

КОРЕКЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЯСНАХ ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Харківська медична академія післядипломної освіти (м. Харків)

Робота виконана в рамках НДР кафедри стоматології та терапевтичної стоматології «Клінічний перебіг основних стоматологічних захворювань з урахуванням соматичної патології в умовах екологічно-небезпечних факторів довкілля. Розробка схем профілактики, лікування та реабілітації хворих з використанням вітчизняних матеріалів», номер держреєстрації 0110U002440.

Вступ. В результаті інтенсивного розвитку промисловості, сільського господарства, транспорту хімічні елементи стали повсюдними забруднювачами навколишнього середовища. Потрапляючи в надлишку в організм людини, вони можуть стати причиною розвитку техногенних гіпермікроелементозів [3].

Детальні дослідження протягом останніх двох десятиліть показали, що такі солі важких металів (СВМ) мають здатність виробляти в біологічних системах вільні радикали. Порушення гомеостазу іонів металів може призвести до індукції оксидативного стресу з утворенням активних форм кисню і пригніченням системи антиоксидантного захисту (АОЗ) [5, 6].

Для корекції окисного стресу запропоновано низку препаратів, які мають антиоксидантні властивості. Аналізуючи дані літератури по антиоксидантам, ми враховували той факт, що індуктором оксидативного стресу виступали СВМ. Саме тому звернули увагу на α -ліпоєву кислоту (ALA). По-перше, вона є важливим компонентом біологічних мембран, захищає їх від пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), грає істотну роль в мітохондріальних дегідрогеназних реакціях, будучи ко-фактором таких ферментів, як піруватдегідрогеназа і α -кетоглутаратдегідрогеназа [8], ефективна при лікуванні різних патологічних станів, які супроводжує оксидативне ушкодження [7]. По-друге, ALA здатна створювати міцні хелатні зв'язки з іонами металів і сприяє детоксикації важких металів [9, 10].

Метою нашого дослідження було вивчення впливу α -ліпоєвої кислоти на оксидативний стрес в яснах щурів, індукований солями Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводилося на 70 статевозрілих безпородних білих щурах-самцях з вихідною масою 180-200 г. Всі тварини були поділені на 3 групи: I-шу групи (n=26) становили контрольні щури, які отримували питну воду. Тварини II-ї групи (n=21) отримували питну воду з комбінацією СВМ: $(\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}) - 5$ мг/л, міді $(\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}) - 1$ мг/л, заліза $(\text{FeSO}_4) - 10$ мг/л, марганцю $(\text{MnSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}) - 0,1$ мг/л, свинцю $(\text{Pb}(\text{NO}_3)_2) - 0,1$ мг/л, хрому $(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) - 0,1$ мг/л. Щурам III групи (n=23) крім вищезгаданих СВМ уводили внутрішньошлунково препарат α -ліпоєвої

кислоти «Альфа-ліпон» (ВАТ «Київський вітамінний завод», Україна) з розрахунку 100 мг / кг ваги 1 раз на добу. Доступ до води вільний. В кожній групі тварин виводили з експерименту на 30, 60 та 90 добу. Під ефірним наркозом тварин декапітували, проводили забір тканини ясен, заморожували їх при температурі -20°C . Вміст дієнових кон'югат (ДК), малонового діальдегіду (МДА), активність ферментів супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТ) та глутатіонпероксидази (ГПО) в гомогенатах ясен визначалась в лабораторії біохімії ДУ «Інститут стоматології» АМН України (м. Одеса).

Статистичну обробку матеріалу проводили за параметричними критеріями (середнє значення – M, стандартна похибка – m), статистичну значущість відмінності між показниками двох незалежних груп – непараметричним критерієм (W-критерій Вілкоксона) за допомогою пакету статистичної програми AtteStat 10.8.4. for MS Excel. Статистично значущими вважали відмінності при $p \leq 0,05$.

Під час експерименту лабораторних тварин утримували відповідно до правил, прийнятих Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, яких використовували для експерименту і наукових завдань (Страсбург, 1986 р.) та «Загальних етичних правил експериментів над тваринами», затверджених І Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Результати досліджень та їх обговорення. Розглянемо дані стану процесу ПОЛ ясен за 3 місяці спостереження. Отримані дані свідчать, що середній вміст продуктів ПОЛ в тканинах ясен щурів значно відрізняється між групами (**табл. 1**). Встановлено, що вміст ДК зростає в II групі на 50,4% ($p=4\text{E}-06$), а МДА на 42,3% ($p=5\text{E}-06$) відносно групи контролю.

Отримані дані показали, що комбінація солей Fe, Cu, Pb, Mn, Zn, Cr викликає індукцію процесів ліпопероксидації в яснах, які можуть супроводжуватися

Таблиця 1

Вміст продуктів ПОЛ в яснах щурів при живанні СВМ ($M \pm m$)

Продукти ПОЛ	Група тварин			P* ^{I-II} P** ^{I-III} P*** ^{II-III}
	I(n=26)	II(n=21)	III(n=23)	
Дієнові кон'югати (ДК), ммоль/кг	3,77±0,20	5,67±0,30	4,43±0,19	*4E-06 **0,02 ***0,001
Малоновий діальдегід (МДА), ммоль/кг	11,31±0,51	16,09±0,57	11,95±0,55	*5E-06 **0,3 ***5E-06

модифікацією або руйнуванням бішару мембран, що узгоджується з літературними даними [5].

Як відомо, інтенсивність процесів ПОЛ в організмі визначається не тільки факторами, які його ініціюють, але і станом антиоксидантної системи, яка представляє собою сукупність захисних механізмів клітин, тканин, органів і систем, спрямованих на збереження і підтримання гомеостазу в організмі [1]. У відповідь на введення в організм токсичних чинників відбувається активація захисно-компенсаторних механізмів, що проявляється змінами в активності таких потужних ферментів-антиоксидантів, як СОД, КТ, ГПО. Вони мають певну спеціалізацію по відношенню до конкретних видів радикалів і перекисів [4].

Підсумуємо сумарні цифрові показники стану АОЗ ясен при навантаженні СВМ за весь період спостереження. Отримані дані вказують на зміни активності антиокислювальних ферментів (табл. 2). При вживанні СВМ спостерігається різке зниження активності каталази на 25,2% ($p=1E-07$), СОД на 36,9% ($p=0,0006$) і ГПО на 23,4% ($p=0,0002$) за контрольні значення.

Зростання інтенсивності ПОЛ при зниженому функціонуванні антиоксидантної системи в яснах експериментальних тварин свідчить про те, що

Таблиця 2

Активність ферментів АОЗ в яснах щурів при вживанні СВМ ($M \pm m$)

Ферменти	Група тварин			P* ^{I-II} P** ^{I-III} P*** ^{II-III}
	I(n=26)	II(n=21)	III(n=23)	
Каталаза, мкат/кг	7,280±0,178	5,442±0,150	6,585±0,146	*1E-07 **0,07 ***2E-05
Супероксид-дисмутаза, у.од./г	0,412±0,028	0,260±0,028	0,388±0,023	*0,0006 **0,3*** 0,004
Глутатіон-пероксидаза, мк-кат/кг	10,93±0,45	8,37±0,24	10,07±0,44	*0,0002 **0,2 ***0,003

введення комбінації солей Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr призводить до розвитку оксидативного стресу. Із даних літератури відомо, що оксидативний стрес, спровокований різними екстремальними факторами, може бути важливою причиною виникнення та розвитку низки захворювань. У зв'язку з цим не виключено, що визначені нами порушення прооксидантно-антиоксидантного гомеостазу в тканинах ясен на тлі дії СВМ докільля можуть бути однією з провідних причин зростання захворюваності тканин пародонта на

певних територіях, на що вказують попередні наші епідеміологічні дослідження [2].

Альфа-ліпоева кислота змінює оксидантно-антиоксидантний дисбаланс. Під її впливом вміст продуктів ПОЛ знижується (табл. 1). Додавання її щурам III групи зменшує вміст ДК на 21,9%. ($p=0,001$) по відношенню до групи тварин, які вживали СВМ. Аналогічна тенденція зберігається і з МДА – α -ліпоева кислота на 27,7% знижує його вміст в порівнянні з II групою ($p=5E-06$). Проте, нормалізації продуктів ПОЛ не наставало, зберігалось статистично значиме підвищення ДК на 17,5% ($p=0,02$) та невірогідне збільшення МДА на 5,7% в порівнянні з контролем.

В той же час, додавання α -ліпоевої кислоти щурам III групи вірогідно посилює реакцію ферментативної ланки системи АОЗ. Активність КТ підвищується на 21,0% ($p=2E-05$), СОД на 49,2% ($p=0,004$) і ГПО на 20,3% ($p=0,003$) в порівнянні з показниками активності цих ферментів у щурів, яким до питної води додавали СВМ. Повернення значень активності ферментів до похідних не відбувається під впливом α -ліпоевої кислоти, їх активність залишається нижчою на 9,5% ($p=0,07$) у КТ, на 5,8% ($p=0,3$) у СОД і на 7,9% ($p=0,2$) у ГПО, однак це зниження статистично не значиме.

Таким чином, введення альфа-ліпоевої кислоти щурам з навантаженням солей Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr сприяло активації функціонування системи антиоксидантного захисту в яснах

Наше дослідження підтвердило, що альфа-ліпоева кислота стабілізує порушений за умов оксидативного стресу оксидантно-антиоксидантний гомеостаз шляхом гальмування процесів перекисного окиснення ліпідів, можливо за рахунок зменшення в тканинах концентрації активних форм кисню та активує систему антиоксидантного захисту в яснах щурів.

Висновки.

1. На тлі дії солей Fe, Zn, Pb, Cu, Mn, Cr в яснах щурів виникає оксидативний стрес за рахунок індукції процесів перекисного окиснення ліпідів та пригнічення активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

2. Введення тваринам α -ліпоевої кислоти сприяє стабілізації перебігу процесів перекисного окиснення ліпідів та функціонування систем антиоксидантного захисту в тканинах ясен.

Перспективи подальших досліджень. Результати експериментальних досліджень є теоретичною базою для вивчення дії альфа-ліпоевої кислоти при лікуванні захворювань тканин пародонта у мешканців з екологічно несприятливих за солями важких металів районах.

Список літератури

1. Курашвили В. А. Новые возможности предотвращения оксидативного стресса / В. А. Курашвили, Л. Майлэм // Журнал натуральной медицины. – 2001. – № 1. – С. 7-14.
2. Куцевляк В. Ф. Захворювання тканин пародонту у дорослого населення, яке мешкає в умовах нестійкого антропогенного гіпермікроелементозу / В. Ф. Куцевляк, Ю. В. Лахтін // Вісник стоматології. - 2010. - № 1. - С. 15-18.
3. Микроэлементозы человека (этиология, классификация, органопатология) / А. П. Авцын, А. А. Жаворонков, М. А. Риш, Л. С. Строчкова. - М.: Медицина, 1991. - 496 с.

4. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия / В. К. Казимирко, В. И. Мальцев, В. Ю. Бутылин [и др.]. – К.: Морион, 2004. – 160 с.
5. Induction of oxidative stress in erythrocytes of male rats subchronically exposed to a mixture of eight metals found as groundwater contaminants in different parts of India / S. H. Jadhav, S. N. Sarkar, M. Aggarwal, H. C. Tripathi // Arch Environ Contam Toxicol. – 2007. – Vol. 52, № 1. – P. 145-151.
6. Jomova K. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease // K. Jomova, M. Valko // Toxicology. – 2011. – Vol. 283, № 2–3. – P. 65–87.
7. Lipoic acid and N-acetylcysteine decrease mitochondrial-related oxidative stress in Alzheimer disease patient fibroblasts / P. I. Moreira, P. L. Harris, X. Zhu [et al.] // J. Alzheimers Dis. – 2007. – Vol. 12, № 2. – P. 195-206.
8. Lipoic acid as a novel treatment for Alzheimer's disease and related dementias / L. Holmquist, G. Stuchbury, K. Berbaum [et al.] // Pharmacol. Ther. – 2007. – Vol. 113, № 1. – P. 154-164.
9. Lipoic acid: a novel therapeutic approach for multiple sclerosis and other chronic inflammatory diseases of the CNS / S. Salinthonne, V. Yadav, D. N. Bourdette, D. W. Carr // Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. – 2008. – Vol. 8, № 2. – P. 132-142.
10. Patrick L. Mercury toxicity and antioxidants: part I: role of glutathione and alpha-lipoic acid in the treatment of mercury toxicity / Lyn Patrick // Alternative Medicine Review. – 2002. – Vol. 7, № 6. – P. 456-471.

УДК 615.036 : 577.1: 616.311.2: 616-092.9

КОРЕКЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В ЯСНАХ ЩУРІВ НА ТЛІ ДІЇ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Лахтін Ю.В.

Резюме. Проведено дослідження впливу альфа-ліпоєвої кислоти на зміст дієнових кон'югат, малонового діальдегіду і активність каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази в гомогенатах ясен щурів при дії солей важких металів. Встановлено, що солі важких металів викликають в яснах активацію процесів перекисного окиснення ліпідів, і пригнічують систему антиоксидантного захисту. Прийом альфа-ліпоєвої кислоти сприяє зниженню змісту продуктів ліпопероксидації, і підвищує активність ферментів-антиоксидантів.

Ключові слова: ясна, солі важких металів, оксидативний стрес, альфа-ліпоєва кислота.

УДК 615.036: 577.1: 616.311.2: 616-092.9

КОРРЕКЦИЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА В ДЕСНЕ КРЫС НА ФОНЕ ДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ

Лахтин Ю.В.

Резюме. Проведено исследование влияния альфа-липовой кислоты на содержание диеновых конъюгат, малонового диальдегида и активность каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы в гомогенатах десен крыс при действии солей тяжелых металлов. Установлено, что соли тяжелых металлов вызывают в деснах активацию процессов перекисного окисления липидов и подавляют систему антиоксидантной защиты. Прием альфа-липовой кислоты способствует снижению содержания продуктов липопероксидации и повышает активность ферментов-антиоксидантов.

Ключевые слова: десна, соли тяжелых металлов, оксидативный стресс, альфа-липовая кислота.

UDC 615.036: 577.1: 616.311.2: 616-092.9

Correction Of Oxidative Stress In Rats' Jaws At The Background Of Effect Caused By Salts Of Heavy Metals

Lakhtin Yu.V.

Summary. The study focused on the impact of alpha lipoic acid on content of diene conjugates, malondialdehyde and activity of catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase in rats' jaws under the effect of salts of heavy metals. It was established that salts of heavy metals cause activation of lipid peroxidation in gums and inhibit the antioxidative protection system. Administration of alpha lipoic acid contributes to reduced content of lipid peroxidation products and enhances activity of antioxidative enzymes.

Key words: gum, salts of heavy metals, oxidative stress, alpha lipoic acid.

Стаття надійшла 29.03.2012 р.

Рецензент – проф. Ковальов Є.В.