

Экспериментальное изучение состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса животных в динамике индуцированного генерализованного пародонтита и его коррекция криоконсервированным экстрактом плаценты человека

UDC 616.311.2 – 002 + 616.314.17 – 007.23] – 085.361

V.F.KUTSEVLYAK¹, V.V.GRISCHENKO*¹, J.V. NIKITCHENKO²

Experimental Investigation of Animals Prooxidant-Antioxidant Balance During the Induced Generalized Periodontitis and Its Correction by Cryopreserved Human Placenta Extract

Установлено, что введение криоконсервированного экстракта плаценты человека животным с индуцированным генерализованным пародонтитом способствовало нормализации повышенной концентрации гидроперекисей липидов в плазме крови, содержания продуктов ПОЛ и интенсивности аскорбат-индуцированного ПОЛ в гомогенатах печени. Значительно увеличилась глутатион-пероксидазная активность плазмы крови и печени, снижавшаяся при развитии патологии.

Ключевые слова: криоконсервированный экстракт плаценты человека, индуцированный генерализованный пародонтит, прооксидантно-антиоксидантный баланс.

Встановлено, що введення криоконсервованого екстракту плаценти людини тваринам з індукованим генералізованим пародонтитом сприяло нормалізації підвищеної концентрації гідроперекисів ліпідів у плазмі крові, вмісту продуктів ПОЛ та інтенсивності аскорбат-індукованого ПОЛ у гомогенатах печінки. Значно підвищилася глутатіон-пероксидазна активність плазми крові та печінки, яка знижувалася при розвитку патології.

Ключові слова: криоконсервований екстракт плаценти людини, індукований генералізований пародонтит, прооксидантно-антиоксидантний баланс.

It has been established that the administration of the cryopreserved human placenta extract to animals with induced generalized periodontitis normalized hyperconcentration of lipids' hydroperoxides in blood plasma, content of LPO products and activity of ascorbate-induced LPO in liver homogenates. Activity of glutathione-peroxidase in blood plasma and liver increased a lot in comparison with its low level during the pathology development.

Key-words: cryopreserved human placenta extract, induced generalized periodontitis, prooxidant-antioxidant balance.

Активация процессов свободнорадикального окисления липидов при генерализованном пародонтите (ГП) отмечена в [2, 5, 6]. Определено значение усиления свободнорадикальных реакций в патогенезе ГП, а также снижения активности антиоксидантных ферментов в результате развития патологического процесса в пародонте. При комплексном лечении ГП используют препараты, обладающие антиоксидантным действием [2, 5, 6]. Синтетические антиоксиданты являются стабильными препаратами, для которых характерна замедленная активизация монооксигеназной системы клетки. Они оказывают длительный терапевтический эффект, однако по сравнению с препаратами на основе натурального сырья обладают большей токсичностью, выраженным угнетающим дейст-

вием на эндогенную антиоксидантную систему, а их стабильные радикалы могут выступать в качестве прооксидантов [1]. Таким образом, использование природных антиоксидантов для лечения и профилактики различных заболеваний, в частности ГП, представляется более целесообразным.

Перспективным направлением современной медицины является клеточная и тканевая терапия, в частности трансплантация тканей и клеток эмбриофетоплацентарного комплекса человека [4, 9], получившая наиболее интенсивное развитие в 80-х годах XX столетия. В клетках жизнеспособных анатомических объектов содержатся метаболически активные вещества естественного происхождения, обладающие полифармакологическими эффектами специфической и неспецифической направленности,

¹Харьковская медицинская академия последипломного образования

²Институт биологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина

* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию: ул. Тринклера, 6, г. Харьков, Украина 61022; тел.:+38 (057) 705-17-55, e-mail: viktorija-v-g@rambler.ru

¹Kharkov Medical Academy of Post-Diploma Education, Kharkov, Ukraine

²Institute of Biology of V.N. Karazin Kharkov National University, Kharkov, Ukraine

* To whom correspondence should be addressed: 6, Trinklera str., Kharkov, Ukraine 61022 ; tel.:+380 57 7051755; e-mail: viktorija-v-g@rambler.ru

способные влиять на различные стороны метаболизма целостного организма. Особый интерес представляет применение субклеточных экстрактов фетальных клеток и тканей, наряду с трансплантацией живых, способных к репопуляции материалов [7, 8].

В связи с вышеизложенным целесообразно экспериментальное изучение влияния индуцированного ГП у животных на состояние прооксидантно-антиоксидантного баланса и возможности его коррекции с помощью криоконсервированного препарата эмбриофетоплацентарного комплекса человека – экстракта плаценты. Криоконсервированный экстракт плаценты человека (КЭПЧ) характеризуется широким спектром терапевтического действия в отношении всех этиопатогенетических звеньев ГП, оказывая корригирующий эффект на прооксидантно-антиоксидантный баланс. Препарат прост в применении.

Материалы и методы

Для постановки эксперимента была выбрана “фосфолипазная” модель ГП, предложенная Институтом стоматологии АМН Украины [3]. Эксперимент проводили на 69 белых 8-месячных крысах-самках линии Вистар массой 200–220 г.

Коррекцию патологического процесса в пародонте проводили с помощью внутрибрюшинного введения криоконсервированного экстракта плаценты человека в различных концентрациях (без разведения, в разведении 1:10 и 1:100 раствором натрия хлорида 0,9%) в количестве 0,5 мл в течение 4-х дней. Разделение животных по группам в зависимости от серии опыта представлено в табл. 1.

В качестве препарата сравнения нами был выбран биоглобин (НПФ “Медбиоком ЛТД”,

произведено совместно с предприятием “Биолек”), поскольку он также является плацентарным препаратом, однако отличие его состоит в том, что для обеззараживания и хранения препарат подвергается химической обработке, а не криозаморозке. С целью иммунокоррекции животным 3-й группы внутрибрюшинно, 4-кратно вводили биоглобин в объеме 0,5 мл (в соотношении 0,2 мл биоглобина на 0,3 мл 0,9% раствора натрия хлорида, что по содержанию белка соответствовало КЭПЧ в разведении 1:10).

Для оценки состояния прооксидантно-антиоксидантной системы животных, а также ее коррекции КЭПЧ определяли: интенсивность аскорбат-индуцированного перекисного окисления липидов в гомогенатах печени опытных животных; содержание гидроперекисей липидов в гомогенатах печени; антиокислительную активность плазмы крови; селензависимую глутатионпероксидазную активность в гомогенатах печени и плазме крови; каталазную активность в гомогенатах печени.

Оценивали непосредственные (26-й день) и отсроченные (49-й день) результаты экспериментальных исследований.

Статистическая обработка результатов исследований проводилась с помощью таблицы критерия достоверности Стьюдента (t). Значение $p < 0,05$ свидетельствует о достоверности выявленных различий, значение $p < 0,005$ – о высокой достоверности.

Результаты и обсуждение

Проведенные исследования прооксидантно-антиоксидантного баланса в печени животных с ГП, которым вводили КЭПЧ, на 26-й день эксперимента выявили снижение содержания продуктов перекисного окисления липидов (табл. 2). Активность аскорбат-индуцированного ПОЛ на 26-й день эксперимента снизилась по сравнению с группой животных без лечения на 36,1%. Таким образом, КЭПЧ на данном сроке эксперимента проявил выраженную антиоксидантную активность в печени животных с индуцированным ГП. Изучение на 26-й день эксперимента состояния активности антиоксидантных ферментов гомогенатов печени животных показало, что введение КЭПЧ приводило к повышению глутатионпероксидазной активности, также несколько повышалась каталазная активность.

На 49-й день эксперимента выявлено снижение содержания гидроперекисей липидов в гомогенатах печени животных с ГП, которым вводили КЭПЧ. Отмечена нормализация интенсивности аскорбат-индуцированного ПОЛ. Каталазная активность гомогенатов печени животных с ГП после лечения КЭПЧ на 49-й день эксперимента нормализовалась, а глутатионпероксидазная активность

Таблица 1. Распределение животных по группам

№ п/п, группа животных	Количество животных	Препарат, дозы
1. Контрольная (интактные животные)	9	–
2. Животные с ГП	12	Без лечения
3. Животные с ГП	12	Биоглобин, 0,5 мл, 0,2 мг белка
4.1. Животные с ГП	12	Экстракт плаценты, без разведения, 0,5 мл
4.2. Животные с ГП	12	Экстракт плаценты, разведение 1:10 0,9% раствором NaCl, 0,5 мл
4.3. Животные с ГП	12	Экстракт плаценты, разведение 1:100 0,9% раствором NaCl, 0,5 мл

Таблица 2. Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса в гомогенатах печени животных на 26-й и 49-й день эксперимента

Группа животных	Гидроперекиси липидов, нмоль МДА/мг белка	Аскорбатиндуцированное ПОЛ, нмоль МДА/мг белка за 30 мин инкубации	Глутатионпероксидазная активность, нмоль NADPH/мин мг белка)	Каталазная активность, мкмоль H ₂ O ₂ /мин мг белка
1. Интактная	0,345±0,017	2,37±0,16	265,07±23,35	333,04±28,52
26-й день эксперимента				
2. С ГП без лечения	0,528±0,050*	3,24±0,15*	181,80±5,45*	259,27±10,76*
3. Лечение КЭПЧ	0,380±0,037#	2,07±0,17#	234,42±6,67#	297,85±15,71
49-й день эксперимента				
2. С ГП без лечения	0,432±0,032*	3,72±0,10*	182,72±6,34*	302,05±9,50
3. Лечение КЭПЧ	0,361±0,040	2,91±0,27#	371,63±28,75*#	339,53±16,85

Примечания: * – статистически достоверные различия по сравнению с интактными животными, $p < 0,05$; # – статистически достоверные различия по сравнению с животными с ГП, $p < 0,05$.

увеличивалась на 103,4% по сравнению с животными с ГП без лечения.

При изучении прооксидантно-антиоксидантного баланса в плазме крови животных уже на 26-й день эксперимента, через 7 дней после проведенной терапии, было выявлено достоверное снижение содержания исследуемых продуктов ПОЛ в плазме крови животных (табл. 3). Антиокислительная активность плазмы крови, которая в ответ на патологию несколько снижалась, в результате терапии практически полностью нормализовалась. Также отмечено повышение глутатионпероксидазной активности.

Введение КЭПЧ к 49-му дню эксперимента привело к нормализации содержания гидроперекисей липидов в плазме крови животных с индуцированным ГП. Глутатионпероксидазная активность на данном сроке у этих животных достоверно повышалась. Антиокислительная активность плазмы крови, которая существенно не менялась при развитии патологии, также не изменялась и у животных, получавших лечение.

Из всех изученных показателей антиоксидантной системы плазмы крови и печени глутатионпероксидазная активность, которая значительно снижалась при развитии ГП, в ответ на введение

Таблица 3. Показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса в плазме крови животных на 26-й и 49-й день эксперимента

Группа животных	Гидроперекиси липидов, нмоль МДА/мл	Антиокислительная активность, %	Глутатионпероксидазная активность, нмоль NADPH/мин × мл
1. Интактная	1,86±0,16	64,60±3,71	2183,33±46,85
26-й день эксперимента			
2. С ГП без лечения	2,60±0,15*	53,55±3,30	1766,90±104,65*
3. Лечение КЭПЧ	1,79±0,11#	58,47±1,77	1945,34±51,63*#
49-й день эксперимента			
2. С ГП без лечения	2,84±0,06*	54,78±2,96	1612,98±38,25*
3. Лечение КЭПЧ	1,83±0,13#	58,13±1,22	1936,48±80,84*#

Примечания: * – $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными; # – $p < 0,05$ по сравнению с животными с ГП.

КЭПЧ увеличивалась. Установленный высокий уровень активности глутатионпероксидазы – основного фермента, утилизирующего гидроперекиси липидов в печени, а также выраженное ее повышение в плазме крови животных после лечения с помощью КЭПЧ свидетельствует о повышении надежности антиоксидантной системы и может объяснить корригирующий ПОЛ эффект, а также эффективность терапевтического воздействия КЭПЧ при ГП в целом.

Выводы

В целом полученные данные позволяют заключить, что повышавшаяся при развитии ГП концентрация гидроперекисей липидов в плазме крови животных нормализовалась при лечении с использованием КЭПЧ. В гомогенатах печени животных с ГП, получавших КЭПЧ, нормализовалось содержание продуктов ПОЛ. Корригирующий эффект КЭПЧ наблюдался и в отношении интенсивности аскорбат-индуцированного ПОЛ в гомогенатах печени животных.

Литература

1. *Бобырев В.Н.* Биофизическая фармакодинамика и молекулярные механизмы действия антиоксидантов как средств профилактики и лечения свободнорадикальной патологии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук.– Киев, 1983.– 23 с.
2. *Воскресенский О.Н., Ткаченко Е.К.* Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита // *Стоматология.*– 1991.– №4.– С.5–10.
3. *Зубачик В.М., Левицкий А.П., Макаренко О.А. та інші* Фосфоліпазна модель пародонтиту // *Вісник стоматології.*– 1999.– № 4.– С. 3–7.
4. *Кулаков В.И., Сухих Г.Т., Молнар Е.М.* Трансплантация фетальных тканей человека: анализ состояния проблемы и перспективы развития // *Трансплантация фетальных тканей и клеток: Сб. статей.*– Москва, 1996. – С. 5–9.
5. *Нідзельський М.Я.* Вільнорадикальне окислення – ведучий фактор в стоматологічній патології та обґрунтування методів його корекції // *Вестник проблем биологии и медицины.*– 1998.– №1.– С. 18–24.
6. *Силенко Ю.И.* Роль свободнорадикальных, гемокоагулирующих и иммунных механизмов в патогенезе пародонтита и разработка патогенетической терапии последнего: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук.– Полтава, 1992.– 38 с.
7. *Суббота Н.П., Питько В.А., Грищенко В.И.* Биохимические и иммунологические механизмы действия трансплантированных фетальных препаратов // *Трансплантология.*– 2000.– Т. 1, №1.– С. 290–292.
8. *Юрченко Т.Н., Прокопюк О.С., Кузьмина И.Ю. и др.* О возможности криоконсервирования плацентарной ткани // *Тези доповідей I з'їзду українського товариства кріобіології і кріомедицини.*– Харків, 1995.– С. 284–285.
9. *Cohen C.B., Jonsen A.R.* The future of the fetal tissue bank // *Science.*– 1993.– Vol. 262, N5140.– P. 1663–1665.

Поступила 05.09.2008