

КОРЕКЦІЯ ЛІПОФЛАВОНОМ ПОРУШЕНЬ ОКИСНЮВАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ ПРИ ПАРОДОНТИТІ

Метою роботи було дослідити вплив препарату з антиоксидантними та протиzapальними властивостями "Ліпофлавон" на перебіг ліпополісахаридного запалення тканин пародонта. Дослідження проведено на білих щурах, в яких моделювали пародонтит шляхом введення в тканини ясен бактеріального ліпополісахариду. Паралельне з ліпополісахаридом застосування ліпофлаону суттєво попереджувало підвищення в крові й пародонті вмісту нітритів і нітратів, ТБК-активних продуктів, окисномодифікованих білків, запобігало зниженню активності супероксиддисмутази і зменшенню вмісту відновленого глутатіону. Зроблено висновок, що ліпофлавон може бути ефективним засобом корекції порушень окиснювальних процесів у пародонті при дії ендотоксинів грамнегативної мікрофлори.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, ліпополісахарид, оксидативний та нітрооксидативний стреси, ліпофлавон.

ВСТУП. Захворювання тканин пародонта є однією з найважливіших проблем сучасної стоматології. Значна розповсюдженість, втрата зубів і нормальної жувальної ефективності, несприятливий вплив вогнищ пародонтальної інфекції на організм – усе це визначає як медичну, так і соціальну значимість даної проблеми. За даними епідеміологічних досліджень, в останні роки спостерігається явна тенденція до зростання захворювань пародонта серед населення різних регіонів світу. Найбільша частота розвитку патології пародонта припадає на середній вік 35–45 років і досягає 65–98 % [16]. Основну пародонтопатогенну роль відіграють анаеробні грамнегативні мікроорганізми. Відомо, що головним патогенним чинником у розвитку запалення при дії грамнегативної мікрофлори є компонент мембран бактерій – ліпополісахарид (ЛПС). Під впливом бактеріального ЛПС у тканинах ясен активується індукцибельна синтаза оксиду азоту (iNOS), посилено продукуються цитокіни, інтенсифікуються окиснювальні процеси, пригнічується система антиоксидантного захисту [3, 6, 7, 9, 14, 15]. Виходячи з такого розуміння патогенезу запального процесу в пародонті, повинна будуватися стратегія корекції метаболічних порушень, що виникають при пародонтиті. Недавно було розроблено новий препарат "Ліпофлавон", який є ліпо-

сомальною формою кверцетину і має виражені антиоксидантну, антигіпоксантну та протиzapальну дії. Ліпофлавон вирізняється високою тропністю до клітинних мембран і здатністю стимулювати їх регенерацію, що також важливо, оскільки при пародонтиті мають місце активація процесів ліпопероксидації і, як наслідок, дезінтеграція мембран клітин пародонта.

Метою даної роботи було дослідити в експерименті вплив ліпофлаону на показники інтенсивності оксидативного та нітрооксидативного стресів у тканинах пародонта при дії ендотоксину грамнегативної мікрофлори ліпополісахариду.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 30 безпородних щурах-самцях масою 150–180 г, яких утримували на стандартній дієті. Усіх тварин поділили на 3 групи: 1-ша – контроль (інтактні щури); 2-га – щури, в яких викликали запалення пародонта (протягом 2-х тижнів через день у тканини ясен вводили по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду *E. Coli*); 3-тя – щури, яким паралельно з ЛПС протягом 2-х тижнів вводили внутрішньочеревно ліпофлавон у дозі 5 мг/кг в перерахунку на кверцетин [8]. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом. У гомогенаті тканин пародонта і в крові визначали рівень нітратів і нітритів (NO_x) [11], ТБК-активних про-

дуктів (ТБК-АП) [1], окисномодифікованих білків (ОМБ) [5], активність супероксиддисмутази (СОД) [10], каталази (КТ) [4] та вміст відновленого глутатіону (ГSH) [13]. У плазмі крові також визначали вміст церулоплазміну (ЦП) [2] і загальну антиоксидантну активність (ЗАА) [12].

Результати виражали як середнє±SEM з 10 експериментів. Зміни $p < 0,05$ розглядали як статистично достовірні. Статистичний аналіз виконували, використовуючи стандартні статистичні програми і t-критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Результати, наведені в таблиці, свідчать про те, що оксидативний і нітрооксидативний стреси відіграють важливу роль у патогенезі пародонтиту, викликаного токсинами грамнегативної мікрофлори. На це вказують достовірне зростання вмісту в плазмі крові й пародонті щурів, яким вводили ЛПС, ТБК-АП та ОМБ, зниження активності СОД, КТ і рівня ГSH у тканинах ясен, а також збільшення вмісту нітритів і нітратів в обох тканинах.

Застосування разом із ЛПС ліпофлавоу виражено нормалізувало показники оксидативного стресу в тканинах. Зокрема, на пригнічення препаратом інтенсивності процесів ліпопероксидації вказувало достовірне (на 24 %) зниження вмісту ТБК-АП у плазмі крові й пародонті щурів 3-ї групи. Використання ліпофлавоу також позитивно вплинуло на параметри, що відображають ступінь окисної модифікації нейтральних і лужних амінокислот. У

тканинах пародонта щурів, яким проводили корекцію, вміст 2,4-динітрофенілгідрозонів, що визначалися при 310 нм (відображає концентрацію альдегідо- і кетонітрофенілгідрозонів нейтрального характеру), і таких, що визначалися при 430 нм (альдегідо- і кетонітрофенілгідрозонів основного характеру), зменшився в 1,5 раза порівняно з некоригованими тваринами. У плазмі крові дані показники під впливом ліпофлавоу знижувалися, відповідно, в 1,3 і 1,4 раза.

Інтенсивність оксидативного стресу визначається також станом системи антиоксидантного захисту, функціонування якої детермінує активність процесів ліпопероксидації та окисної модифікації білків. У тканинах пародонта тварин 3-ї групи зафіксовано достовірне зростання активності СОД (в 1,5 раза), КТ (в 1,3 раза) і ГSH (в 1,5 раза) порівняно з аналогічними показниками щурів 2-ї групи.

Відомо, що під впливом ЛПС активується запальна реакція, посилено продукуються прозапальні цитокіни, що викликає гіперекспресію індукцибельної форми NO-синтази і, як наслідок, синтез надмірної кількості оксиду азоту. При захворюваннях інфекційного генезу NO може відігравати позитивну роль, оскільки здатний виступати неспецифічним фактором захисту від бактерій. Зокрема, посилене продукування NO макрофагами стимулює реакції фагоцитозу, що сприяє елімінації інфекційного збудника з тканин. Проте надмірне утворення NO призводить до збільшення кількості пероксинітриту в тканинах, який спон-

Таблиця – Вплив препарату “Ліпофлавоу” на показники інтенсивності оксидативного і нітрооксидативного стресів у плазмі крові й тканині пародонта щурів з ліпополісахаридним пародонтитом

Показник	Група тварин		
	контроль	ЛПС	ЛПС+1400W
Плазма крові			
NO _x , ммоль/л	2,86±0,16	4,01±0,25*	3,02±0,20 [#]
ТБК-АП, мкмоль/л	40,50±3,25	57,50±2,10*	43,95±3,50 [#]
ОМБ ₃₁₀ , мкмоль/мг білка	0,85±0,06	1,35±0,09*	1,01±0,08 [#]
ОМБ ₄₃₀ , мкмоль/мг білка	0,45±0,03	0,96±0,06*	0,65±0,04 [#]
КТ, мкат/л	0,45±0,04	0,63±0,06	0,60±0,05
ЦП, г/л	0,25±0,02	0,21±0,02	0,25±0,03
ГSH, ммоль/л	3,50±0,25	2,70±0,30	3,20±0,28
ЗАА, % гальмування утворення ТБК-АП	56,50±5,20	45,54±4,15	55,04±4,30
Тканини пародонта			
NO _x , ммоль/кг	0,88±0,06	1,24±0,10*	0,91±0,05 [#]
ТБК-АП, мкмоль/кг	2,84±0,15	4,05±0,20*	3,10±0,26 [#]
ОМБ ₃₁₀ , мкмоль/мг білка	3,78±0,25	6,45±0,40*	4,25±0,45 [#]
ОМБ ₄₃₀ , мкмоль/мг білка	2,50±0,20	5,25±0,30*	3,34±0,30 [#]
СОД, од.	0,25±0,02	0,17±0,01*	0,25±0,02 [#]
КТ, мкат/мг білка	1,40±0,10	1,02±0,08*	1,35±0,08 [#]
ГSH, ммоль/кг	190,0±12,50	111,7±8,30*	162,5±8,50 [#]

Примітка. * – зміни достовірні порівняно з контролем; [#] – зміни достовірні порівняно з показниками тварин із пародонтитом.

танно розкладається до агресивних азото-вмісних радикалів, що викликає пошкодження макромолекул і біомембран. Як свідчать дані, наведені в таблиці, ліпофлавіон ефективно попереджував розвиток нітрооксидативного стресу в щурів із ЛПС-індукованим пародонтитом: у плазмі крові вміст NO_x після двотижневого введення препарату знизився, порівняно з нелікованими тваринами, в 1,3 раза, а в тканинах пародонта – в 1,4 раза.

Отже, препарат “Ліпофлавіон”, який являє собою ліпосомальну форму кверцетину, можна вважати ефективним засобом корекції окиснювальних процесів, активація яких має місце в тканинах пародонта при дії ендотоксину грамнегативної мікрофлори. Такий ефект препарату можна пояснити, з одного боку, сильними антиоксидантними і протизапальними властивостями кверцетину, здатністю останнього блокувати 5-ліпооксигеназний шлях метаболізму арахідонової кислоти, а з іншого – антигіпоксичною та антиоксидантною діями лецитинових ліпосом. Було показано, що ліпофлавіон також запобігає підвищенню проза-

пальних цитокінів у сироватці крові, попереджує зниження енергетичного метаболізму клітин, проявляє мембрано- та ендотеліозахисну дію. Зважаючи на роль деструкції сполучної і кісткової тканин у патогенезі пародонтиту, важливим є також проостеокластний ефект кверцетину. Очевидно, виражений позитивний ефект ліпофлавіону при експериментальному пародонтиті зумовлений комплексною дією компонентів препарату – лецитину і кверцетину, синергізмом їх ефектів, а також високою тропністю препарату до клітинних мембран.

ВИСНОВКИ. 1. Оксидативний і нітрооксидативний стреси відіграють важливу роль у патогенезі пародонтиту, викликаного ендотоксинами грамнегативної мікрофлори.

2. Ліпофлавіон позитивно впливає на перебіг ліпополісахаридного пародонтиту. Такий ефект, очевидно, пов'язаний із тим, що ліпосомальна форма вирізняється високою тропністю до клітинних мембран, а також синергічною дією лецитину і кверцетину.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.
3. Косенко К. Н. Показатели свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в ротовой жидкости больных генерализованным пародонтитом разных возрастных групп / К. Н. Косенко, Б. Б. Седлецкая, Т. П. Терешина // Вісн. стоматол. – 2004. – № 4. – С. 27–30.
4. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковин. мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156–158.
6. Мороз К. А. Стан пероксидної окисації ліпідів і системи антиоксидантного захисту у хворих на генералізований пародонтит в умовах цукрового виробництва / К. А. Мороз // Експерим. клін. фізіол. біох. – 2004. – № 3. – С. 87–90.
7. Пожарицкая М. М. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты в смешанной слюне у летчиков сверхзвуковой авиа-

ции при пародонтите / М. М. Пожарицкая, Т. П. Вавилова, Т. Г. Симаква // Рос. стоматол. журн. – 2005. – № 2. – С. 39–45.

8. Слесарчук В. Ю. Механизм нейропротекторного действия препаратов кверцетина — способность тормозить окислительную модификацию белка / В. Ю. Слесарчук, В. И. Мамчур // Фармакология – практическому здравоохранению : материалы III съезда фармакологов России. – Психофармакология и биологическая наркология. – 2007. – 7, № 4. – С. 1951–1952.

9. Чайковська І. В. Роль порушень метаболізму оксиду азоту в патогенезі генералізованого пародонтиту // Арх. клін. експерим. мед. – 2008. – 17, № 2. – С. 226–228.

10. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

11. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. Ridnour, J. E. Sim, M. Hayward [et al.] // Anal. Biochem. – 2000. – 281. – P. 223–229.

12. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp, I. L. Dormandy // Clin. Sci. and Mol. Med. – 1974. – 47. – P. 215–222.

13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ell-

man // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – **82**. – P. 70–77.

14. Gingival endothelial and inducible nitric oxide synthase levels during orthodontic treatment: a cross-sectional study / M. D'Attilio, F. Di Maio, C. D'Arcangela [et al.] // Angle. Orthod. – 2004. – **74**, № 6. – P. 851–858.

15. Lipid A-associated proteins from *Porphyromonas*

gingivalis stimulate release of nitric oxide by inducing expression of inducible nitric oxide synthase / E. Y. Choi, Y. M. Hwang, J. Y. Lee [et al.] // J. Periodontal. Res. – 2007. – **42**, № 4. – P. 350–360.

16. Noack B. Metabolic diseases and periodontitis / B. Noack, S. Fischer // Dtsch. Med. Wochenschr. – 2012. – **137**, № 22. – P. 1155–1157.

В. В. Сопотницька, М. М. Корда

ТЕРНОПОЛЬСЬКИЙ ГОСУДАРСТВЕННИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

КОРРЕКЦИЯ ЛИПОФЛАВОНОМ НАРУШЕНИЙ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ ПРИ ПАРОДОНТИТЕ

Резюме

Целью работы было исследовать влияние препарата с антиокислительными и противовоспалительными свойствами "Липофлавон" на течение липополисахаридного воспаления тканей пародонта. Исследование проведено на белых крысах, у которых моделировали пародонтит путем введения в ткани десен бактериального липополисахарида. Параллельное с липополисахаридом применение липофлавона существенно предупреждало повышение в крови и пародонте содержания нитритов и нитратов, ТБК-активных продуктов, окислительно-модифицированных белков, предотвращало снижение активности супероксиддисмутазы и уменьшение содержания восстановленного глутатиона. Сделан вывод, что липофлавон может быть эффективным средством коррекции нарушений окислительных процессов в пародонте при действии эндотоксинов грамотрицательной микрофлоры.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, липополисахарид, оксидативный и нитрооксидативный стрессы, липофлавон.

V. V. Sopotnitska, M. M. Korda

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

CORRECTION OF OXIDATIVE PROCESSES DISORDERS AT PARODONTITIS BY LIPOFLAVON

Summary

The aim of the study was to investigate the effect of the preparation with antioxidative and anti-inflammatory effects Lipoflavon on the lipopolysaccharide (LPS) inflammation of parodontium tissues. Parodontitis was modeled by the injection of bacterial LPS into gum tissue of white rats for 2 weeks. Concurrent with LPS application of Lipoflavon significantly prevented the increase of nitrites and nitrates, TBA-active products, oxidative modified proteins, as well as prevented the decrease of SOD activity and reduced glutathione content in blood plasma and parodontium tissue. It was concluded that Lipoflavon is an effective agent for the correction of the oxidative processes in parodontium tissue in the action of gram-negative microorganisms endotoxins.

KEY WORDS: parodontitis, lipopolysaccharide, oxidative and nitrooxidative Lipoflavon.

Отримано 01.11.12

Адреса для листування: В. В. Сопотницька, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна.