликають пошкодження тканин [12].

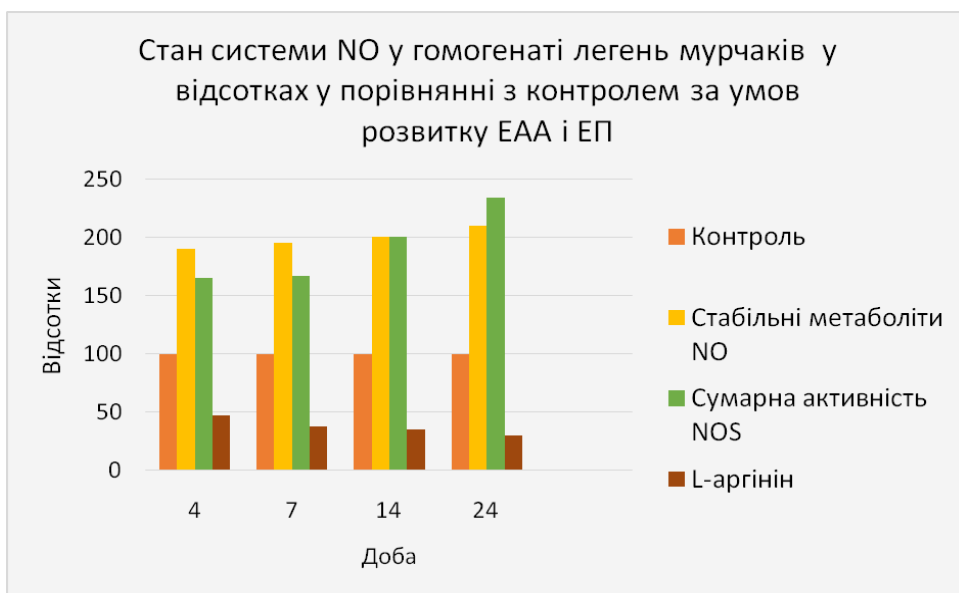


Рис. 1. Стан системи NO у гомогенаті легень мурчаків у % у порівнянні з контролем за умов розвитку ЕАА і ЕП

Висновок:

Дані, отримані при дослідженні, вказують на важливу роль системи оксиду азоту в патогенезі розвитку експериментального пародонтиту та експериментального алергічного альвеоліту. Отримані результати стали основою для з'ясування ролі сигнального шляху NO у розвитку пародонтиту та алергічного альвеоліту механізму його дії. Це дозволить розширити існуючі уявлення про особливості патогенезу даних патологій, а також впроваджувати нові дослідження в клініку для контролю за рівнем цих метаболітів розвитку захворювання і ефективності лікувальних заходів.

Література/ References:

1. Li Y, Jacox LA, Little SH and Ko CC: Orthodontic tooth movement: The biology and

clinical implications.// Kaohsiung J Med Sci. 34:207–214. 2018. [View Article](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed/NCBI](#)

2. Antoun JS, Mei L, Gibbs K and Farella M: Effect of orthodontic treatment on the periodontal tissues. //Periodontol. 74:140–157. 2017. [View Article](#) : [Google Scholar](#)

3. Dhenain T, Côté F and Coman T: Serotonin and orthodontic tooth movement. Biochimie. 161:73–79. 2019. [View Article](#) : [Google Scholar](#) : [PubMed/NCBI](#)

4. Kaneko K, Miyamoto Y, Tsukuura R, Sasa K, Akaike T, Fujii S, Yoshimura K, Nagayama K, Hoshino M, Inoue S, et al: 8-Nitro-cGMP is a promoter of osteoclast differentiation induced by RANKL. Nitric Oxide. 72:46–51. 2018. [View Article](#) : [Google Scholar](#)

5. de Farias JO, de Freitas Lima SM and Rezende TMB: Physiopathology of nitric oxide in the oral environment and its biotechnological potential for new oral treatments: A literature review. Clin Oral Investig. 24:4197–4212. 2020. [View Article](#): [Google Scholar](#) : [PubMed/NCBI](#)

6. Sundar NM, Krishnan V, Krishnaraj S, Hemalatha VT and Alam MN: Comparison of the salivary and the serum nitric oxide levels in chronic and aggressive periodontitis: A biochemical study. J Clin Diagn Res. 7:1223–1227. 2013. [PubMed/NCBI](#)

7. Воскресенский О. Н. Доклиническое изучение средств профилактики и лечения пародонтита (пародонтопротекторов). Методические рекомендации / О. Н. Воскресенский. – К.: Авиценна, 2002. – 16 с. [*Voskresensky O. N. Preclinical study of means for the prevention and treatment of periodontitis (periodontoprotectors). Methodological recommendations / O. N. Voskresensky. – K.: Avicenna, 2002. – 16 p.*]

8. Орехов О. О. Патоморфология легких и микроциркуляторного русла малого круга кровообращения при хроническом экспериментальном аллергическом альвеолите / О. О. Орехов, Ю. А. Кирилов // Архив патологии. – 1985. –N 10.– С.54 – 61. [*Orekhov O. O. Pathomorphology of the lungs and microvasculature of the pulmonary circulation in chronic experimental allergic alveolitis / O. O. Orekhov, Yu. A. Kirilov // Pathology Archives. – 1985. –N 10.– P.54 – 61*]

9. Schmidt H. H. W. Determination of Nitrite and Nitrate in Culture Media. *Acta Biochemica*. 1995. Vol.2. P. 323–327.

10. Сумбаев В. В. Влияние ДДТ на активность синтазы оксида азота в печени, легких и головном мозге крыс / В. В. Сумбаев, И. М. Ясинская // Совр. пробл. токсикологии. – 2000. – No 3. – С. 3–7 [*Sumbaev V. V. Effect of DDT on the activity of nitric oxide synthase in the liver, lungs and brain of rats / V. V. Sumbaev, I. M. Yasinskaya // Sovrem. problem toxicology. – 2000. – No. 3. – P. 3–7*]

11. Алейникова Т. Л. Руководство к практическим занятиям по биохимии / Т. Л. Алейникова, Г. В. Рубцова. – М.: Высшая школа. – 1988. – 239 с. [*Aleinikova T. L. Guide to practical lessons in biochemistry / T. L. Aleinikova, G. V. Rubtsova. – M.: Higher school. – 1988. – 239 p.*]

12. Садляк О. В. Оксид азоту: деякі аспекти прояву біохімічних ефектів на органно-системному рівні//Медична та клінічна хімія. 2015. Т17. №4. С.107-108 [*Sadlyak O. V. Nitric oxide: various aspects of the manifestation of biochemical effects on the organ-system level // Medical and clinical chemistry. 2015. T17. No. 4. P. 107-108*]

Внесок авторів/authors' contribution

Автори зазначають про рівномірний вклад в концепцію, написання та затвердження статті. Автори прочитали й погодилися з опублікованою версією рукопису.

Фінансування /Funding: Це дослідження не отримало зовнішнього фінансування.

Висновок комісії по біоетиці.

Отримано позитивне рішення комісії з біоетики Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (протокол № 9 від 21.12.2020). Дослідження проводиться згідно «Європейська конвенція щодо захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших наукових цілях», 1986 (додаток №2);

«Міжнародні рекомендації (етичний кодекс) щодо проведення медико-біологічних досліджень з використанням тварин», прийняті у 1985 році Радою міжнародних наукових організацій (додаток №3);

Заява про доступність даних

Вся інформація знаходиться у відкритому доступі, дані можуть бути отримані на запит у провідного автора.

Подяка /Acknowledgments

Автори висловлюють подяку за сприяння написанню роботи науковим колективам своїх закладів.

Конфлікт інтересів

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Робота надійшла в редакцію 11.10.2023 року.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування

УДК 616.24-002-007.5.055.2.610

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10606751>

М. С. Рєгеда, В. В. Галій-Луцька

ВИЗНАЧЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КОРВИТИНУ ТА ТІОТРИАЗОЛІНУ ЩОДО КОРЕКЦІЇ ВІДХИЛЕНЬ ПАРАМЕТРІВ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИХ СИСТЕМ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ АЛЕРГІЧНОМУ АЛЬВЕОЛІТІ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОМУ СТРЕСІ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

Authors information

Рєгеда, М. С. - <http://orcid.org/0000-0003-2810-914X>

Abstract. Regeda M. S., Galiy-Lutska V. V. **DETERMINATION OF THE EFFECTIVENESS OF CORVITIN AND THIOTRIAZOLINE REGARDING THE CORRECTION OF DEVIATIONS IN THE PARAMETERS OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEMS IN EXPERIMENTAL ALLERGIC ALVEOLITIS AND IMMOBILIZATION STRESS.** *Danylo Halytsky Lviv National Medical University - lvivmedinst@gmail.com.* **The aim of the study** is to determine the effect of corvitin and thiotriazoline on the parameters of prooxidant-antioxidant systems under the conditions of experimental allergic alveolitis (EAA) and immobilization stress (IS). **Materials and Methods.** The study was conducted on 110 male guinea pigs (GP), weighing 180-210 g, which were included in 5 experimental groups (EG): the first — intact GP; the second — GP with EAA; the third — GP with IS; the fourth — GP with EAA and IS; the fifth — GP with EAA and IS, which were administered corvitin intraperitoneally at a dose of 40 mg/kg and thiotriazoline intramuscularly at a dose of 50 mg/kg from the 14th to the 24th day of the study. Removal from the experiment was carried out by the method of decapitation in terms corresponding to the stages of stress (1, 14 and 24 days). The reproduction of EAA was performed according to the method of O.O. Orekhov, Yu.A. Kyrylov, IS - according to the method of P. D. Horizontov, determination of malondialdehyde (MDA) - according to the method of E. N. Korobeynikov, diene conjugates (DC) - according to the method of V. B. Gavrilov, M. I. Myshkorudnaya, superoxide dismutase (SOD) — according to R. Fried, catalase (CT) — B. Holmes, C. Masters, ceruloplasmin (CP) — according to V. G. Kolb, V. S. Kamyshnikov.