

ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ І СТАНУ АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО ПАРОДОНТИТУ НА ТЛІ ГІПОТИРЕОЗУ

Для вивчення впливу експериментального гіпотиреозу на особливості перебігу вільнорадикальних процесів і стану антиоксидантного захисту в щурів з гострою механічною травмою м'яких тканин ясен було проведено визначення продукування активних форм оксигену мононуклеарними лейкоцитами, визначення концентрації гідропероксидів ліпідів, малонового діальдегіду, основ Шиффа, а також активності супероксиддисмутази, каталази, концентрації церулоплазмину і відновленого глутатіону. Гіпотиреозу в щурів досягали шляхом введення мерказолілу в дозі 25 мг/кг протягом 21-ї доби. Запалення у тварин з гострою травмою ясен на тлі гіпотиреозу призводило до менш вираженого, ніж в еутиреоїдних щурів, зростання активних форм оксигену і продуктів ліпопероксидації та більш вираженого зниження активності ферментів першої лінії антиоксидантного захисту – супероксиддисмутази і каталази та вмісту церулоплазмину і відновленого глутатіону.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: запалення пародонта, гіпотиреоз, вільнорадикальне окиснення, антиоксидантна система.

ВСТУП. У структурі ендокринної патології одне з провідних місць відводять захворюванням щитоподібної залози, зокрема первинному гіпотиреозу. Поширеність субклінічного гіпотиреозу в популяції досягає 10–12 %, маніфестного гіпотиреозу – варіює від 0,2 до 2,0 %, а в групі жінок старшого віку може досягати 16 % і більше. Тернопільська область належить до географічних ареалів, для яких характерні дефіцит йоду та, як наслідок, порушення тиреоїдного статусу жителів. Порушення функції щитоподібної залози посилюють фактори впливу великого урбанізованого центру: екологічна ситуація, зростання кількості стресів, напружений ритм життя. Знижене продукування тиреоїдних гормонів впливає на функцію і стан багатьох органів та систем, зокрема зубоальвеолярного комплексу, імунної системи, метаболізм кісткової тканини. Деякі автори вказують на порушення імунологічних параметрів і розвиток вторинної імунної недостатності при гіпофункції щитоподібної залози. Тривалий перебіг гіпотиреозу і хронічного генералізованого пародонтиту має взаємообтяжливий вплив на імунну систему і призводить до формування порочного кола. Це зумовлює низьку ефективність лікування пародонтиту в даного контингенту хворих.

© Т. І. Дзецюх, І. М. Кліщ, 2012.

Дослідження, присвячені вивченню патології пародонта при гіпофункції щитоподібної залози, вкрай не численні. У науковій літературі зустрічаються поодинокі публікації, в яких деякі автори вказують на високу поширеність пародонтиту при гіпотиреозі і зниження окремих показників неспецифічної резистентності. Однак наявні дані не дозволяють отримати повного уявлення про особливості перебігу пародонтиту у хворих з первинним гіпотиреозом.

Недостатньо вивчено і питання комплексного лікування пародонтиту, що перебігає на тлі гіпофункції щитоподібної залози. Вищевикладене визначає актуальність поглибленого вивчення змін у пародонті, метаболічних порушень та пошуку оптимального підходу в лікуванні хронічного пародонтиту на тлі первинного гіпотиреозу з комплексною оцінкою даних клінічного, імунологічного, молекулярно-генетичного та морфологічного досліджень.

Недостатньо розкрита роль гормонів щитоподібної залози в регуляції активності вільнорадикальних процесів і стану антиоксидантної системи визначила актуальність вивчення особливостей перебігу запалення пародонта на тлі гіпотиреозу.

З огляду на вищенаведене, метою даної роботи було вивчити активність процесів ліпід-

ної пероксидації і стан антиоксидантної системи в сироватці крові й гомогенатах ясен щурів із запаленням у тканинах пародонта на тлі гіпотиреозу.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою 180–200 г. Гіпотиреоз моделювали введенням *per os* мерказолілу (“Акрихин”, Росія, в дозі 25 мг/кг) протягом 21-ї доби. Контроль здійснювали за рівнем тироксину, трийодтироніну і тиреотропного гормону, а також за масою тварин і їх руховою активністю. До групи порівняння входили тварини, яким мерказоліл не вводили. Вплив гіпотиреозу на перебіг запального процесу при пародонтиті вивчали на моделі запалення, викликаного гострою травмою м'яких тканин ясен [8]. Тваринам під тіопенталовим наркозом (30 мг/кг) з губної сторони до тканин пародонта нижнього різця підводили робочу головку ультразвукового генератора – випромінювач від ультразвукового скейлера ART (Великобританія), і впродовж 60 с чинили однократний направлений вплив коливаннями ультразвукової частоти при таких параметрах впливу, як: частота коливань – 50 кГц, потужність випромінювання – 1,2 Вт·см² при експозиції впливу 60 с. Операцію проводили на 14-ту добу після першого введення мерказолілу. Через одну і 8 діб після операції щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Групами порівняння слугували тварини з експериментальним гіпотиреозом і щури з гострою механічною травмою м'яких тканин ясен. Контролем був матеріал від інтактних тварин.

Вміст загального тироксину (T_4) і загального трийодтироніну (T_3) у сироватці визначали імунофлуоресцентним методом з використанням стандартних тест-наборів “Immulite 1000”. Концентрацію гормонів виражали в пмоль/л, рівень тиреотропного гормону (ТТГ) – в мМО/л. Продукцію активних форм кисню (АФО) визначали методом проточної цитофлуориметрії на апараті “Epic XL” (“Beckman Coulter”, Франція) із застосуванням барвника дихлорфлюоресцеїну діацетату (ДФХ-ДА) (“Sigma Aldrich”, США). Значення досліджуваного параметра виражали в умовних одиницях (інтенсивність світіння на клітину). Рівень гідропероксидів ліпідів (ГПЛ), вміст малонового діальдегіду (МДА) й основ Шиффа визначали за загальноприйнятими спектрофотометричними методиками [3, 9, 10]. Стан антиоксидантної системи оцінювали за активністю супероксиддисмутази (СОД) за методом [11] у модифікації [5] і каталази (КТ) у крові [1] й гомогенаті ясен [6], церулоплазмину

(ЦП) у сироватці крові [2], відновленого глутатіону (ВГ) у гомогенаті ясен [12]. При статистичному аналізі даних використовували такі показники варіаційної статистики, як середнє арифметичне значення (M), стандартна помилка середнього значення (m). Достовірність відмінностей порівнюваних параметрів між різними вибірками визначали з використанням непарного критерію Стьюдента (достовірними вважали відмінності при $p < 0,05$) [4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для оцінки функціонального стану щитоподібної залози при моделюванні гіпотиреозу визначено концентрації тиреоїдних гормонів у крові. Рівень тироксину у здорових щурів склав $(18,39 \pm 0,61)$ пмоль/л, а у тварин, яким протягом 14-ти діб вводили мерказоліл, був знижений у 2,2 раза і становив $(8,51 \pm 0,35)$ пмоль/л. Вміст T_3 в інтактних щурів становив $(6,27 \pm 0,23)$ пмоль/л, а через 14 днів з моменту початку експерименту склав $(3,2 \pm 0,086)$ пмоль/л. Показник ТТГ у нормі становив $(1,77 \pm 0,06)$ мМО/л, після введення мерказолілу – $(3,2 \pm 0,09)$ мМО/л. Це вказує на розвиток у тварин вираженого гіпотиреозу при введенні мерказолілу в дозі 25 мг/кг.

Як показали наші дослідження, рівень АФО в щурів з гіпотиреозом становив 68 % від показника інтактних тварин, що можна вважати наслідком зниження активності метаболічних процесів, у тому числі й тих, які супроводжуються продукуванням АФО, за умов дефіциту гормонів щитоподібної залози. Запальний процес супроводжувався розвитком оксидативного стресу, що характеризується збільшенням інтенсивності продукування АФО. На 1-шу добу гострого пародонтиту в еутиреоїдних тварин продукція АФО значно зростала і становила 249 % від рівня інтактних, а до 8-ї доби від моменту моделювання патологічного процесу цей показник дещо знизився і становив 227 % від норми, однак усе ж достовірно відрізнявся від рівня здорових щурів і в 3,4 раза перевищував показник тварин з гіпотиреозом. Моделювання гострого пародонтиту в щурів, яким протягом 14-ти діб вводили мерказоліл, призвело до значно меншого зростання АФО, ніж в еутиреоїдних тварин. На 1-шу добу показник становив 184 % від рівня інтактних щурів, на 8-му – 165 %.

Аналогічну тенденцію спостерігали і стосовно початкових та проміжних продуктів ліпопероксидації. Зокрема, вміст ГПЛ у сироватці крові щурів з гострим пародонтитом на 1-шу добу становив 213 % від аналогічного показника інтактних тварин, а на 8-му – 180 %, тоді

як за умов моделювання гострого пародонтиту на тлі гіпотиреозу – 116 і 110 % відповідно. У гомогенаті ясен щурів з гострим пародонтитом показник зріс в 1,5 раза на 1-шу добу та в 1,1 раза – на 8-му, а у тварин, яким попередньо ввели мерказоліл, на 1-шу добу показник перебував на рівні здорових щурів, однак до 8-ї доби зростав до 111 %. Концентрація МДА при гіпотиреозі також достовірно зменшувалась порівняно з нормою. За умов експериментального гострого пародонтиту вміст МДА у сироватці крові перевищував показник здорових щурів у 2,2 раза, а в гомогенаті ясен – в 1,3 раза. До 8-ї доби концентрація МДА у сироватці крові суттєво знижувалась і становила 135 % від рівня інтактних тварин, а в гомогенаті ясен – 113 %. Моделювання гострого пародонтиту на тлі гіпотиреозу не супроводжувалось суттєвим зростанням малонового діальдегіду – хоч показники були дещо вищими від норми, однак достовірної різниці між ними не встановлено. Ряд авторів також показав зниження вмісту МДА при гіпотиреозі в запальному вогнищі на різних моделях пародонтиту [9].

Зафіксовані нами зміни кінцевого продукту ліпопероксидації – основ Шиффа підтверджують попередню тенденцію. У щурів з гострим пародонтитом показник на 1-шу добу становив 161 % від рівня здорових тварин, на 8-му – 130 %, тоді як моделювання пато-

логічного процесу на тлі гіпотиреозу призвело до значно менших змін – відповідно, 125 і 119 % від норми.

Отже, результати наших досліджень, а також дані інших авторів, отримані на різних експериментальних моделях гострого пародонтиту, показали, що гіпотиреодні щури стійкіші до оксидативного стресу та тканинного пошкодження, ніж еутиреодні тварини [7, 9].

Активність вільнорадикальних процесів залежить не тільки від інтенсивності продукування АФО, а й від їх здатності утворювати ланцюги ліпопероксидації чи окиснювальної модифікації білків, тому ми дослідили стан ферментної і неферментної ланок антиоксидантної системи, яка, власне, і протидіє розгалуженню цих вільнорадикальних ланцюгів.

Встановлено, що гіпотиреоз супроводжується не тільки сповільненням продукування АФО і процесів ліпопероксидації, а й зниженням активності антиоксидантних ферментів першої лінії захисту – СОД і КТ. Зокрема, у тварин, яким вводили мерказоліл, активність СОД крові була нижчою від показника інтактних тварин на 83 %, а в гомогенаті ясен – на 65 %. Активність КТ також становила, відповідно, 81 і 75 % від норми (табл. 1).

У щурів з гострим пародонтитом активність СОД крові на 1-шу добу становила 114 %, гомогенату – 115 % від рівня здорових тварин. До 8-ї доби показники значно знижувались і

Таблиця 1 – Показники активності вільнорадикальних процесів у крові й гомогенаті ясен щурів з гострим пародонтитом на тлі гіпотиреозу (M±m)

Показник	Група тварин					
	інтактні тварини (n=10)	гіпотиреоз, (n=10)	гострий пародонтит		гострий пародонтит+гіпотиреоз	
			1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)	1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)
АФО, ум. од.	0,37±0,02	0,25±0,01 p<0,001	0,92±0,02 p ₁ <0,001	0,84±0,02 p ₁ <0,001	0,68±0,01 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	0,61±0,02 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001
ГПЛ, сироватка, ум. од./мл	2,75±0,23	2,05±0,18 p<0,05	5,85±0,77 p ₁ <0,002	4,95±0,29 p ₁ <0,001	3,20±0,21 p ₁ >0,05 p ₂ <0,01	3,05±0,16 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
ГПЛ, гомогенат, ум. од./г	5,86±0,37	4,20±0,46 p<0,02	8,95±0,52 p ₁ <0,001	6,26±0,30 p ₁ >0,05	5,90±0,39 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	6,45±0,32 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
МДА, сироватка, мкмоль/л	1,84±0,48	1,66±0,16 p>0,05	4,01±0,51 p ₁ <0,01	2,48±0,11 p ₁ >0,05	1,93±0,12 p ₁ >0,05 p ₂ <0,002	1,97±0,14 p ₁ >0,05 p ₂ <0,02
МДА, гомогенат, мкмоль/кг	5,64±0,48	4,87±0,45 p>0,05	7,11±0,44 p ₁ <0,05	6,39±0,26 p ₁ >0,05	5,83±0,47 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05	5,57±0,35 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
Основи Шиффа, гомогенат, ум. од./г	1,57±0,10	0,92±0,23 p<0,02	2,52±0,26 p ₁ <0,01	2,04±0,18 p ₁ <0,05	1,96±0,08 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	1,88±0,14 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05

Примітка. Тут і в таблиці 2: p – достовірність різниці тварин з гіпотиреозом відносно інтактних; p₁ – достовірність різниці еутиреодних і гіпотиреодних тварин з гострим пародонтитом відносно інтактних; p₂ – достовірність різниці гіпотиреодних тварин з гострим пародонтитом відносно еутиреодних на відповідні доби дослідження.

склали 83 % в обох досліджуваних біологічних рідинах. Моделювання гострого пародонтиту на тлі гіпотиреозу супроводжувалось зниженням активності СОД вже з 1-ї доби після нанесення травми – у крові вона становила 78 %, у гомогенаті – 59 % від норми. До 8-ї доби зниження ензимної активності продовжувалось і вона склала, відповідно, 36 та 55 % від рівня інтактних тварин і майже не змінювалась порівняно з гіпотиреодними щурами (табл. 2).

Концентрація основного антиоксиданта плазми крові – ЦП у тварин з гострим пародонтитом становила 67 % від рівня інтактних тварин, а до 8-ї доби дещо зросла і склала 75 % від норми. У щурів, в яких гострий пародонтит моделювали на тлі гіпотиреозу, показ-

ник ЦП був ще нижчим: на 1-шу добу – 62 %, на 3-тю – 63 %. Зменшувався ще один неферментний показник антиоксидантної системи – ВГ. В еутиреодних тварин з пародонтитом його вміст становив 82 % на 1-шу добу і 73 % – на 8-му добу від моменту нанесення травми. У щурів з гіпотиреозом зниження було більш суттєвим – 85 і 62 % від рівня інтактних тварин. Варто відмітити, що показники були меншими, ніж у тварин з гіпотиреозом.

ВИСНОВОК. Отримані результати свідчать про те, що тиреодний статус впливає не тільки на продукування активних метаболітів оксигену в організмі, але й на активність антиоксидантного захисту.

Таблиця 2 – Показники антиоксидантної системи у крові й гомогенаті ясен щурів з гострим пародонтитом на тлі гіпотиреозу (M±m)

Показник	Група тварин					
	інтактні тварини (n=10)	гіпотиреоз (n=10)	гострий пародонтит		гострий пародонтит+гіпотиреоз	
			1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)	1-ша доба (n=7)	8-ма доба (n=7)
СОД, кров, ум. од.	1,17±0,02	0,64±0,09 p<0,001	1,33±0,03 p ₁ <0,001	0,97±0,05 p ₁ <0,01	0,91±0,07 p ₁ <0,01 p ₂ <0,001	0,68±0,05 p ₁ <0,001 p ₂ <0,002
СОД, гомогенат, ум. од.	3,28±0,07	1,99±0,24 p<0,001	3,76±0,09 p ₁ <0,001	2,73±0,47 p ₁ >0,05	1,92±0,26 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	1,81±1,17 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
Каталаза, кров, мкат/л	1,49±0,14	1,20±0,03 p>0,05	2,90±0,15 p ₁ <0,001	1,73±0,06 p ₁ >0,05	1,52±0,30 p ₁ >0,05 p ₂ <0,002	1,33±0,22 p ₁ >0,05 p ₂ >0,05
Каталаза, гомогенат, мкат/кг	6,73±0,28	5,08±0,16 p<0,001	8,99±0,13 p ₁ <0,001	7,32±0,10 p ₁ >0,05	6,89±0,15 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001	6,22±0,18 p ₁ >0,05 p ₂ <0,001
ЦП, сироватка, мг/л	240,7±3,84	207,5±6,24 p<0,001	161,4±10,1 p ₁ <0,001	180,5±5,84 p ₁ <0,001	148,8±4,15 p ₁ <0,001 p ₂ >0,05	152,9±2,70 p ₁ <0,001 p ₂ <0,002
ВГ, гомогенат, мг/г	3,98±0,15	2,68±0,12 p<0,001	3,28±0,06 p ₁ <0,001	2,90±0,04 p ₁ <0,001	2,54±0,11 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001	2,48±0,03 p ₁ <0,001 p ₂ <0,001

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дудин В. И. Колориметрическое определение перекиси водорода при измерении активности каталазы в крови / В. И. Дудин // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2008. – № 2. – С. 96–99.
2. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск, 1982. – 311 с.
3. Колесова О. Е. Пероксидное 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.
4. 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.

5. Макаревич О. П. Активность супероксиддисмутазы крови в острый период различных заболеваний / О. П. Макаревич, П. П. Голиков // Лаб. дело. – 1983. – № 6. – С. 24–27.

6. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.

7. 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.

8. Пат. 65771 Україна, МПК G09В 23/28 (2006.01). Спосіб моделювання пародонтиту / Мачоган В. Р., Авдєєв О. В. ; Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського. – № 11 201107714 ; заявл. 20.06.11; опубл. 12.12.11, Бюл. № 23.

9. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии / под ред. В. Н. Ореховича. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

10. Хышиктуев Б. С. Методы определения продуктов перекисного окисления липидов в конденсате

выдыхаемого воздуха и их клиническое значение / Б. С. Хышиктуев, Н. А. Хышиктуева, В. Н. Иванов // Клин. лаб. диагностика. – 1996. – № 3. – С. 13–15.

11. 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.

12. Ellman George L. Tissue sulfhydryl groups L. Ellman George // Arch. of Biochem. and Biophys. – 1959. – 82, № 1. – P. 70–77.

Т. И. Дзещюх, И. Н. Клищ

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И СОСТОЯНИЯ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТРОГО ПАРОДОНТИТА НА ФОНЕ ГИПОТИРЕОЗА

Резюме

Для изучения влияния экспериментального гипотиреоза на особенности течения свободнорадикальных процессов и состояние антиоксидантной защиты у крыс с острой механической травмой мягких тканей десен было проведено определение продуцирования активных форм кислорода мононуклеарными лейкоцитами, определение концентрации гидропероксидов липидов, малонового диальдегида, основ Шиффа, а также активности супероксиддисмутазы, каталазы, концентрации церулоплазмина и восстановленного глутатиона. Гипотиреоза у крыс достигали путем введения мерказолила в дозе 25 мг/кг в течение 21-х суток. Воспаление у животных с острой травмой десен на фоне гипотиреоза приводило к менее выраженному, чем в эутиреоидных крыс, росту активных форм кислорода и продуктов липопероксидации и более выраженному снижению активности ферментов первой линии антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы и содержания церулоплазмина и восстановленного глутатиона.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: воспаление пародонта, гипотиреоз, свободнорадикальное окисление, антиоксидантная система.

T. I. Dzetsiukh, I. M. Klishch

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPII STATE MEDICAL UNIVERSITY

PECULIARITIES OF THE COURSE OF FREE-RADICAL PROCESSES AND THE STATE OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN THE CONDITIONS OF EXPERIMENTAL ACUTE PARODONTITIS ON THE BACKGROUND OF HYPOTHYROIDISM

Summary

The definition of the production of reactive oxygen by mononuclear leukocytes, determining the concentration of hydro peroxides of lipids, malonic aldehyde and Schiff bases was carried out in order to study the effect of experimental hypothyroidism on the peculiarities of free radical processes and the state of antioxidant defence in rats with an acute mechanical trauma of the soft gum tissue. Moreover, the activity of superoxide dismutases and catalase as well as the concentrations of ceruloplasmin and restored glutathione was determined. Hypothyroidism in rats was achieved by the injections of mercazolil in a dose of 25 mg/kg for the 21st day. Inflammation in rats with acute traumas of the gums accompanied by hypothyroidism led to less pronounced increase of reactive oxygen and lipid peroxidation products than in euthyroid rats and a clear reduction of first line enzymes activity of antioxidant protection – superoxide dismutase and catalase and ceruloplasmin content and restored glutathione.

KEY WORDS: parodontium inflammation, hypothyroidism, free radical oxidation and antioxidant system.

Отримано 11.10.12

Адреса для листування: Т. І. Дзещюх, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.