

Експериментальні дослідження

The Experimental Researches

УДК: 616.314.18-002.4-02:612.176:612.015.11:546.177]-092.9

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7188246>

**ЗНАЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ ОКСИДУ АЗОТУ ДЛЯ
ПАТОГЕНЕЗУ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ПАРОДОНТИТУ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ**

Регада М.С., Олекшій П.В.

*Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького
Львівський медичний інститут*

**ЗНАЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА ОКСИДА АЗОТА
ДЛЯ ПАТОГЕНЕЗА РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО
ПАРОДОНТИТА И ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА**

Регада М.С., Олекшей П.В.

*Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого
Львовский медицинский институт*

**SIGNIFICANCE OF DISORDERS OF NITRIC OXIDE METABOLISM
FOR THE PATHOGENESIS OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS
AND IMMOBILIZATION STRESS**

Regeda M.S., Olekshii P.V.

*Lviv National Medical University named after Danylo Halytskyi
Lviv Medical Institute*

78

Summary/Резюме

The aim of the study was to determine the changes in the indicators of the nitric oxide system in the blood of guinea pigs during the formation of experimental periodontitis (EP) and immobilization stress (IS).

Experimental studies were performed on 40 guinea pigs (males), body weight 0.18-0.21 kg, Guinea pigs were divided into four groups (10 in each): the first - intact animals - control; the second (experimental) group - animals with experimental periodontitis under conditions of immobilization stress (3rd day), the third group included guinea pigs with EP and IS on the 5th day of the combined model process, to IV - animals with EP and IS 15th day.

Experimental periodontitis was modeled by the method of ZR Jogan (1983). Immobilization stress was reproduced by the method of PD Horizontov (1996). We selected fixed days (3rd, 5th and 15th) for studies that corresponded to the classic stages of acute inflammation.

Activity of NO synthases was detected by V.V. Sumbaev method, L-arginine content in blood serum – by T.L.Aleinikov method, stable NO metabolites – by H.H.W. Schmidt. All digital results of investigation were processed statistically by Student's method.

Determination of L-arginine and nitric oxide in the blood in the combined

pathology - experimental periodontitis and immobilization stress showed a multidirectional vector of changes - an increase in stable metabolites of nitric oxide and total activity of nitric oxide synthases on the background of decreasing concentrations of L-arginine, especially on the 15th day of the experiment. These changes lead to excessive formation of nitric oxide in blood lymphocytes, which, in turn, in high concentrations initiates the processes of oxidative and nitrosive stress, which lead to a violation of prooxidant-antioxidant balance. As a result, there is an activation of apoptotic mechanisms and the initiation of destructive processes in cells, which leads to the progression of dysfunction.

Key words: *periodontitis, stress, nitric oxide.*

Мета роботи – вивчити зміни показників системи оксиду азоту в крові морських свинок під час формування експериментального пародонтиту (ЕП) та іммобілізаційного стресу (ІС).

Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), яких розподіляли на чотири групи (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група - тварини з експериментальним пародонтитом та іммобілізаційним стресом (3-я доба), до III групи відносили морські свинки з ЕП та ІС на 5-у добу комбінованого модельного процесу, до IV - тварини з ЕП та ІС (15-а доба).

Експериментальний пародонтит моделювали за методом З.Р.Жоган (1983). Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996). Нами були вибрані фіксовані доби (3-я, 5-а та 15-а) для досліджень, які відповідали класичним стадіям гострого запального процесу.

Активність NO-синтаз визначали за методом В.В. Сумбаєва, вміст L-аргініну в сироватці крові – за методом Т.Л.Алейнікова, стабільних метаболітів NO – за Н.Н.W. Schmidt. Достовірність змін змін встановлювали за *t*-критерієм Стьюдента.

Визначення показників системи L-аргініну і оксиду азоту в крові в умовах поєднаної патології – експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу показало різноспрямований вектор змін – зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту і сумарної активності синтаз оксиду азоту на тлі зниження концентрації L-аргініну, які були найбільше виражені на 15-у добу експерименту. Ці зміни призводять до надлишкового утворення оксиду азоту в лімфоцитах крові, який, у свою чергу, у високих концентраціях ініціює процеси оксидативного та нітрозивного стресу, які ведуть до порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги. У результаті цього відбувається активація апоптичних механізмів та ініціація деструктивних процесів у клітинах, що веде до прогресування дисфункції.

Ключові слова: *пародонтит, стрес, оксид азоту.*

Цель работы – изучить изменения показателей системы оксида азота в крови морских свинок при формировании экспериментального пародонтита (ЭП) и иммобилизационного стресса (ИС).

Экспериментальные исследования проводились на 40 морских свинках (самцах), которые распределялись на четыре группы (по 10 в каждой): первая – интактные животные – контроль; вторая (опытная) группа - животные с экспериментальным пародонтитом и иммобилизационным стрессом (3-е сутки), к III группе относили морские свинки с ЭП и ИС на 5-е сутки комбинированного модельного про-

цесса, к IV - животные с ЭП и ИС (15-е сутки).

Экспериментальный пародонтит моделировали методом З.Р.Жоган (1983). Иммунизационный стресс воспроизводили по методу П.Д. Горизонтова (1996). Нами были выбраны фиксированные сутки (3-я, 5-я и 15-я) для исследований, которые соответствовали классическим стадиям острого воспалительного процесса.

Активность NO-синтазы определяли по методу В.В. Сумбаева, содержание L-аргинина в сыворотке крови – по методу Т.Л.Алейникова, стабильных метаболитов NO – при Н.Н.W. Шмидт. Достоверность изменений устанавливали по t-критерию Стьюдента.

Определение показателей системы L-аргинина и оксида азота в крови в условиях сочетанной патологии – экспериментального пародонтита и иммобилизационного стресса показало разнонаправленный вектор изменений – рост содержания стабильных метаболитов оксида азота и суммарной активности синтаз оксида азота на фоне снижения концентрации L-аргинина, которые были наиболее на 15-е сутки эксперимента. Эти изменения приводят к избыточному образованию оксида азота в лимфоцитах крови, который, в свою очередь, в высоких концентрациях инициирует процессы оксидативного и нитрозивного стресса, ведущие к нарушению прооксидантно-антиоксидантного равновесия. В результате происходит активация апоптических механизмов и инициация деструктивных процессов в клетках, что ведет к прогрессированию дисфункции.

Ключевые слова: пародонтит, стресс, оксид азота.

Вступ

Проблема високої поширеності та потреби у лікуванні захворювань пародонту є однією з пріоритетних для сучасної стоматології. Пародонтит — це запальне захворювання тканин ясен, що оточують і утримують зуб (пародонт). Серед причин розвитку пародонтита виділяють загальні (системні) і місцеві. До загальних відносять таку соматичну патологію, як цукровий діабет, імунodefіцити, захворювання системи крові і т. д., які мають так званий «пародонтальний синдром» [3]. Крім того, багато хронічних захворювань, не маючи специфічного впливу на пародонт, призводять до виникнення або ускладнюють перебіг хронічного пародонтита. Особливе місце серед цих системних факторів займає психологічний стрес, розповсюдженість якого постійно зростає [3, 4].

У наш час велика увага приділяється вивченню ролі оксиду азота (NO), як універсального трансмітера, у розвитку

різних патологічних станів. NO викликає розслаблення гладких м'язів судин, приймає участь в захисті від патогенів, є нейромедіатором, регулює програмну загибель і проліферацію клітин, відіграє важливу роль в секреторній і репродуктивній системі [5]. Таким чином, NO-синтази і продукований ними оксид азоту являються «справжніми» регуляторами запалення. Збільшення продукції NO, маючи важливе адаптивне значення для організму, може перетворюватись із ланки адаптації в патогенетичну і стати небезпечним пошкоджувальним фактором для організму [6].

Незважаючи на наукові розробки, які ведуться в цьому напрямку, вивчення ролі NO-залежних механізмів у розвитку генералізованого пародонтиту дозволить краще зрозуміти основні патогенетичні закономірності розвитку даної патології, які значною мірою не з'ясовані.

Мета роботи – вивчити зміни показників системи оксиду азоту в крові

морських свинок під час формування експериментального пародонтиту (ЕП) та іммобілізаційного стресу (ІС).

Матеріал та методи досліджень

Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), масою тіла 0,18-0,21 кг, що утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Морські свинки розподілялися на чотири групи (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група – тварини з експериментальним пародонтитом та іммобілізаційним стресом (3-я доба), до III групи відносили морські свинки з ЕП та ІС на 5-у добу комбінованого модельного процесу, до IV – тварини з ЕП та ІС (15-а доба).

Експериментальний пародонтит моделювали за методом З.Р.Жоган (1983) [2]. Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996) [1]. Нами були вибрані фіксовані доби (3-я, 5-а та 15-а) для досліджень, які відповідали класичним стадіям гострого запального процесу. Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які вико-

ристовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Активність NO-синтаз визначали за методом В.В. Сумбаєва [7], вміст L-аргініну в сироватці крові – за методом Т.Л.Алейнікова [8], стабільних метаболітів NO – за Н.Н.W. Schmidt [9]. Варіаційно-статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів *Microsoft Excel*. Достовірність змін змін встановлювали за *t*-критерієм Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

У динаміці формування ЕП та ІС встановлено, що стабільні метаболіти практично лінійно зростають вже на початковому етапі і досягають максимуму в найпізніший термін експерименту. Так, на 3-ю добу формування ЕП та ІС досліджуваний показник підвищується на 61,9% ($p < 0,05$) в порівнянні з I групою тварин. У подальшому рівень стабільних метаболітів утримується на цьому ж високому рівні, а саме спостерігаємо збільшення на 5-у та 15-у доби відповідно на 66,6% ($p < 0,05$) і 73,6% ($p < 0,05$) відносно групи контролю (табл.1).

При вивченні рівня активності сумарної синтази оксиду азоту (ендотеліальної та індукційної) у крові морських свинок з ЕП та ІС було виявлено вагоме зростання її рівня (3-я, 5-а та 15-а доби) відповідно на 77,4% ($p < 0,05$), 95,1% ($p < 0,05$), 96,7% ($p < 0,05$) в порівнянні з контрольною групою. Зростання активності сумарної NO-синтази лімфоцитів свідчить про

Показники системи оксиду азоту у лімфоцитах периферійної крові у мурчаків при ЕП та ІС. ($M \pm m$, $n=40$)

Групи	Тривалість захворювання в добах	Кількість тварин	Стабільні метаболіти NO мкмоль/л	Сумарна активність NOS, нмоль NADPH(H+)/ (хв./мл)	L-аргінін, мкг/мл
Інтактні тварини. Контроль		10	17,1±2,4*	0,62±0,11*	41,3±5,0*
Морські свинки з ЕП та ІС	3	10	27,7±3,2*	1,1±0,02*	18,4±4,4*
	5	10	28,5±3,3*	1,21±0,03*	17,3±3,2*
	15	10	29,7±3,4*	1,23±0,03*	15,2±3,4*

Примітка: * – зміни вірогідні щодо величин групи контролю ($p \leq 0,05$).

зміни функціональної активності імунно-компетентних клітин і порушення метаболічних процесів [7]. Це, у свою чергу, стимулює розвиток оксидативного та нітрозивного стресу, що і буде поглиблювати порушення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги (табл. 1).

При оцінці активності L-аргініну зафіксовано його спадання в динаміці формування ЕП та ІС. Так, рівень досліджуваного показника знижувався на початковому етапі розвитку комбінованого модельного процесу, зокрема на 3-ю добу, був знижений на 55,4% ($p < 0,05$) у порівнянні з контрольними величинами. Пізніше, на 5-у та 15-у доби відмічалась аналогічна картина: поступова регресія L-аргініну на 58,1 % ($p < 0,05$) та 63,1% ($p < 0,05$) відповідно проти першої групи тварин (табл. 1).

Висновки

Визначення показників системи L-аргініну і оксиду азоту в крові в умовах поєднаної патології – експериментального пародонтиту та іммобілізаційного стресу показало різноспрямований вектор змін – зростання вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту і сумарної активності синтаз оксиду азоту на тлі зниження концентрації L-аргініну, які були найбільше виражені на 15-у добу експерименту. Ці зміни призводять до надлишкового утворення оксиду азоту в лімфоцитах крові, який, у свою чергу, у високих концентраціях ініціює процеси оксидативного та нітрозивного стресу. У результаті цього відбувається активація апоптичних механізмів та ініціація деструктивних процесів у клітинах, що веде до прогресування дисфункції.

Література

1. Горизонтов П.Д. Стресс и система крови/ П.Д.Горизонтов, О.И.Белоусов, М.И.Федотов/, М.: Медицина, 1983.-с.338
2. Жоган З.Р. Клинико-экспериментальное обоснование усовершенствования ортопедических методов при комплексном лечении заболеваний пародонта. Авто-

реф. Дис. К.мед.н., Киев, 1996.-с. 18.

3. Кононова О. В. Ефективність лікування загостреного перебігу генералізованого пародонтиту у хворих з проявами психо-емоційного стресу / О. В. Кононова // Сучасна стоматологія. - 2020. - № 2. - С. 24-28.
4. Li, H., Horke, S., & Fürstermann, U. (2014). Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 237 (1), 208-219.
5. Faro, M. L. L., Fox, B., Whatmore, J. L., Winyard, P. G., & Whiteman, M. (2014). Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. *Nitric Oxide*, 41, 38-47.
6. Regeda-Furdychko M. M. The influence of thiotriazoline on the indicators of nitric oxide under the condition of experimental contact dermatitis and experimental pneumonia. *Journal of Education, Health and Sport*. 2020;10(2):35-40.
7. Сумбаєв В.В., Ясінська І.М. Вплив ДДТ на активність синтази оксиду азоту в печінці, легенях і мозку щурів. Сучасні проблеми токсикології. 2000. № 3. С. 3-7.
8. Алейнікова Т.Л., Рубцова Г.В., Павлова Н.А. Керівництво до практичних занять з біохімії М.: Медицина. 2000. 128 с.
9. Schmidt H. H. W. Determination of Nitrite and Nitrate in Culture Media. *Acta Biochemica* 1995. No. 2. P. 323-327.

References

1. Gorizontov PD, Belousov OI, Fedotov MI. Stress i systema krovi. M.: Medicine, 1983.p.338.
2. Jogan ZR Clinico-experimentalne obosnovanie usovershenstvovaniya orthopedichnykh metodiv pry complexnomu likuvanni chvorob parodonta. Author's ref. Dis. Candidate of Medical Sciences, Kyiv, 1996. p.18.
3. Kononova OV Efektyvnist likuvannja zagostrenogo perebigu generalizovanogo parodontytu v chvorych z proyavamy psich-oemocijnogo stresu. Suchasna stomatologia 2020. № 2. P. 24-28.
4. Aleinikova TL., Rubtsova G. V., Pavlova N. A Guide to practical classes in biochemistry M.: Medicine. 2000. 128 p.
5. Li, H., Horke, S., & Fürstermann, U. (2014). Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 237 (1), 208-219.
6. Faro, M. L. L., Fox, B., Whatmore, J. L., Winyard, P. G., & Whiteman, M. (2014).

- Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. Nitric Oxide, 41, 38-47.
7. Regeda-Furdychko M. M. The influence of thiotriazoline on the indicators of nitric oxide under the condition of experimental contact dermatitis and experimental pneumonia Journal of Education, Health and Sport. 2020;10(2):35-40.
8. Schmidt H. H. W. Determination of Nitrite and Nitrate in Culture Media. Acta Biochemica 1995. No. 2.P. 323-327.
9. Sumbaev VV., Yasinskaya IM Influence of DDT on activity of nitric oxide synthase in the rats' liver, lungs and brain. Contemporary problems of toxicology. 2000. No. 3. P. 3-7.
- Впервые поступила в редакцию 05.07.2022 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 577.57.052

DOI: <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.7188248>

ВМІСТ РИБОФЛАВІНУ І ЛЮМІХРОМУ В МОЗКУ ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ

Федорко Н.Л., Козлик К. О., Петров С.А.

*Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, м. Одеса
nataliafedorko.biochemistry@gmail.com*

СОДЕРЖАНИЕ РИБОФЛАВИНА И ЛЮМИХРОМА В МОЗГЕ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

Федорко Н.Л., Козлик К. А., Петров С.А.

*Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова, г. Одесса
nataliafedorko.biochemistry@gmail.com*

THE CONTENT OF RIBOFLAVIN AND LUMICHROME IN THE BRAIN OF RATS OF DIFFERENT AGES

Fedorko N.L., Kozlik K.O., Petrov S.A.

*Mechnikov National University, Odessa,
nataliafedorko.biochemistry@gmail.com*

Summary/Резюме

The aging process is a programmed component of the development of any organism. In ontogenesis, there is a redistribution in substrates, metabolites, and the intensity of metabolism changes. At the same time, the body is adapting to these changes, the nature of the formation of intracellular homeostasis changes, which can be accompanied by the disintegration of metabolism and a decrease in the adaptive capacity of the body. Riboflavin plays a key role in energy metabolism, as well as in the metabolism of fats, ketone bodies, carbohydrates and proteins. Its coenzyme forms and enzymes involved in the formation of flavin nucleotides are well known, but catabolism of riboflavin to non-coenzymatic forms, and the fate of the rest in metabolism is not viable, which is directly relevant.

In the work content is defined riboflavin and its non-coenzymatic form — lumichrome, were included in the brain cells: great pimple, cerebellum, stovbur, bark of the eyelids of the different eyelids. It has been established that the age of riboflavin changes in all doslidzhuvanih brain cells of the eyes. The regularity of