

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 615.272.7+615.015.44+599.323.4

**Ткаченко Е.К.**

кандидат биологических наук,  
заведующая сектором экспериментальной патологии  
ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН»  
Шнайдер С.А.

доктор медицинских наук, профессор  
ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН»

**Савельева Н.Н.**

доктор медицинских наук,  
Харьковский национальный медицинский университет

**Гороховский В.Н.**

доктор медицинских наук,  
ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН»

**Суслова О.В.**

кандидат медицинских наук,  
Одесский национальный медицинский университет

### ТОКСИЧЕСКАЯ КАЛЬЦИЙ-ДЕФИЦИТНАЯ МОДЕЛЬ ПАРОДОНТИТА TOXIC CALCIUM DEFICIENCY MODEL OF PERIODONTITIS

**Tkachenko E.K.**

candidate of biological sciences, head of the experimental pathology sector  
of the SE "Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the  
National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

**Shnaider S.A.**

doctor of medical sciences, professor, director of the  
SE "Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the  
National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

**Savelieva N.N.**

doctor of medical sciences,  
Kharkiv National Medical University

**Gorokhivskij V.N.**

doctor of medical sciences,  
SE "Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery of the  
National Academy of Medical Sciences of Ukraine"

**Suslova O.V.**

candidate of medical sciences,  
Odessa National Medical University

**Summary.** The experiment was conducted on 15 white male rats 1.5 months of age of the Wistar line. The intact group consisted of 7 rats. Experimental periodontitis in 8 rats was reproduced by oral administration of a solution of pelentan at a dose of 10 mg / kg of rat body weight 5 times a week for 60 days.

**Аннотаци.** В опыт были взяты 15 белых крыс-самцов 1,5-мес. возраста линии Вистар стадного разведения. Интактную группу составили 7 крыс. Экспериментальный пародонтит у 8 крыс воспроизводили с помощью перорального введения раствора пелентана в дозе 10 мг/кг массы тела крыс 5 раз в неделю в продолжении 60 дней.

**Key words:** *periodontitis model, pelentan, fragmentation of periodontal connective tissue structures, osteocalcin, sulfhydryl compounds, oxidative modification, rats.*

**Ключевые слова:** *модель пародонтита, пелентан, разобщение соединительнотканых структур пародонта, остеокальцин, сульфгидрильные соединения, окислительная модификация, крысы.*

**Постановка проблемы.** В патогенезе пародонтита происходит деструкция пародонта, в т.ч. и патологическая резорбция его костных структур.

Ткани пародонта богаты соединительной тканью (СТ), процессы метаболизма которой

связаны с особенностями её строения, в которой межклеточный матрикс (МКМ) занимает значительно больший объем, чем клетки (фибробласты, тучные клетки, макрофаги). МКМ состоит из волокнистых структур, пространство между которыми заполнено основным веществом,

содержащим гексозаминосахариды и гликопротеины. Волокнистые компоненты МКМ в основном состоят из белков – коллагена и эластина [1,2].

Для нормального функционирования МКМ необходим витамин К, который обладает по отношению к нему анаболическим действием. Кроме того, как кофактор, витамин К участвует в посттрансляционном карбоксилировании глутаминовых остатков (Glu) кальций-связывающих белков [3].

**Анализ последних исследований и публикаций.** Длительное введение антагониста витамина К – пеллентана (неодикумарина) угнетает активность фермента глюкозаминсинтетазы (КФ 5.3.1.19), которая катализирует образование глюкозамино-6-фосфата, являющегося предшественником всех азотсодержащих моносахаридов, включая сиаловые кислоты [4]. Кроме того, пеллентан блокирует К-витамин-редуктазу, нарушает биосинтез факторов II, VII, IX и X свертывания крови в печени. Пеллентан относится к антикоагулянтам непрямого действия, обладает кумулятивными свойствами, снижает свертывающую активность протромбина, повышает проницаемость сосудов. При К-авитаминозе наблюдается резкое угнетение гексозаминосинтетазной активности печени и одновременно уменьшение уровня гексозаминосахаридов в различных тканях. В условиях алиментарного К-авитаминоза нарушается дифференцировка фибробластов, разрушаются коллагеновые и эластиновые волокна, наблюдается отек СТ кожи [4].

**Выделение нерешенных ранее частей общей проблемы.** Все вышеперечисленное предопределило использование антагониста витамина К пеллентана при моделировании экспериментального пародонтита.

Другим компонентом при воспроизведении экспериментальной модели был избран ЭДТА (этилендиамин-тетраацетат), который относится к группе комплексонеров, способных образовывать комплексные соединения с различными катионами, в т.ч. и с ионами кальция.

**Цель статьи.** Разработка модели экспериментального пародонтита, которая воспроизводит нарушения метаболизма соединительной ткани пародонта в условиях действия антагониста витамина К, а также потерю минеральных компонентов костной ткани пародонта под действием комплексона ЭДТА.

## Изложение основного материала.

### Материалы и методы

В опытах использовали 15 белых крыс-самцов 1,5-мес. возраста линии Вистар стадного разведения. Интактную группу составили 7 крыс. Экспериментальный пародонтит у 8 крыс воспроизводили с помощью перорального введения раствора пеллентана (Лехива, Чехия) в дозе 10 мг/кг массы тела крыс 5 раз в неделю через день в утренние часы в продолжении 60 дней. Вместо питьевой воды животные получали 2% раствор ЭДТА ad libitum.

После завершения эксперимента крыс забивали тотальным кровопусканием из сосудов сердца под наркозом (тиопентал натрия в дозе 40 мг/кг). Предварительно отделив слизистую оболочку полости рта (СОПР) выделяли челюсти и подвергали их морфометрическому исследованию [5].

Объектами биохимических исследований служили сыворотка крови, печень, бедренная кость, СОПР и кость альвеолярного отростка.

Уровень ПОЛ оценивали по содержанию ацилгидроперекисей (АГП) [6], диеновых конъюгатов [7] и малонового диальдегида (МДА) [8]. Состояние физиологической антиоксидантной системы (ФАС) оценивали по активности ферментов – каталазы [9], глутатион-редуктазы (ГР) [10], глутатион-пероксидазы (ГПО) [11] и состоянию тиол-дисульфидной системы [12]. Определение механической прочности коллагена сухожилий хвоста крыс проводили гравиметрическим методом согласно рекомендациям [13]. Расчеты проводили методом Вилкоксона [14].

Результаты биохимических исследований обрабатывали общепринятыми методами с определением t-критериев достоверности различий по Стьюденту.

### Результаты и обсуждения

Токсическую кальций-дефицитную модель пародонтита воспроизводили сочетанным введением антагониста витамина К пеллентана и заменой питьевой воды раствором ЭДТА. Большинство животных перенесли указанные условия удовлетворительно – лишь к концу опыта 2 крысы пали (исключены из наблюдений).

Совместное влияние пеллентана и ЭДТА значительно усиливало резорбтивные процессы в костной ткани пародонта – на нижней челюсти резорбция усиливалась вдвое ( $p < 0,001$ ); на верхней – в 1,4 раза ( $p = 0,04$ ). Среднее усиление резорбции для двух челюстей составило 70% (от 100% в интактной группе;  $p < 0,001$ ; табл. 1).

Таблица 1

**Показатели резорбции кости альвеолярного отростка крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m; p)**

Группы животных	Показатели резорбции (%)		
	нижняя челюсть	верхняя челюсть	среднее значение
Интактная	31,6±2,0	28,8±2,2	30,2±2,1
Модель пародонтита	62,8±1,3 p<0,001	40,0±3,1 p=0,004	51,4±2,2 p<0,001

Примечание. В табл. 1-4 показатель достоверности p рассчитан по сравнению с интактной группой.

В сыворотке крови, печени и слизистой оболочке полости рта усиливались перекисные процессы (табл. 2).

Таблица 2

**Содержание продуктов ПОЛ в сыворотке крови и тканях крыс в условиях моделирования пародонтита (M±m; p)**

Группы животных	Содержание	
	АГП (ед.экст/мл) ДК (ед.экст/г)	МДА (нмоль/мл, нмоль/г)
	сыворотка крови	
Интактная	1,49±0,040	17,7±5,90
Модель пародонтита	2,02±0,030 p<0,001	19,4±0,26
	печень	
Интактная	0,21±0,015	45,2±4,48
Модель пародонтита	0,34±0,044 p=0,012	54,7±6,93
	СОПР	
Интактная	-	36,7±2,71
Модель пародонтита	-	64,2±5,19 p<0,001
	кость альвеолярного отростка	
Интактная	0,18±0,013	10,2±1,88
Модель пародонтита	0,20±0,027	12,3±1,27
	бедренная кость	
Интактная	0,21±0,032	10,4±1,74
Модель пародонтита	0,25±0,053	14,6±4,89

Так, в сыворотке крови крыс при моделировании пародонтита содержание первичных продуктов ПОЛ ацилгидроперекисей суммарной фракции липопротеидов увеличивалось на 36% (p<0,001); в печени содержание диеновых конъюгантов – на 62%. (p=0,012; табл. 2). Уровень МДА в слизистой оболочке полости рта увеличивался на 75 % (p<0,001). В костной ткани (в бедренной и кости альвеолярного отростка)

содержание МДА увеличивалось незначительно (p>0,05; табл.2).

При моделировании патологии пародонта изменялась активность антиоксидантных ферментов, в большей степени ферментов обмена внутритканевого антиоксиданта глутатиона – глутатион-редуктазы и глутатион-пероксидазы (табл.3).

**Активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови и тканях крыс в условиях моделирования пародонтита ( $M \pm m$ ;  $p$ )**

Показатели	Группы животных	
	интактная	модель пародонтита
	сыворотка крови	
Каталаза (мкат/л)	926±289	550±161
	печень	
ГР (мкмоль/с·г)	0,10±0,06	0,020±0,008
ГПО (мкмоль/с·г)	23,0±3,68	4,89±0,79 $p < 0,001$
	СОПР	
ГР (мкмоль/с·г)	0,080±0,030	0,090±0,004
ГПО (мкмоль/с·г)	11,2±0,89	10,4±0,050
	кость альвеолярного отростка	
Каталаза (мкат/л)	56,0±6,40	46,0±4,00
ГР (мкмоль/с·г)	0,13±0,002	0 $p < 0,001$
ГПО (мкмоль/с·г)	6,99±1,05	2,10±0,53 $p = 0,003$
	бедренная кость	
Каталаза (мкат/л)	60,0±7,20	64,0±4,50
ГР (мкмоль/с·г)	0,24±0,090	0,24±0,070
ГПО (мкмоль/с·г)	5,68±1,05	2,47±0,68 $p = 0,03$

Под воздействием пеллентана и ЭДТА активность ГПО в печени снижалась в 4,7 раза ( $p < 0,01$ ); в бедренной кости – в 2,3 раза ( $p = 0,03$ ). Активность указанного фермента при моделировании пародонтита значительно снижалась также локально, в кости альвеолярного отростка (в 3,3 раза;  $p = 0,003$ ). В костной ткани пародонта снижалась активность другого антиоксидантного фермента – глутатион-редуктазы ( $p < 0,001$ ; табл.3). В слизистой оболочке полости рта активность ферментов обмена глутатиона не претерпела статистически значимых изменений (табл.3). Активность каталазы в сыворотке крови и изученных тканях изменялась недостоверно ( $p > 0,05$ ; табл.3). Полученные результаты свидетельствуют о недостаточном функционировании ферментативных компонентов ФАС.

При моделировании пародонтита уровень сульфгидрильных и дисульфидных водорастворимых соединений повышался в печени и бедренной кости, в отличие от тканей пародонта (табл.4). Так, в печени содержание

сульфгидрильных и дисульфидных групп возросло в условиях моделирования в 1,9 раза ( $p < 0,001$  и  $p = 0,06$ ), что практически не отразилось на соотношении SH/SS. В бедренной кости уровень SH-групп увеличивался втрое ( $p < 0,001$ ). Известно, что высокая концентрация сульфгидрильных соединений, которые находятся в клетке в связанном с белками состоянии, важна для поддержания буферной окислительно-восстановительной системы, антиоксидантной активности, модуляции специфической активности некоторых белков [15].

В слизистой оболочке полости рта и кости альвеолярного отростка наблюдалось существенное снижение содержания сульфгидрильных групп: на 66% ( $p = 0,004$ ) и на 76% ( $p = 0,04$ ), соответственно, вероятно, за счет усиления окислительных процессов. При этом уровень дисульфидных соединений достоверно не изменялся. Соотношение SH/SS групп значительно снижалось только в мягких тканях пародонта (табл.4).

**Состояние тиол-дисульфидной системы в тканях крыс в условиях моделирования пародонтита ( $M \pm m$ ;  $p$ )**

Группы животных	Содержание		
	SH – групп (ммоль/г)	SS – групп (ммоль/г)	SH / SS
	печень		
Интактная	8,37±0,64	3,07±0,74	2,73
Модель пародонтита	16,3±0,53 $p < 0,001$	5,83±1,08 $p = 0,06$	2,80
	СОПР		
Интактная	6,25±0,53	5,04±1,06	1,24
Модель пародонтита	4,13±0,32 $p = 0,004$	4,77±0,32	0,87
	кость альвеолярного отростка		
Интактная	3,34±0,21	9,33±2,12	0,36
Модель пародонтита	2,54±0,24 $p = 0,04$	8,27±0,53	0,31
	бедренная кость		
Интактная	2,81±0,53	5,25±0,53	0,54
Модель пародонтита	8,89±1,06 $p < 0,001$	10,1±3,18	0,88

В дальнейших исследованиях была изучена прочность коллагеновых волокон сухожилий хвоста крыс, исходя из относительной общности их строения. Так, известно, что коллагеновые волокна пародонта, межпозвоночных дисков и сухожилий состоят преимущественно из коллагена I типа (95%) и в меньшей степени из коллагена III типа (5%) [15]. Исследования показали, что у интактных животных прочность средних волокон сухожилий хвоста составила 565 г, а у животных с моделью пародонтита она существенно снижалась и достигала 391 г ( $p = 0,038$ ).

**Выводы и предложения.**

Использование антагониста витамина К пелентана и воспроизведение кальциевой недостаточности с помощью комплексона ЭДТА в условиях моделирования экспериментального пародонтита способствовало усилению выраженной резорбции кости альвеолярного отростка крыс. Однако эти изменения в значительной мере не были связаны с усилением перекисных процессов, поскольку в костной ткани пародонта не наблюдалась существенная активация ПОЛ. Антагонист витамина К пелентан вызывал разобщение упорядоченных соединительнотканых структур пародонта путем угнетения синтеза гликозаминогликановой матрицы коллагена и эластина. Кроме того, пелентан снижал синтез основного неколлагенового белка костной ткани пародонта – остеокальцина, связывающего ионы  $Ca^{2+}$  с помощью остатков  $\gamma$ -карбоксиглутаминовой кислоты.

К негативным последствиям моделирования экспериментального пародонтита следует отнести недостаточное функционирование в тканях пародонта ферментов обмена глутатиона, а также значительное снижение уровня сульфгидрильных

соединений в результате их окислительной модификации.

В результате проведенных исследований была смоделирована полноценная картина пародонтита, воспроизводящая нарушения обменных процессов, характерных для данного заболевания.

**Литература**

1. Слущкий Л.И. Биохимия нормальной и патологически измененной соединительной ткани / Слущкий Л.И. – Л. : Наука. – 1969.
2. Серов В. В. Соединительная ткань / В. В. Серов, А. Б. Шехтер. – М.: Медицина. – 1981. – 312 с.
3. Сокольников А. А. Функциональная роль витамина К / А. А. Сокольников, В. М. Коденцова // Вопросы мед. химии – 1999. – Т.45. – с. 453-461.
4. Шараев П. Н. Роль витамина К в обмене биополимеров соединительной ткани // Вопросы мед. химии – 1984. – №1. – с.13-17.
5. Николаева А.В. Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей при раздражении верхнего шейного симпатического узла: Автореф. дис. канд. мед. наук / А. Николаева – Харьков. – 1967. – 29с.
6. Методы диагностики метаболических нарушений при атеросклерозе и дифференцированное изменение противосклеротических средств. / под ред. О. Н. Воскресенского // Метод. рекомендации. – Полтава. – 1982. – 27 с.
7. Стальная И.Д. Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных высших жирных кислот / И. Стальная, Т. Гаришвили // Современные методы биохимии / Под ред. В.Н. Ореховича. – М. – 1977. – С.63-64.

8. Владимиров Ю.А. , Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука. – 1972. – 230 с.

9. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М. Королюк., Д. Иванова, И. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.

10. Путилина Е. Ф. Определение активности глутатион-редуктазы / Е. Путилина // Методы биохимических исследований. – М.: Ин. Лит. – 1982. – С.181-183.

11. А.С.922637 СССР. МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. Пахомова, Н. Козлянина, Г. Крюкова. – Оpubл. 25.04.82, Бюл. №15. – 2 с.

12. Вережкина И.В. Колориметрический метод определения SH-групп и SS-связей в белках при помощи 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной

кислоты)ДТНБК / И. В. Вережкина, Л. Г. Точилкина, И. А. Попова // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина. – 1977.- С. 223-231.

13. Никитин В. Н. Возрастная и эволюционная биохимия коллагеновых структур / В. Н. Никитин, Е. Э. Перский, Л. А. Утевская – К. Наукова думка, 1977. – 279 с.

14. Гублер Е. В. Применение критериев непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях / Е. В. Гублер, А. А. Генкин – М. : Медицина, 1969. – 31с.

15. Соколовский В. В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие (обзор) / В. В. Соколовский // Вопросы мед. химии. – 1988. – Т. XXXIV. - №6. – С. 2-11.

УДК 616.127:615. 322:612.273.2

**Мамадалиева Нодира Исаковна,**

*доктор философии PhD*

*Ташкентский государственный педагогический университет*

**Саатов Тальят Саатович,**

*академик АН РУз*

*Институт Биофизики и биохимии*

**Обидова Дильдора Дилшодбековна**

*Студентка 1-года магистратуры*

*по специальности*

*«Терапия»*

*Ташкентский педиатрический*

*медицинский институт*

## МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЛИПИДОВ В МИОКАРДЕ В УСЛОВИЯХ ГИПОКСИИ.

## MECHANISMS OF VIOLATION OF LIPID METABOLISM IN MYOCARDIUM UNDER CONDITIONS OF HYPOXIA.

**Summary.** In this article, hypoxia is given as the most universal pathological condition. It arises and determines the severity of the most diverse human diseases: any form of respiratory and cardiovascular failure, blood loss, myocardial ischemia.

**Аннотация.** В данной статье приводятся что гипоксия – представляет собой наиболее универсальное патологическое состояние. Она возникает и определяет тяжесть течения самых разнообразных заболеваний человека: любые формы дыхательной и сердечно-сосудистой недостаточности, кровопотери, ишемия миокарда.

**Key words:** *hypoxia, phospholipases, phospholipids, acidosis, oxidative stress, lipid peroxidation (LPO), liposomes.*

**Ключевые слова:** гипоксия, фосфолипаз, фосфолипидов, ацидоза, окислительного стресса, перекисного окисления липидов (ПОЛ), липосом.

**Введение.** Гипоксия кислородное голодание, является неотъемлемой частью жизни человеческой популяции во всем мире. Большинство известных болезней и экстремальных состояний прямо или косвенно связаны с дефицитом кислорода. Патогенетическая универсальность кислородной недостаточности включает вопросы гипоксических нарушений в сфере интересов широкого круга специалистов

экспериментальной и клинической медицины: пульмонологов, неврологов, реаниматологов, трансплантологов, кардиологов и другие. Независимо от этиологии гипоксических состояний сердца в их развитии и исходе решающая роль принадлежит степени насыщения тканей кислородом и его участию в метаболических процессах. [1; с. 363–364, 2; с.187-206]