

УДК 616.314.17-002.2-092:616.017.1-076.4

© Колектив авторів, 2012.

ВПЛИВ ТІОТРИАЗОЛІНУ НА СТАН ПРО- ТА АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСУ У М'ЯКИХ ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ХРОНІЧНОГО СТРЕСУ

Г.В. Опанасенко, О.О. Гончар, С.Б. Французова, І.Н. Маньковська

Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України, відділ по вивченню гіпоксичних станів (зав. – проф. І.Н. Маньковська), м. Київ.

INFLUENCE OF THIOTRIAZOLIN ON PRO- AND ANTIOXIDANT BALANCE IN SOFT TISSUE OF PARODONTIUM UNDER CHRONIC STRESS

A.V. Opanasenko, O.A. Gonchar, S.B. Frantsuzova, I.N. Mankovska

SUMMARY

It was found that thiotriazolin use in case of chronic immobilization stress produces expressed stress protective effect preventing pathologic process development in parodontal tissues. Thiotriazolin improved the microcirculation, eliminating swelling and strengthening trophism in the parodontal tissues as a result of inhibition of lipid peroxidation and activation of antioxidant system.

ВЛИЯНИЕ ТИОТРИАЗОЛИНА НА ПРО- И АНТИОКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС В МЯКИХ ТКАНЯХ ПАРОДОНТА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ СТРЕССЕ

А.В. Опанасенко, О.А. Гончар, С.Б. Французова, И.Н. Маньковская

РЕЗЮМЕ

Установлено, что применение тиотриазолина при хроническом иммобилизационном стрессе оказывает выраженное антистрессорное действие, предупреждая развитие патологических процессов в пародонте. Тиотриазолин улучшал состояние микроциркуляции, устраняя отечность и усиливая трофику в тканях пародонта вследствие ингибирования ПОЛ и активации антиоксидантной системы.

Ключові слова: хронічний стрес, пародонт, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система.

Стрімкий розвиток науково-технічного прогресу на тлі погіршення екологічного становища викликає хронічне психоемоційне напруження у більшій кількості населення, і є фактором для виникнення різноманітних патологій. Пародонт – високочутлива рефлексогена зона, що знаходиться у тісному анатомічному та функціональному зв'язку з нервовими структурами, і яка швидко реагує на будь-який стресорний вплив [11]. Розвиток стрес-реакції призводить до мікроциркуляторних порушень, підвищенню вмісту глюкокортикоїдів у крові, та посилює вільнорадикальні процеси у клітинах, що сприяє пошкодженню тканин пародонта та уповільненню в них репараційних процесів [2, 9, 11]. Результати експериментальних і клінічних досліджень показали, що порушення про- та антиоксидантного балансу клітин відіграють велику роль у патогенезі стресорних змін пародонта [8, 9]. Це свідчить, що поряд з протизапальними та антибактеріальними засобами в комплексному лікуванні захворювань пародонта доцільно використовувати і антиоксиданти. Тому актуальним завданням залишається пошук нових стреспротекторів в ряду речовин з антиоксидантною активністю. У цьому плані особливий інтерес привертає вітчизняний препарат тіотриазолін, що відноситься до групи кардіопротекторних засобів метаболічного типу дії, і виявляє антиоксидантні, мембраностабілізуючі,

протиішемічні та протизапальні властивості [5]. Тіотриазолін широко застосовується для лікування ішемічних пошкоджень міокарду, різних патологічних станів печінки та мозку [4]. Однак відомості щодо використання цього препарату в стоматологічній практиці дуже обмежені. Метою нашої роботи було дослідження впливу тіотриазоліну на про- та антиоксидантний баланс у м'яких тканинах пародонта за умов дії хронічного стресу.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

Експерименти проведено на 30 щурах - самцях лінії Вістар масою 200-250г, які знаходилися на стандартній дієті. Тварини були розподілені на 3 групи (по 10 у кожній): 1 групу (контроль) склали тварини, які знаходилися у звичайних умовах; 2- тварини, які піддавались дії хронічного іммобілізаційного стресу. Щурів іммобілізували у пластикових пеналах з жорсткою фіксацією 6 годин щоденно протягом 14 днів; 3- тварини, які піддавались дії хронічного іммобілізаційного стресу з одночасним застосуванням тіотриазоліну. 2,5% розчин тіотриазоліну вводили внутрішньом'язово раз на добу в дозі 50 мг/кг маси тварин. Ефективність стресу контролювали за змінами маси надниркової залози і тімуса, а також за наявністю виразкових пошкоджень шлунку щурів. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом зразу після експерименту.

Експерименти виконували з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з рішенням Європейської конвенції.

З м'яких тканин пародонту виготовляли гомогенати на 0,025 М Тріс-буфері (рН 7,4; 1:9). Процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом активних продуктів 2-тіобарбітурової кислоти (ТБК-АП) [10], антиоксидантний захист – за активністю супероксиддисмутази (СОД) [14], каталази (КАТ) [3], глутатіонпероксидази (ГП) [7]. Концентрацію відновленого глутатіону (ВГ) вивчали у безбілкових

гомогенатах тканин за реакцією з 5,5-дитіо-біс-(2-нітробензойною) кислотою у присутності 0,3 мМ НАДФН та 2 У/мл глутатіонредуктази [13]. Вміст білка визначали за методом Лоурі. Отримані результати обробляли статистично, використовуючи критерій Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень показали, що 14-денна іммобілізація викликала у тварин характерний для стрес-реакції комплекс патологічних змін внутрішніх органів: гіпертрофію наднирників та інволюцію тімусу (Табл. 1).

Таблиця 1

Вплив тіотриазоліну на вираженість стресорних змін органів щурів в умовах хронічного іммобілізаційного стресу (M±m)

Група тварин	Вага органів,	мг
	тімус	наднирники
контроль	310, 1 ± 16,71	43,0 ± 1,15
стрес	187, 4 ± 11,32 *	55,6 ± 1,79 *
стрес + тіотриазолін	259, 8 ± 10,56 #	49,0 ± 1,50 #

Примітка: тут та далі : *- р<0,05 у порівнянні з контролем; #- р<0,05 у порівнянні зі стресом.

У кінці спостереження відзначалися ознаки катарального гінгівіту: набряк слизової впродовж всього пародонту, гіперемія ясен з яскраво вираженим судинним малюнком, візуально виявлявся зубний наліт. Кровоточивість ясен

спостерігалася при легкому зондуванні. Хронічний іммобілізаційний стрес супроводжувався підвищенням вмісту вторинних продуктів ПОЛ у тканинах пародонту на 21% у порівнянні з контролем (P<0,05) (Рис.1 А).

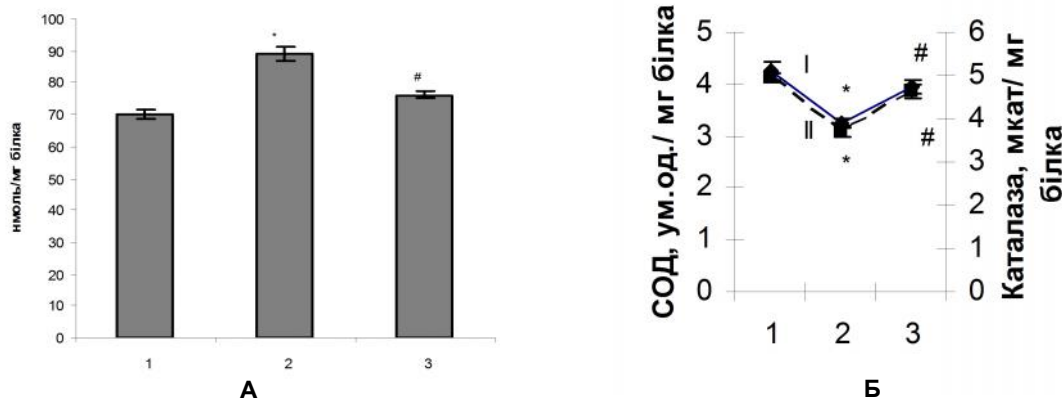


Рис.1. Вміст ТБК-АП (А) та активність ферментів СОД (I) і каталази (II) (Б) у м'яких тканинах пародонту за умов хронічного стресу та застосування тіотриазоліну: 1- контроль; 2- стрес; 3-стрес+тіотриазолін. Тут і на рис 2. *-р<0,05 у порівнянні з контролем; #- р<0,05 у порівнянні з групою »стрес«.

Аналогічну реакцію у ротовій рідині, крові та тканинах пародонту відмічає ряд авторів при гострому іммобілізаційному та емоційно-больовому стресі у людей та тварин [1, 8, 11]. Відомо, що активні форми кисню здатні запускати цілий каскад реакцій вільнорадикального окиснення, продукти якого мають токсичну дію на клітини та можуть бути одним

з патогенетичних факторів, що викликає деструкцію м'яких тканин пародонту [2]. Окрім того, сполучнотканинні структури, що складають субстрат пародонту, характеризуються високою чутливістю до надлишку вільних радикалів, оскільки значно гірше захищені антиоксидантними ферментами [9, 11]. Поряд з посиленням перекисних

процесів в тканинах пародонта, рядом авторів спостерігалось руйнування клітинних мембран, гальмування синтезу колагену, посилення резорбції костної тканини, розлади гемоциркуляції [9, 12]. Нами було показано, що за умов тривалої іммобілізації у

щурів відбувалося зниження активності важливих антиоксидантів, що складають першу лінію захисту від агресивних кисневих метаболітів, супероксиддисмутази та каталази (Рис. 1 Б).

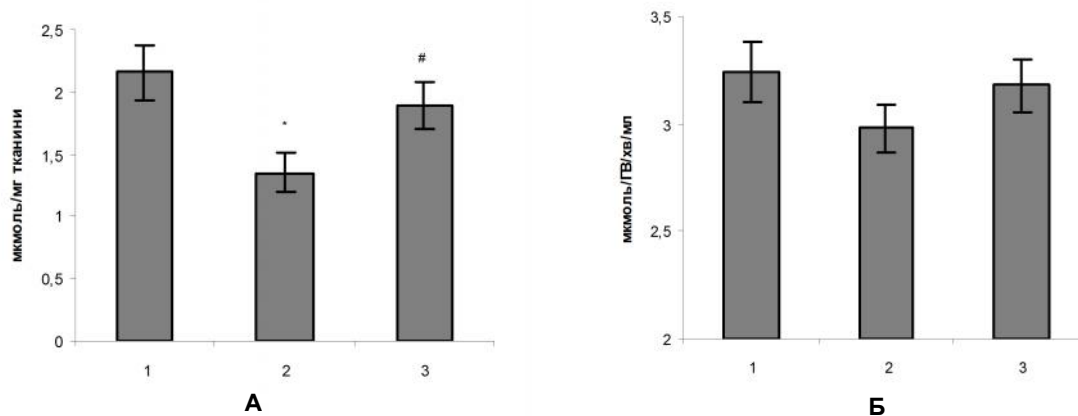


Рис.2. Вміст відновленого глутатіону (А) та активність глутатіонпероксидази (Б) у м'яких тканинах пародонта за умов хронічного стресу та застосування тіотриазоліну: 1- контроль; 2- стрес; 3- стрес+тіотриазолін.

Активність глутатіонпероксидази мала лише тенденцію до зниження, в той час як вміст відновленого глутатіону був значно нижчий, ніж у інтактних щурів (Рис. 2). Відомо, що зниження концентрації ВГ у тканинах за умов гострого стресу обумовлено активним залученням глутатіону в антирадикальні та антиперекисні реакції захисту. Оскільки редокс-стан глутатіону безпосередньо відображає зміни редокс-статусу клітини, то вважається, що тіол-дисульфідний обмін здатен впливати на формування компенсаторно-приспосувальних реакцій за дії надзвичайних чинників [6].

Курсове введення тіотриазоліну мало виражений антистресорний вплив, про що свідчить зменшення відносної маси наднирників, а також підвищення маси тімуса у порівнянні з контролем (Табл.1). У тварин 3 групи ознаки клінічного запалення ясен були виражені менше, ніж у щурів 2 групи; так спостерігалися незначні зміни у кольорі ясен, набряк слизової виявлявся тільки в області маргінального пародонту.

Застосування тіотриазоліну продовж дії хронічного стресу призводило до зниження інтенсивності вільнорадикальних процесів. Так, вміст ТБК-АП у пародонті був значно нижчий (на 15%, $P < 0,05$) на відміну від іммобілізованих тварин, що не мали фармацевтичної підтримки (Рис. 1 А). У цих тварин відмічалось зростання активності СОД на 25% ($P < 0,05$), каталази на 22% ($P < 0,05$) порівняно з щурами 2-ї групи. Вміст ВГ зростав на 40% ($P < 0,05$), в той час як активність ГП мала лише тенденцію до

росту (Рис. 2). У щурів 3 групи тіотриазолін покращував стан мікроциркуляції, усував набряк та посилював трофіку в тканинах пародонта внаслідок пригнічення ПОЛ та активації антиоксидантної системи. Попередні дослідження показали, що за дії різноманітних стресорних факторів тіотриазолін знижував інтенсивність анаеробного гліколізу, активував реакції циклу Кребса зі збереженням внутріклітинних резервів АТФ, антиоксидантну систему у тканинах печінки, серця, мозку [5], а також стабілізував та зменшував розміри зони некрозу та ішемії міокарда, покращував реологічні властивості крові за рахунок активації фібрinolітичної системи [4]. Таким чином, стрес-протекторна дія тіотриазоліну за умов хронічного іммобілізаційного стресу була обумовлена вираженими антиоксидантними властивостями цього препарату, а також, ймовірно, його впливом на енергетичний метаболізм тканин пародонта.

ЛІТЕРАТУРА

1. Акопов С.Э., Троманян Э.Н., Канкарян А.П., Ван Дорн, Саркисян М.А. Клинико-биохимическая характеристика заболеваний пародонта у лиц, находящихся в условиях перманентного стресса. // Стоматология.-1996.-75 (1).- С.30-32.
2. Барабой В.А. Роль перекисного окисления в механизме стресса. // Физиол.журн.- 1989-35(5).- С.85-109.
3. Королук М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Определение активности каталазы. // Лаб.дело.- 1988.-1.-С. 16-19.

4. Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И. С., Зименковский Б.С., Стец В.Р. Тиотриазолин: фармакологические аспекты и клиническое применение. Запорожье, 2005. -156 с.
5. Мазур И.А., Волошин Н.А., Чекман И. С., Беленичев І .Ф. Клиническое применение тиотриазолина в терапии// Сучасна гастроентерологія.- 2005.-6.-С. 77-81.
6. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процесов// Успехи современной биологии.- 1993.- 4 .-С.442-455.
7. Методы биохимических исследований./ Под ред.М.И.Прохоровой.Л.: Изд-во Ленингр.ун-та. 1982.-272 с.
8. Непорада К.С., Скрипник І.М., Тарасенко Л.М., Клуша В.Є. Залежність активації ПОЛ і ефективності його корекції глутапріоном при емоційному стресі від типологічних особливостей реагування організму// Мед.хімія.- 2002.-4 (2).- С.23-26.
9. Розова К.В., Гончар О.А., Подгаецкая О.Е., Маньковская И.Н. Реакция мягких тканей пародонта на острый иммобилизационный стресс// Вестник стоматологии.-2006.-2(52).-С. 15-18.
10. Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В сб. Современные методы в биохимии/ Под ред. В.Н.Ореховича. М.: Медицина, 1977.-С.66-68.
- 11.Тарасенко Л.М., Петрушанко Т.А. Стресс и пародонт. Полтава, 1999.- 192 с.
12. Тарасенко Л.М., Скрипник І.М., Непорада К.С. Ушкодження сполучнотканинних структур як провідний патогенетичний механізм стрес-синдрому/ /Мед.хим.-2002.-3(2).-С. 26-30.
13. Anderson M. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples // Methods Enzymol./ Ed. by A. Meister. – N.-Y.: Academic Press, 1985. – 113. – P. 548-551.
- 14.Misra H, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of Epinephrine and a simple assay superoxide dismutase// J. Biol. Chem.- 1972.- 247 (10).- p. 3170-3175.