

8. **Chumakova M.M., Kidagidze Z.G.** Influence of levamisole on cytotoxic activity of normal lymphocytes in tissue culture. *Bull.experim. biol. i meditsiny.* 1979; 11: 581–582.
9. **Ottemes J.D., Torchia A.S., Bilven M.L.** Interaction of levamisole ansercaptans duringthymocyte proliferation induced by concanavalin A. *Cell. Immunol.* 1979; 1(43):62–69.
10. **Tyring S.K., Lefkowitz S.** Induction of interferon by levamisole and concanavalin A in HA/ICR mouse spleen cells. *Experimentia.* 1980;36:1323–1324.
11. **Gariner E.M.S.** Levamisole augmentation of PPD–induced lymphocyte proliferation/S. *Aft.Med. J.* 1981;4(59):109–110.
12. **Gulling E.V., Dyugovskaya L.A.** Inhibition of reagin synthesis in the respiratory tract in the local application of certain limfocitotropic substances. *Doklady AN USSR.* 1980;10:72–73.
13. **Gulling E. V., Pisanko V. N.** Influence of of levamisole on the development of delayed-type hypersensitivity. *Vrachebnoye delo.* 1981;1:101–103.
14. **Yusubov Y.A.** Patogenez, diagnostika i lecheniye osteomyelitov chelustey u detey: kiln.-experimen. issled. [The pathogenesis, diagnosis, and treatment of osteomyelitis of jaws in children: klin.-experimen. investig.]. Abstract of dissertation for doctor medical sciences. Kiev 1988: 45.
15. **Korenman I. M.** Extraktsiya v analize organicheskikh veschestv [Extraction in the analysis of the organic substances]. Moscow, Khimiya; 1977: 150.
16. **Nechayeva L. Y., Galatenko N. A., Bifius N. N.** Extraction-photometric determination of levamisole out of the drug with prolonged immunomodulating effect. *Farmatsiya.* 1989; 2:24–27.

Надійшла 22.04.13



УДК 615.31:546.172.6:616.716.85/.87-001-003.93-092.9

А. Г. Гулюк, д. мед. н., Е. В. Желнин, к. мед. н.

Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»
Харьковский национальный медицинский университет

**МЕТАБОЛИТЫ ОКСИДА АЗОТА
ПРИ ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОЙ
РЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬВЕОЛЯРНОЙ КОСТИ
У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ
ДЕКСАМЕТАЗОНА**

После травмы альвеолярной кости у крыс наблюдается кратковременное повышение содержания общих метаболитов оксида азота (NO) – на 7-ые сутки и длительное повышение содержания нитрит-аниона (в течение 45-и суток) в крови. При остеопорозе отмечается медленное, значительное и длительное нарастание содержания общих метаболитов NO. Во все исследуемые после травмы сроки обнаруживаются достоверные различия в содержании нитрит-аниона между группами крыс без патологии костной ткани и с остеопорозом.

Ключевые слова: альвеолярная кость, посттравматическая регенерация, метаболиты NO.

А.Г. Гулюк, Е. В. Желнин

Державна установа «Інститут стоматології Національної академії медичних наук України»
Харківський національний медичний університет

**МЕТАБОЛІТИ АКСИДУ АЗОТУ
ПРИ ПІСЛЯТРАВМАТИЧНІЙ РЕГЕНЕРАЦІЇ
АЛЬВЕОЛЯРНОЇ КІСТКИ У ЩУРІВ В УМОВАХ
ВВЕДЕННЯ ДЕКСАМЕТАЗОНУ**

Після травми альвеолярної кістки у щурів спостерігається короткочасне збільшення вмісту загальних метаболітів NO (на 7-му добу) і довготривале збільшення вмісту нітрит-аніону (на протязі 45 діб). При остеопорозі відмічається повільне, виражене і тривале наростання вмісту загальних метаболітів NO. В усі терміни дослідження знайдено вірогідні відмінності вмісту нітрит-аніону між групами щурів без патології кісткової тканини і з остеопорозом.

Ключові слова: альвеолярна кістка, післятравматична регенерація, метаболіти NO.

A. G. Guliuk, Ye. V. Zhelnin

State Establishment “The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”
Kharkiv national Medical University

**NITRIC OXIDE METABOLITES
IN POSTTRAUMATIC REGENERATION
OF ALVEOLAR BONE IN RATS
ON THE BACKGROUND OF DEXAMETHASONE
ADMINISTRATION**

ABSTRACT

We hypothesized about NO metabolism disturbance in post-traumatic regeneration of alveolar bone in the prior administration of dexamethasone.

The purpose of research: *The study of NO metabolites content in the blood after an injury of the alveolar bone in rats on the background of dexamethasone administration.*

Methods: *70 male rats (WAG) were divided into 4 groups: group 1 - intact (n=8), group 2 - osteoporosis (n=12), group 3 - mandible injury (n=24) group 4 - osteoporosis+ mandible injury (n=26). Groups 2 and 4 were injected dexamethasone (1.675 mg/kg), 3 – saline in a volume equivalent to a solution of dexamethasone i.m. once a day for 2 weeks. After 2 weeks rats of groups 3 and 4 of were exposed to injury of mandible. Rats of 3rd and 4th groups were killed at 7, 14, 28, 45 days after injury. The content of total NO metabolites and nitrite anion in the blood was determined in all groups.*

Results: *In rats of 3rd group an increase in the content of common NO metabolites on the 7th day and of nitrite anion (during the 45 days) in the blood as compared with intact rats were revealed. Regeneration in rats of 4th group was characterized by more pronounced and prolonged rise in the level of common NO metabolites and nitrite anion. In all study periods after the injury significant differences in the content of nitrite anion between animals of 3rd and 4th groups were revealed.*

Conclusion: *In posttraumatic regeneration of alveolar bone in osteoporosis NO metabolism is disturbed. Metabolites of NO (especially nitrite anion) are sensitive criteria of disturbances in posttraumatic regeneration of alveolar bone.*

Keywords: *alveolar bone, posttraumatic regeneration, nitric oxide metabolites.*

Оксид азота (NO) – медиатор внутриклеточных и межклеточных взаимодействий, важнейший медиатор иммунной системы [1,2]. Все многообразие биологических эффектов NO можно разделить на 3 типа: регуляторное влияние NO; защитное действие NO (антиоксидантная активность, защита от токсического воздействия цитокинов, ингибирование адгезии лейкоцитов); повреждающее действие NO (ингибирование активности ферментов, нарушение структуры ДНК, индукция процессов ПОЛ, снижение антиоксидантного потенциала и др.). Два первых типа эффектов осуществляются за счет достаточно стабильных концентраций NO. Третий тип эффектов реализуется значительно большими концентрациями NO. Именно с повреждающим действием NO связана его роль в нарушениях иммунитета [1, 3]. Известно, что системное нарушение биосинтеза и метаболизма цитокинов приводит к нарушениям иммунологического характера [4, 5], а провоспалительные цитокины являются триггером синтеза избыточного количества NO. Ранее показано, что изменение процессов ремоделирования альвеолярной кости под влиянием дексаметазона сопровождается увеличением концентрации провоспалительных цитокинов в крови [6]. Последнее, в свою очередь, приводит к увеличению содержания нитрит-аниона. Естественно было предположить, нарушение метаболизма NO при посттравматической регенерации альвеолярной кости в условиях предварительного введения дексаметазона.

Цель настоящего исследования. Изучение содержания метаболитов оксида азота в крови при травме альвеолярной кости у крыс в условиях введения дексаметазона.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проведен на 70 половозрелых крысах-самцах

линии WAG. Животные были разделены на 4 группы: группа 1 – интактные; группа 2 – остеопороз, вызванный введением дексаметазона из расчета 1,675 мг/кг 1 раз в сутки внутримышечно в течение 2 недель [7]; группе 3 и 4 наносили травматическое повреждение нижней челюсти в виде перфорационного (сквозного дырчатого) дефекта диаметром 2 мм [8]. До проведения операции группе 3 вводили внутримышечно физиологический раствор в объеме, эквивалентном раствору дексаметазона, ежедневно в течение 2-х недель, группе 4 – дексаметазон в дозе 1,675 мг/кг ежедневно внутримышечно в течение 2-х недель. Оперативное вмешательство осуществляли под общим наркозом (аминазин 10 мг/кг, кетамин 50мг/кг) в условиях асептики и антисептики. Крыс 3-й и 4-й групп выводили из эксперимента на 7, 14, 28 и 45 сутки после травмы. Во всех группах определяли содержание суммарных метаболитов NO и нитрит-аниона в крови [9]. Животных всех групп выводили из эксперимента с соблюдением требований Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для исследовательских и других научных целей. Результаты исследований обрабатывали стандартными методами вариационной статистики на персональном компьютере с использованием прикладных программ «Stadia-6».

Результаты исследований и их обсуждение. В группе 2 (остеопороз) под влиянием глюкокортикоидов содержание общих метаболитов NO снижается на треть по сравнению с интактными животными (табл. 1). Что касается нитрит-аниона, то его концентрация под влиянием дексаметазона (в противоположность общим метаболитам NO) увеличивается в сравнении с интактными животными в 1,3 раза (табл. 2).

Таблица 1

Содержание общих метаболитов оксида азота в сыворотке крови крыс после травмы альвеолярной кости

Группы		Сроки наблюдения (сутки)			
		7-е	14-е	28-е	45-е
Группа 1 (интактные)	92,75±8,81 (n=8)				
Группа 2 (остеопороз)	61,83±4,33 P ₁ < 0,05 (n=12)				
Группа 3 (травма нижней челюсти)		128,42±14,48 P ₁ < 0,02 (n=6)	110,11±9,72 (n=6)	109,87±10,58 (n=6)	49,94±4,28 P ₁ < 0,02 P ₃ < 0,02 (n=6)
Группа 4 (остеопороз + травма нижней челюсти)		90,37±7,28 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05 (n=6)	154,59±16,74 P ₁ < 0,02 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,05 (n=6)	106,00±10,26 P ₃ < 0,05 (n=7)	120,27±14,48 P ₁ < 0,05 P ₂ < 0,01 (n=7)

Примечание: P₁ – достоверно относительно интактной группы;

P₂ – достоверно относительно 3 группы;

P₃ – достоверно относительно предыдущего срока.

Таблица 2

**Содержание нитрит-аниона в сыворотке крови крыс
после травмы альвеолярной кости**

Группы		Сроки наблюдения (сутки)			
		7-е	14-е	28-е	45-е
Группа 1 (интактные)	6,39±0,62 (n=8)				
Группа 2 (остеопороз)	8,17±1,27 P ₁ < 0,05 (n=12)				
Группа 3 (травма нижней челюсти)		7,94±0,83 P ₁ < 0,05 (n=6)	11,83±1,26 P ₁ < 0,01 P ₃ < 0,02 (n=6)	12,34±1,58 P ₁ < 0,01 (n=6)	9,29±1,39 P ₁ < 0,05 P ₃ < 0,05 (n=6)
Группа 4 (остеопороз + травма нижней челюсти)		14,25±1,58 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,01 P ₃ < 0,02 (n=6)	14,13±1,37 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,05 (n=6)	21,01±1,07 P ₁ < 0,001 P ₂ < 0,02 P ₃ < 0,05 (n=7)	7,07±0,53 P ₂ < 0,05 P ₃ < 0,01 (n=7)

Примечание: P₁ – достоверно относительно интактной группы

P₂ – достоверно относительно 3 группы

P₃ – достоверно относительно предыдущего срока

В группе 3 (травма нижней челюсти) содержание общих метаболитов NO в крови достоверно повышено только на 7-ые сутки после травмы, в дальнейшем постепенно снижается до нормы, а на 45-ые сутки оказывается ниже физиологических значений (табл. 1). Исследование содержания нитритов в крови этой группы крыс обнаруживает следующую картину. Анализ концентрации стабильного метаболита NO – нитрит-аниона показал его достоверное увеличение во все сроки наблюдения, т.е. на протяжении 1,5 месяцев в сравнении с интактными животными (табл. 2). Максимальное повышение отмечено на 14-ые и 28-ые сутки, когда содержание нитрит-аниона повышается в 1,8 и 1,9 раза соответственно в сравнении с нормой. Однако с течением времени отмечается снижение этого показателя. Так, на 45-ые сутки содержание нитрит-аниона достоверно ниже, чем на 28-ые сутки.

Таким образом, содержание нитритов в крови животных в ответ на механическую травму альвеолярной кости изменяется значительно (нарастает) по сравнению с общим содержанием метаболитов NO.

В группе 4 (травма нижней челюсти на фоне остеопороза) после оперативного вмешательства изменения в концентрации метаболитов NO в крови носят фазный характер: на 7-ые сутки их концентрация достоверно увеличивается под влиянием травмы, но не выходит за рамки значений интактных крыс, к 14-ым суткам достигает максимума (превышает интактные значения в 1,7 раза) и аналогичный показатель в группе 3 (без применения дексаметазона) в 1,4 раза, на 28-ые сутки снижается по сравнению с предыдущим сроком, а на 45-ые сутки наблюдается вторая волна подъема.

Таким образом, увеличение содержания общих метаболитов NO запаздывает по сравнению с группой 3 (табл.1). Несмотря на отмеченное снижение содержания общих метаболитов NO под влиянием глюкокортикоидов, после нанесения травмы их концентра-

ция быстро нарастает, превышая показатели группы 3 в соответствующие сроки. Чрезмерное нарастание этого показателя однозначно расценивается как формирование вторичного иммунодефицитного состояния [1,10]. Обращает также внимание тот факт, что в динамике исследования отмечаются достоверные отличия содержания метаболитов NO в крови между 3-й и 4-й группами на 7-ые, 14-ые и, особенно, 45-ые сутки.

Содержание нитрит-аниона в группе с травмой нижней челюсти на фоне остеопороза увеличивается с 7-х суток, достигая максимума на 28-ые сутки, когда его концентрация в 1,7 раза превышает показатели группы 3, в 2,6 раза – значения до операции и в 3,3 раза – норму. На 45-ые сутки содержание нитрит-аниона в крови резко снижается. Во все исследуемые сроки отмечаются достоверные различия между показателями 3-й и 4-й групп.

Избыточное количество метаболитов NO, наблюдаемое в группе животных с травмой альвеолярной кости после предварительного введения дексаметазона, может вести к угнетению обмена веществ в костной ткани при воспалении, угнетать рост и дифференцировку остеобластов [8]. Ещё один важный патогенетический аспект влияния избыточных количеств NO на остеогенез состоит в том, что при воспалении с выраженными общими проявлениями резко возрастает продукция супероксиданиона макрофагами и полиморфноядерными нейтрофилами. Отмечается быстрое сопряжение реакции между избыточным количеством NO и супероксиданином с образованием пероксинитрита. Последний обладает гораздо большей реакционной способностью, чем NO и супероксиданион, является сильным ДНК-расщепляющим агентом, стимулирует апоптоз и мутацию различных клеток, подавляет транспорт электронов в митохондриях [1,10]. С учетом данного факта становится очевидным замедление процессов репаративной регенерации кост-

тей нижньої челюсті після її перелому у крыс в умовах чрезнамереного поступлення в організм нітрату натрію [8,11,12]. Автори установили негативне впливання образования пероксинітрида на течення репаративної регенерації після перелому нижньої челюсті. Полученные нами на більшій щадящій моделі травми альвеолярної кістки дані підтверджують первостепенне значення оксиду азота і його метаболітів в порушенні процесів репаративної регенерації костної тканини челюсті і представляють їх, особливо нітриди, достаточні чутливими показателями порушення остеогенеза.

Для остаточного рішення питання про можливість використання метаболітів NO для прогнозування течення посттравматического періоду потребує сопоставлення виявлених порушень метаболізму NO з гистоморфологічними процесами в альвеолярному отростку, що і складе задачу наших дальніших досліджень.

Висновки. 1. При посттравматическої регенерації альвеолярної кістки в умовах остеопороза, викликаного дексаметазоном, порушується метаболізм NO.

2. Метаболіти NO, особливо нітрид-аніон, являються чутливими критеріями порушення посттравматическої регенерації альвеолярної кістки.

Список литературы

1. **Бондарь Т. Н.** Система L-аргинин/оксид азота и иммунитет / Т. Н. Бондарь // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2009. – № 3. – С. 4–8.
2. **Проблема оксид азота в неврологии** / [Малахов В. А., Завгородняя А. Н., Лычко В. С. и др.]. – Сумы : Издательство СумГПУ им. А.С.Макаренка, 2009. – 242 с.
3. **Звягинцева Т. В.** Роль метаболитов оксид азота в механизмах развития экспериментального ожога / Т. В. Звягинцева, А. В. Кривошапка, Е. В. Желнин // Экспериментальна і клінічна медицина. – 2011. – Т. 2, № 51. – С. 5–9.
4. **Козина О. В.** Метаболизм нитрозотиолов при аллергическом воспалении / О. В. Козина // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – Т. 30, № 1. – С. 109–116.
5. **Звягинцева Т. В.** Метаболитотропная терапия хронических ран / Т. В. Звягинцева, И. В. Халин. – Х. : Вирвеець А.П. «Апостроф», 2011. – 180 с.
6. **Желнин Е. В.** Маркеры остеогенеза и их связь с процессами ремоделирования альвеолярной кости в эксперименте / Е. В. Желнин // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2012. – Т. 12, Вип. 4. – С. 126–130.
7. **Yasear A. Y.** Effect of dexamethasone on osteoclast formation in the alveolar bone of rabbits / A. Y. Yasear, S. A. Hamouda // Iraqi Journal of Veterinary Sciences. – 2009. – Vol. 23, № 1. – P. 13–16.
8. **Дедух Н. В.** Регенерация кистки при алиментарном остеопорозі (експериментальне дослідження) / Н. В. Дедух, О. А. Нікольченко // Ортопедія, травматологія і протезування. – 2009. – № 2. – С. 34–40.
9. **Покровский М. В.** Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксид азота в сыворотке крови экспериментальных животных / М. В. Покровский, В. А. Метельская, Е. Б. Артюшкова // Актуальные вопросы фармакологии и фармации: сборник трудов межвузовской научной конференции, посвященной памяти профессора В.В.Пичугина и 75-летию КГМУ, 2009. – С. 255–257.
10. **Противапальний вплив N-стеароїлетаноламіну на експериментальну опікову травму у щурів** / Н. М. Гула, А. А. Чумак, А. Г. Бердишев [та ін.] // Український біохімічний журнал. – 2009. – Т. 81, № 2. – С. 107–116.
11. **Должкова К. П.** NO-залежні механізми регенерації кісток нижньої щелепи за умов надходження в організм нітрату натрію : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : спец. 14.03.04 „Патофізіологія” / К. П. Должкова. – Х., 2011. – 20 с.
12. **Должкова К. П.** Вплив пригнічення та індукції NO-синтази на біохімічний склад кісткової тканини нижньої щелепи при відтворенні її перелому на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію /

К. П. Должкова, В. О. Костенко // Проблеми екології та медицини. – 2010. – Т. 14, № 1-2. – С. 35–38.

REFERENCES

1. **Bondar T. N.** L-arginin/nitric oxide system and immunity. Eksperymentalna i klinichna medytsyna. 2009; 3: 4–8.
2. **Malahov V. A.,** Zavgorodnyaya A. N., Lyichko V. S., Dzhanelidze T. T., Voloh F. A. Problema oksida azota v nevrologii [Problem of nitric oxide in neurology]. Sumy, Izdatel'stvo SumGPU im. A.S. Makarenka, 2009: 242.
3. **Zvyagintseva T. V.,** Krivoschupka A. V., Zhelnin E. V. Role of nitric oxide metabolites in the mechanisms of experimental burn. Eksperymentalna i klinichna medytsyna. 2011; 51 (2): 5–9.
4. **Kozina O. V.** Metabolism of nitrosothiols at an allergic inflammation. Byulleten SO RAMN. 2010; 1 (30): 109–116.
5. **Zvyagintseva T. V.,** Khalin I. V. Metabolitotropnaya terapiya khronicheskikh ran [Metabolitotropic therapy of chronic wounds]. Kharkov, Virovets A.P. «Apostrof», 2011: 180.
6. **Zhelnin E. V.** Osteogenesis markers and their relation to the remodeling of the alveolar bone in the experiment. Aktualni problemy suchasnoy medytsyny: Visnyk Ukrainkoï medychnoï stomatologichnoï akademii. 2012; 4 (12): 126–130.
7. **Yasear A. Y.,** Hamouda S. A. Effect of dexamethasone on osteoclast formation in the alveolar bone of rabbits. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. 2009; 1 (23): 13–16.
8. **Diedukh N. V.,** Nikolchenko O. A. The regeneration of bone in alimentary osteoporosis (experimental study). Ortopediya, travmatologiya i protezirovanie. 2009; 2: 34–40.
9. **Pokrovskij M. V.,** Metelskaya V. A., Artyushkova E. B. Screening method of definition of nitric oxide metabolites level in serum of blood in experimental animals. Aktualnye voprosy farmakologii i farmacii : sbornik trudov mezhdvuzovskoj nauchnoj konferencii, posvyashhyonnoj pamyati professora V.V.Pichugina i 75-letiyu KGMU. 2009: 255–257.
10. **Gula N. M.,** Chumak A. A., Berdyshev A. G., Megel O.F., Horidko H. M., Kindruk N. L., Kosiakova H. V., Zhukov O. D. Anti-inflammatory effect of N-stearoylethanolamine on experimental burn wound in rats. Ukrainyky biokhimichnyi zhurnal. 2009; 2 (81): 107–116.
11. **Dolzhkova K. P.** NO-zalezni mekhanizmy reheneracii kistok nyzhnoï shchelepy za umov nadkhozhdzhennia v organizm nitratu natriu [NO-dependent mechanisms of regeneration of bones of mandible at the condition of sodium nitrate of entering in organism]. Abstract of dissertation for candidate of medical sciences. Kharkiv, 2011: 20.
12. **Dolzhkova K. P.,** Kostenko V. O. Influence of inhibition and induction of NO-sintaz on biochemical composition of bone tissue of mandible at the modelling of its fracture on the background of chronic intoxication by sodium nitrate. Problemy ekologii ta medytsyny. 2010; 1-2 (14): 35–38.

Поступила 08.04.13

УДК 616.314-002-085 + 242-085.31.547.953.2:615.088

А. Э. Деньга, О. А. Макаренко, д. биол. н.

«Одесский национальный медицинский университет»
Государственное учреждение «Институт стоматологии
национальной академии медицинских наук Украины»

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕЧЕБНО- ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ СОПРОВОЖДЕНИЯ ОРТОДОНТИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ЗУБОЧЕЛЮСТНЫХ АНОМАЛИЙ У ДЕТЕЙ С НАЧАЛЬНЫМ КАРИЕСОМ ЗУБОВ

Показана в эксперименте на животных высокая эффективность кариеспрофилактического комплекса, разработанного для сопровождения ортодонтического лечения