

УДК 516.314.18+16.311+616-092.9+546.15+616.379-008.64

Гуранич С. П., Воронич-Семченко Н. М., Гуранич Т. В.

## ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНИЙ СТАТУС ПУЛЬПИ ЗУБІВ ТА СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ЩУРІВ ІЗ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЙОДОДЕФІЦИТОМ ТА ІНСУЛІНОРЕЗИСТЕНТНІСТЮ

ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет»

guranichtanja@ukr.net

Відомо, що у патогенезі захворювань пародонта ключове місце посідає оксидативний стрес. Порушення функції щитоподібної залози та інсуліно-резистентність здатні потенціювати запально-дегенеративні процеси тканин пародонта. Тому метою дослідження було вивчення прооксидантно-антиоксидантного статусу пульпи зубів та слизової оболонки ротової порожнини щурів із йододефіцитом та інсулінорезистентністю. У результаті дослідження встановлено, що за даних експериментальних умов відмічається активація перекисного окиснення біосубстратів із одночасним виснаженням антиоксидантних резервів. У тварин із інсулінорезистентності дані зміни були більше вираженими, що може бути наслідком негативного впливу надлишку глюкози на перебіг метаболічних процесів у досліджуваних тканинах.

**Ключові слова:** пероксидація; йододефіцит; інсулінорезистентність; пульпа зуба; слизова оболонка ротової порожнини.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дослідження проведені в рамках НДР «Метаболічні основи впливу есенціальних мікроелементів на забезпечення структурного і функціонального гомеостазу щитоподібної залози», № держ. реєстрації ОІІІУ000871.

**Вступ.** У патогенезі захворювань пародонта ключове місце посідає зміна процесів мікроциркуляції, клітинного дихання, імунологічного статусу клітин, порушення обмінних процесів у них. Відповідно до сучасних уявлень, у ролі неспецифічної ланки розвитку таких порушень виступає саме оксидативний стрес. На сьогоднішній день доведено, що перекисному окисненню піддаються не тільки ліпіди, а насамперед, білки плазматичних мембран. Загалом негативний ефект продуктів пероксидації у клітинах пов'язаний із тим, що окиснені білки та ліпіди є джерелом вільних радикалів, які виснажують запаси клітинних антиоксидантів [2]. Це зумовлено високою біологічною активністю сполук, що утворюються, а також комплексом систем-

них перебудов метаболізму, змінами характеру міжклітинних та міжсистемних взаємодій, які вони регулюють.

Із даних літератури відомо, що гіпотиреоїдна дисфункція потенціює запальні та дегенеративні процеси тканин пародонта [6]. З іншого боку, у пацієнтів із парадонтитом відзначається тенденція до зниження функціональної здатності щитоподібної залози. Не менш суттєвих змін зазнають тканини пародонта за умов інсулінорезистентності (ІР). Оксидативний стрес за таких умов виникає в результаті аутоокиснення глюкози, неферментативного глікозилювання, послаблення антиоксидантного захисту (АОЗ) та посиленого потоку електронів через дихальний ланцюг унаслідок підвищеного внутрішньоклітинного метаболізму глюкози. На сьогодні його розглядають як універсальний механізм, що об'єднує основні біохімічні шляхи токсичного впливу гіперглікемії [5].

**Мета дослідження.** Вивчити в експерименті прооксидантно-антиоксидантний статус пульпи зубів та слизової оболонки ротової порожнини (СОРП) щурів із йододефіцитом (ЙД) та ІР.

**Матеріали та методи дослідження.** Дослідження проведені на 60 щурах-самцях масою 150–180 г, які були розділені на дві дослідні групи. Щурам 1-ї дослідної групи (n=30) моделювали стан ЙД, для досягнення якого тварин утримували на йододефіцитній дієті протягом 45-ти днів [1]. Щурам 2-ї дослідної групи (n=30) відтворювали ІР шляхом додавання до питної води 10 % розчину фруктози протягом 8-ми тижнів [7]. Евтаназію тварин здійснювали шляхом декапітації під кетаміновим знечуленням (100 мг/кг маси тіла). Процеси пероксидації у пульпі зубів та СОРП оцінювали за рівнем дієнових кон'югатів – ДК, активних продуктів, які реагують на тіобарбітурову кислоту – ТБК-АП [5] та окисних модифікацій білків – ОМБ [4]. АОЗ характеризували за активністю каталази (К), церулоплазміну (Цп), супероксиддисмутизи (СОД), глутатіонпероксидази (ГП) та глутатіонредуктази (ГР) та насиченістю трансферину залізом (НТр)

сироватки крові [3]. Для порівняння аналогічні показники визначали у 30 інтактних тварин (контрольна група), яких утримували в умовах стандартного харчового раціону, звичайного температурного та світлового режиму віварію.

Усі досліди проводили у відповідності до законодавства України [Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження» / Відомості Верховної Ради України. – 2006. – № 27. – с. 230], правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.].

Кількісні результати дослідження аналізували за допомогою пакету математичних програм StatisticSoft 7,0 з використанням t-критерію Стьюдента. Статистично достовірною вважали різницю при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.**

У тварин із ЙД спостерігали переважну активацію процесів перекисної деструкції ліпідів. Так, у гомогенаті пульпи щурів 1-ї дослідної групи відмічали зростання вмісту ДК у два рази ( $p < 0,05$ ), ТБК-АП – на 78,9 % ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з аналогічними показниками тварин контрольної групи. Більш вираженими були зміни у гомогенаті СОРП. Зокрема, вміст ДК зріс у вісім разів ( $p < 0,05$ ), а ТБК-АП – на 70,7 % ( $p < 0,05$ ) щодо вихідних даних. Натомість, перекисне окиснення білків (ПОБ) зазнало вірогідних змін лише у гомогенаті пульпи зубів. Так, вміст більшості фракцій ОМБ збільшився у 2,0–2,8 рази ( $p < 0,02$ ) щодо аналогічних показників інтактних тварин. Такі результати можуть характеризувати акумуляцію вільних радикалів у пульпі зубів як наслідок уповільнення їх утилізації за умов ЙД (табл. 1).

Зміни процесів пероксидації ліпідів у тварин із ІР були різнонаправленими. Зокрема, у гомогенаті пульпи зубів щурів 2-ї дослідної групи відмічали зростання вмісту ТБК-АП на 86,8 % ( $p < 0,001$ ) щодо вихідних показників. Аналогічна тенденція спостерігалася у гомогенаті СОРП, де вміст ДК та ТБК-АП зріс у 15,4 рази ( $p < 0,001$ ) та 2,4 рази ( $p < 0,001$ ) щодо аналогічних

**Таблиця 1** – Зміни вмісту дієнових кон'югатів (ДК) та ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) у пульпі зубів і слизовій оболонці ротової порожнини (СОРП) щурів із йододефіцитом (ЙД) та інсулінорезистентністю (ІР) ( $M \pm m$ )

Група тварин	ДК, ум.од.	
	Пульпа зубів	СОРП
Інтактні тварини (n=30)	0,07±0,005	0,04±0,01
1-ша дослідна група (ЙД, n=30)	0,14±0,001 <sup>##</sup>	0,32±0,12*
2-га дослідна група (ІР, n=30)	0,03±0,002 <sup>##</sup> $p_{1-2} < 0,001$	0,62±0,02 <sup>##</sup> $p_{1-2} < 0,05$
	ТБК-АП, нмоль/мл	
Інтактні тварини (n=30)	0,38±0,03	0,99±0,14
1-ша дослідна група (ЙД, n=30)	0,68±0,05 <sup>##</sup>	1,69±0,24*
2-га дослідна група (ІР, n=30)	0,71±0,02 <sup>##</sup>	2,38±0,18 <sup>##</sup> $p_{1-2} < 0,05$

**Примітки:** \* $p < 0,05$ ; <sup>##</sup> $p < 0,001$  щодо даних аналогічних показників у інтактних тварин; р із арабськими цифрами – достовірні різниця між показниками відповідних дослідних груп.

показників інтактних тварин. Така динаміка вказує на переважне накопичення у досліджуваних тканинах кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ). Активація ПОБ була співнапрямленою. Так, у гомогенатах пульпи зубів і СОРП спостерігали зростання більшості фракцій ОМБ у 4,0–7,3 рази ( $p < 0,05$ ) щодо контрольних даних. Отримані результати дають можливість припустити, що надмірна кількість глюкози, яка накопичується за умов ІР посилює агресивну дію вільних радикалів як на ліпідний, так і на білковий компонент клітинної мембрани (табл. 2).

При проведенні порівняльного аналізу процесів ПОЛ у тварин 1-ї та 2-ї дослідних груп встановлено

**Таблиця 2** – Окиснювальна модифікація білків (опт.од./г білка) у пульпі зубів і слизовій оболонці ротової порожнини (СОРП) щурів із йододефіцитом (ЙД) та інсулінорезистентністю (ІР) ( $M \pm m$ )

	E <sub>356</sub> , нм	E <sub>370</sub> , нм	E <sub>430</sub> , нм	E <sub>530</sub> , нм
	ОМБ, пульпа зубів			
Інтактні тварини (n=30)	0,1±0,009	0,08±0,04	0,08±0,008	–
1-ша дослідна група (ЙД, n=30)	0,20±0,004 <sup>##</sup>	0,22±0,003 <sup>#</sup>	0,17±0,002 <sup>##</sup>	0,15±0,005
2-га дослідна група (ІР, n=30)	0,59±0,16* $p_{1-2} < 0,05$	0,58±0,15 <sup>#</sup> $p_{1-2} < 0,05$	0,26±0,06* $p_{1-2} < 0,05$	0,04±0,01 $p_{1-2} < 0,001$
	ОМБ, СОРП			
Інтактні тварини (n=30)	0,13±0,012	0,14±0,011	0,09±0,01	0,007±0,003
1-ша дослідна група (ЙД, n=30)	0,14±0,04	0,16±0,04	0,12±0,05	0,01±0,002
2-га дослідна група (ІР, n=30)	0,80±0,24* $p_{1-2} < 0,05$	0,82±0,21 <sup>#</sup> $p_{1-2} < 0,01$	0,36±0,08* $p_{1-2} < 0,05$	0,03±0,009*

**Примітки:** \* $p < 0,05$ ; <sup>#</sup> $p < 0,02$ ; <sup>##</sup> $p < 0,001$  щодо даних аналогічних показників у інтактних тварин; р із арабськими цифрами – достовірні різниця між показниками відповідних дослідних груп.

активацію ліпопероксидації у тварин із ІР, на що вказує зростання вмісту ДК та ТБК-АП відповідно на 93,8 % ( $p_{1-2}<0,05$ ) та на 40,8 % ( $p_{1-2}<0,05$ ) у порівнянні з аналогічними показниками щурів із ЙД. Натомість, у гомогенаті пульпи зубів щурів 2-ї дослідної групи відмічали зменшення вмісту ДК на 78,6 % ( $p_{1-2}<0,001$ ) у порівнянні з аналогічними показниками щурів 1-ї дослідної групи. Варто зазначити, що ПОБ зазнало маніфестації в усіх досліджуваних тканинах. Так, у гомогенатах пульпи зубів і СОРП спостерігали зростання більшості фракцій ОМБ у 2,6–5,7 раза ( $p_{1-2}<0,05$ ) у порівнянні з аналогічними показниками тварин із ЙД.

Активність пероксидації супроводжувалася перерозподілом активності ферментів АОЗ. Зокрема, у щурів 1-ї дослідної групи відмічали зниження активності ГП та ГР – на 42,1 % ( $p<0,05$ ) та на 76,5 % ( $p<0,05$ ) відповідно щодо вихідних показників, що вказує на виснаження антиоксидантних резервів за умов ЙД. Натомість, у тварин із ІР спостерігали різнонапрямлені зміни системи протирадикального захисту. Так, активність К була меншою на 66,7 % ( $p<0,05$ ) із одночасним зростанням активності ГП

на 63,2% ( $p<0,05$ ) у порівнянні з аналогічними показниками щурів контрольної групи. У той же час, спостерігали зростання активності ГП та ГР у 3,9 раза ( $p_{1-2}<0,01$ ) та у 6,3 раза ( $p_{1-2}<0,01$ ) у тварин із ІР щодо відповідних показників щурів 1-ї дослідної групи (табл. 3).

**Висновок і перспективи подальших досліджень.** За умов ЙД у гомогенатах пульпи зубів і СОРП спостерігається активація процесів перекисного окиснення ліпідів на тлі зниження активності ферментів АОЗ. Моделювання ІР супроводжується більш інтенсивними змінами киснезалежних процесів у досліджуваних тканинах із одночасною інтенсифікацією вільнорадикальної деструкції не лише ліпідів, а й білків. Вважають, що окиснення протеїнів є більш надійним маркером оксиген-залежних пошкоджень тканин, оскільки ОМБ більш стабільні, порівняно з продуктами ліпопероксидації. Активність ферментів глутатіонової системи у тварин із ІР може бути результатом мобілізації антиоксидантів, що спрямована на нейтралізацію надмірної кількості вільних радикалів, що і стане метою подальших досліджень.

**Таблиця 3** – Зміни активності антиокиснювальних ензимів сироватки крові у щурів із йододефіцитом (ЙД) та інсулінорезистентністю (ІР) ( $M\pm m$ )

Група тварин	Каталаза, мг H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / мл	Супероксид-дисмутаза, МО на 1 мг Hb	Глутатіонпероксидаза, мкмоль / 1мг Б	Глутатіонредуктаза, нмоль/хв. мг Б	Церулоплазмін, ум. од.	Насиченість трансферину залізом, ум. од.
Інтактні тварини (n=30)	10,85±1,78	35,50±6,99	0,19±0,03	0,17±0,05	56,49±21,43	0,41±0,08
1-ша дослідна група (ЙД, n=30)	9,27±3,34	32,00±1,41	0,08±0,03*	0,04±0,02*	42,96±14,79	0,42±0,06
2-га дослідна група (ІР, n=30)	3,61±2,60*	28,00±1,00 $p_{1-2}<0,05$	0,31±0,04* $p_{1-2}<0,01$	0,25±0,05 $p_{1-2}<0,01$	37,71±1,60	0,37±0,01

**Примітки:** \* $p<0,05$  щодо даних аналогічних показників у інтактних тварин;  
р із арабськими цифрами – достовірна різниця між показниками відповідних дослідних груп.

### Література

1. Воронич-Семченко Н. М. Зміни процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та білків, антиоксидантного захисту у щурів із гіпофункцією щитоподібної залози на тлі дефіциту йоду та міді / Н. М. Воронич-Семченко, Т. В. Гуранич // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т. 60, № 4. – С. 30–39.
2. Вохминцева Л. В. Функциональная активность нейтрофилов у крыс с воспалительным процессом в пародонте на фоне пониженной функции щитовидной железы / Л. В. Вохминцева, С. С. Рымарь, Н. Н. Маянская // Стоматология. – 2009. – № 2. – С. 4–7.
3. Гнатуш А. Р. Антиоксидантный эффект природных полифенольных комплексов винограда у сітківці ока щурів зі цукровим діабетом індукованим стрептозотоцином / А. Р. Гнатуш, В. Р. Дрель, А. Я. Яланецький [та ін.] // Біологічні студії. – 2011. – Т. 5, № 1. – С. 61–72.
4. Дубинина Е. Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток: (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические процессы / Е. Е. Дубинина. Спб. : «Мед. Пресса», 2006. – 397 с.
5. Соколюк Т. В. Дослідження впливу діакамфу на оксидативний стрес за умов експериментального цукрового діабету та метаболічного синдрому / Т. В. Соколюк, Н. І. Горбенко, С. І. Мерзлікін // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2009. – Т. 4, № 2. – С. 105–109.
6. Хороз Л. М. Кисневозалежний метаболізм слизової оболонки альвеолярного відростка в патогенезі захворювань пародонту при гіпофункції щитоподібної залози / Л. М. Хороз, І. М. Лукович // AML. – 2009. – № XV. – С. 17–20.

7. Шупрович А. А. Порухення обміну сечової кислоти у щурів з експериментальним інсулінорезистентним синдромом, індукованим фруктозою / А. А. Шупрович, Н. М. Гурина, О. В. Корпачева-Зінич // Фізіологічний журнал. – 2011. – Т. 57, № 1. – С. 72–81.

### References

1. Voronych-Semchenko NM, Guranych TV. Changes of processes of free radical oxidation of lipids and proteins, antioxidant defense in rats with hypofunction of thyroid gland on the background of iodine and copper deficit. *Physiological journal*. 2014;60(4):30–9.
2. Vokhminceva LV, SS Rymar, Maianskaia NN. Functional activity of neutrophils in rats with inflammatory process in periodontal on the background of hypofunction of thyroid gland. *Stomatology*. 2009;2:4–7.
3. Gnatush AR, Drel VR, Ialanecky AI, Mizin VI, Zagoruyko VA, Gerzhukova VG, et al. Antioxidant effect of natural phenolic complexes of grapes in the retina of rats with diabetes, induced by streptozotocin. *Biological studio*. 2011;5(1):61–72.
4. Dubinina EE. Products of oxygen metabolism in the functional activity of cells: (life and death, creation and destruction). *Physiological, clinical and biochemical processes*. St. Petersburg, Russia: Medical Press; 2006. 397 p.
5. Sokoliuk TV, Gorbenko NI, Merzlikin SI. The influence of diacamp on oxidative stress under the experimental diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Ukrainian journal of clinical and laboratory medicine*. 2009;4(20):105–9.
6. Skoroz LM, Lukovych IM. Oxygen dependent metabolism of alveolar bone process in the pathogenesis of periodontal disease in case of hypofunction of thyroid gland. *AML*. 2009;XV:17–20.
7. Shuprovych AA, Gurina NM, Korpachova-Zinych OV. Violation of uric acid metabolism in rats with experimental insulin resistant syndrome induced by fructose. *Physiological journal*. 2011;57(1):72–81.

УДК 516.314.18+16.311+616-092.9+546.15+616.379-008.64

### ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНЫЙ СТАТУС ПУЛЬПЫ ЗУБОВ И СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РОТОВОЙ ПОЛОСТИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ЙОДОДЕФИЦИТОМ И ИНСУЛИНОРЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ

Гуранич С. П., Воронич-Семченко Н. Н., Гуранич Т. В.

**Резюме.** Известно, что в патогенезе заболеваний пародонта ключевое место занимает оксидативный стресс. Нарушение функции щитовидной железы и инсулинорезистентность способны усиливать воспалительно-дегенеративные процессы тканей пародонта. Поэтому целью исследования было изучение прооксидантно-антиоксидантного статуса пульпы зубов и слизистой оболочки ротовой полости крыс с йододефицитом и инсулинорезистентностью. В результате исследования установлено, что при данных экспериментальных условиях отмечается активация перекисного окисления биосубстратов с одновременным истощением антиоксидантных резервов. У животных с инсулинорезистентностью данные изменения были более выраженными, что может быть следствием негативного влияния избытка глюкозы на течение метаболических процессов в исследуемых тканях.

**Ключевые слова:** пероксидация; йододефицит; инсулинорезистентность; пульпа зуба; слизистая оболочка ротовой полости.

UDC 516.314.18+16.311+616-092.9+546.15+616.379-008.64

### PROOXIDANT-ANTIOXIDANT STATUS OF DENTAL PULP AND LINING OF ORAL CAVITY OF RATS WITH EXPERIMENTAL IODINE DEFICIENCY AND INSULINE RESISTANCE

Huranych S. P., Voronych-Semchenko N. N., Huranych T. V.

**Abstract.** The changes of microcirculation processes, cellular respiration, cell immune status, and metabolic disorders occupy a key place in the pathogenesis of periodontal diseases. According to the modern concepts, oxidative stress plays the main role in the non-specific link of such violations. It is proved that peroxidation affects not only on lipids, but primarily on plasma membrane proteins. It is known that thyroid dysfunction potentiates the inflammatory and degenerative processes of periodontal tissues. Not less changes appeared in the periodontal tissues under the conditions of insulin resistance (IR). Thus, oxidative stress in this case is the result of auto oxidation of glucose, non-enzymatic glycosylation, weakening of antioxidant protection due to increased intracellular glucose metabolism. That's why the aim of the research was to examine the prooxidant-antioxidant status of the dental pulp and lining of oral cavity in rats with iodine deficiency (ID) and IR.

60 male rats were involved in the study with body weight 150–180 g, and they were divided into two research groups for 30 animals in each. In rats of 1<sup>st</sup> research group ID was modeled, by keeping them on ID diet during 45 days. In the animals of 2<sup>nd</sup> research group the state of IR was modeled, by adding to drinking water of rats 10% solution of fructose during 8 weeks. For comparison, the corresponding parameters were determined in 30 intact animals (control group). The state of free lipid accumulation was assessed from the accumulation of

conjugated dienes (DC) of polyunsaturated fatty acids and products that respond to thiobarbituric acid (TBA-RP) in dental pulp and lining of oral cavity. The level of peroxidation of proteins (POP) was determined from the number of products of their oxidative modifications (OMP) using spectrophotometry. The level of antioxidant defense system was assessed from the activities of catalase (C), superoxide dismutase, glutathione peroxidase (GP), glutathione reductase (GR), ceruloplasmin, and transferrin saturation by the blood serum iron.

In animals with ID the mainly activation of lipid peroxidation was observed. So, in dental pulp and lining of oral cavity homogenates the increasing of DC in two times and in eight times, TBA-RP on 78.9% and on 70.7% respectively in comparison to control indices were noticed. Instead of it, free radical oxidation of proteins was intensified only in dental pulp (contents of OMP was in 2.0–2.8 times bigger than analogical indices of intact animals). Oxidative changes in rats with IR were more significant. The contents of lipid peroxide products in examined tissues had become in 2.4–15.4 times bigger than control data. The same tendency was found in POP. So, contents of OMP in dental pulp and lining of oral cavity, homogenates in 4.0–7.3 times were higher than control data. During the comparison of peroxide processes between animals of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> research groups the increase of lipid and protein peroxide products on 40.8–93.8 % and in 2.6–5.7 times bigger respectively was found than analogic indexes in rats with ID. Activation of peroxidation was followed by changes of antioxidant defense. In animals with ID the activity of GP and GR in blood serum was lower on 42.1 % and on 76.5 % respectively to initial indices. In the same time, IR had lead to the activation of enzymes of glutathione system. But the activity of C in rats of 2<sup>nd</sup> research group was lower on 66.7 % than control data. So, it should be concluded, that ID leads to the activation of lipid peroxidation in dental pulp and oral lining homogenates on the background of suppression the activity of antioxidant defense. Modeling of IR was followed by more severe changes of oxygen dependent processes with simultaneously intensification not only lipids, but also proteins.

**Keywords:** peroxidation; iodine deficiency; insulin resistance; dental pulp; lining of oral cavity.

Стаття надійшла 04.04.2017 р.

*Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування*