



УДК 616.314.18-002.4:379-008.64

DOI

© **О. С. Беденюк, М. М. Корда**

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України  
e-mail: bedenyukos@tdmu.edu.ua

## **Застосування антиоксидної та iNOS модулюючої терапії при ліпополісахаридному пародонтиті на тлі атрофічного гастриту**

### ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції/Received:  
01.11.2019 р.

**Ключові слова:** пародонтит;  
атрофічний гастрит; лікопен;  
аміногуанідин.

### АНОТАЦІЯ

**Резюме.** Епідеміологічні дані свідчать про високу частоту запальних захворювань ротової порожнини в осіб з атрофічними змінами слизової оболонки шлунка. У патогенезі пародонтиту, викликаного ендотоксином грамнегативної мікрофлори ліпополісахаридом, важливу роль відіграють активація реакцій вільнорадикального окиснення і надмірна продукція оксиду азоту. Тому патогенетично обґрунтованим можна вважати використання при пародонтиті на тлі гастриту препаратів, які були б здатні запобігти оксидативному і нітрооксидативному стресу.

**Мета дослідження** – встановити лікувальну ефективність антиоксиданта лікопену і селективного інгібітора індукцибельної NO-синтази аміногуанідину при генералізованому ліпополісахаридному пародонтиті на тлі хронічного атрофічного гастриту.

**Матеріали і методи.** Для дослідів використали безпородних щурів-самців, яких поділили на 5 груп: перша – контрольна; друга – щури з ліпополісахаридним пародонтитом на тлі хронічного атрофічного гастриту; третя і четверта – тварини з пародонтитом і гастритом, яким відповідно вводили перорально лікопен або інтраперитонеально аміногуанідин; п'ята – щури з пародонтитом і гастритом, яким вводили разом лікопен і аміногуанідин. В сироватці крові й гомогенаті тканин пародонта визначали рівень ТБК-активних продуктів, відновленого глутатіону, загальну активність NO-синтази, рівень нітратів і нітритів (NOx), вміст вільного оксипроліну, глікозаміногліканів, сіалових кислот, рівень TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Застосування лікопену знижувало інтенсивність окиснювальних реакцій в 1,3 і 1,5 раза у сироватці крові й пародонті та підвищувало вміст відновленого глутатіону в 1,2 раза у сироватці тварин із пародонтитом на тлі гастриту. Активність NO-синтази в пародонті під впливом аміногуанідину знижувалася в 1,7 раза, а рівень NOx – у 1,2 і 1,3 раза в сироватці й пародонті. Під впливом антиоксиданта рівень вільного оксипроліну в сироватці тварин із поєднаною патологією знижувався в 1,4 раза, глікозаміногліканів – у 1,3 раза, сіалових кислот – на 34 %, а під впливом інгібітора iNOS – відповідно на 40; 23 і 37 %. При застосуванні лікопену концентрація ФНП- $\alpha$  та IL-1 $\beta$  зменшувалася в 1,4 і 1,5 раза, порівняно з нелікованими тваринами, а рівень IL-4 та IL-10 підвищувався в 1,7 і 1,9 раза. Аміногуанідин також достовірно поліпшував цитокіновий дисбаланс у щурів із пародонтитом і гастритом. Корекція пародонтиту на тлі гастриту комбінацією антиоксиданта та інгібітора iNOS у більшості ви-

падків виявилася ефективнішою, ніж їх окреме застосування.

**Висновки.** Застосування антиоксиданта лікопену та інгібітора iNOS аміногуанідину можна вважати ефективним патогенетично обґрунтованим методом корекції пародонтиту, асоційованого з атрофічним гастритом.

**Вступ.** Однією з найважливіших проблем у стоматології, що має не тільки медичне, але й соціальне значення, є запальні захворювання пародонта. Поширеність пародонтиту в різних країнах світу сягає 50–90 %, в Україні патологічні зміни в тканинах ясен виявляють приблизно у 80 % населення [1]. Важливим чинником, що визначає тяжкість перебігу і прогноз генералізованого пародонтиту, є наявність супутньої соматичної патології. Епідеміологічні дані свідчать про високу частоту запальних захворювань ротової порожнини в осіб із хворобами шлунково-кишкового тракту, зокрема у хворих з атрофічними змінами слизової оболонки шлунка. Серед пацієнтів із захворюваннями органів травлення патологічні зміни тканин пародонта зустрічаються більше ніж в 90 % випадків [2].

Відомо, що основним етіологічним чинником розвитку пародонтиту є грамнегативна мікрофлора. Важливу роль у патогенезі пародонтиту, викликаного ендотоксином грамнегативної мікрофлори ліпополісахаридом, відіграють активація реакцій вільнорадикального окиснення і надмірна продукція оксиду азоту, а супутній хронічний атрофічний гастрит суттєво посилює оксидативний і нітрооксидативний стрес у тварин з ліпополісахаридним пародонтитом [3]. Інтенсифікація окиснювальних процесів на тлі зниження активності фізіологічної антиоксидантної системи є загальною закономірністю при усіх типах запалення. Гіперпродукцію NO при дії ліпополісахариду на тлі хронічного гастриту, яку ми зафіксували в попередніх роботах, можна пояснити тим фактом, що з одного боку, сам бактеріальний ендотоксин та прозапальні фактори, утворення яких індукується під його впливом, а з іншого – медіатори запалення, які утворюються в стінці шлунка при її запальному ураженні, призводять до гіперекспресії індукцибельної форми NO-синтази, у тому числі й в пародонті [4]. Оксид азоту, що утворюється у великій кількості гіперекспресованою iNOS, будучи вільним радикалом, може стимулювати запально-деструктивні процеси в тканинах [5]. Тому патогенетично обґрунтованим мож-

на вважати використання при ліпополісахаридному пародонтиті на тлі атрофічного гастриту препаратів, які були б здатні ефективно гальмувати реакції гіперпероксидації і пригнічувати надмірну генерацію оксиду азоту.

**Метою дослідження** було встановити лікувальну ефективність антиоксиданта лікопену і селективного інгібітора індукцибельної NO-синтази аміногуанідину при генералізованому ліпополісахаридному пародонтиті на тлі хронічного атрофічного гастриту.

**Матеріали і методи.** Для дослідів використали 50 безпородних щурів-самців масою 160–180 г, яких утримували на стандартній дієті. Усіх тварин поділили на 5 груп: перша – контрольна (інтактні щури); друга – тварини, у яких викликали генералізований ліпополісахаридний пародонтит на тлі хронічного атрофічного гастриту. Хронічний гастрит викликали шляхом інтрагастрального введення протягом 6 тижнів 2 % саліцилату натрію. Питну воду щурам заміняли на 20 мМ деоксихолат натрію [6]. Починаючи з 43 доби, тваринам протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду *E. coli* (ЛПС) [7]; третя – щури з пародонтитом на тлі гастриту, яким, починаючи з 43-ї доби експерименту, щоденно протягом 14 днів паралельно з введенням ЛПС вводили перорально за допомогою зонда розчин лікопену в соняшниковій олії (0,5 мл) у дозі 100 мг/кг [8]; четверта – щури з пародонтитом на тлі гастриту, яким, починаючи з 43-ї доби експерименту, щоденно протягом 14-ти днів паралельно з введенням ЛПС вводили інтраперитонеально селективний інгібітор індукцибельної NO-синтази аміногуанідин («Sigma-Aldrich», США) у дозі 20 мг/кг [9]; п'ята – тварини з пародонтитом на тлі гастриту, яким, починаючи з 43-ї доби експерименту, щоденно протягом 14-ти днів паралельно з введенням ЛПС вводили лікопен і аміногуанідин за вищенаведеною схемою.

Розвиток атрофічного гастриту підтверджували у результатах гістологічних досліджень. Відбирали зразки кардіальної, фундальної та пілоричної частин шлунка, які обробляли за

стандартними методами. Зразки забарвлювали гематоксиліном та еозином.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим наркозом. Об'єктом дослідження слугували гомогенат тканин пародонта і сироватка крові. Сироватку отримували шляхом центрифугування крові при 600 г протягом 30 хв при 20 °С. Для отримання гомогенату висікали тканини ясен, з яких виготовляли гомогенат на трис-НСІ-буфері (рН=7,4) з розрахунку 100 мг тканини/мл. Після центрифугування гомогенату досліджували надосадову рідину.

У сироватці крові й гомогенаті тканин пародонта визначали рівень ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [10], відновленого глутатіону (GSH) [11], загальну активність NO-синтази [12], рівень нітратів і нітритів (NOx) [13], вміст вільного оксипроліну [14], глікозаміногліканів [15] і сіалових кислот [16]. Для визначення рівня цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10) в сироватці використовували імуоферментний аналіз. Експерименти проводили з використанням наборів реагентів «RayBio» виробництва «RayBiotech» (США) відповідно до протоколу виробника на аналізаторі «StatFax 303 Plus».

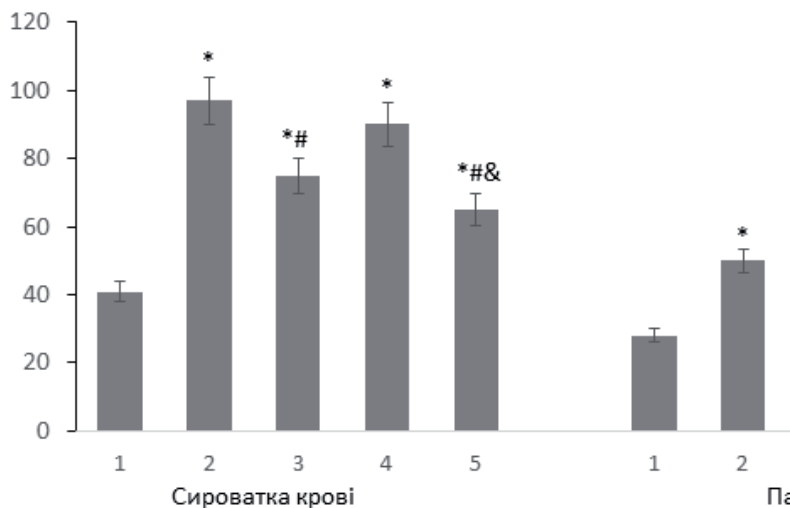
Результати виражали як середнє  $\pm$ SEM з 10 експериментів. Статистичний аналіз виконували, використовуючи стандартні статис-

тичні програми і t-критерій Стьюдента. Зміни  $p < 0,05$  розглядали як статистично достовірні [17].

#### Результати досліджень та їх обговорення.

На рисунку 1 показано вплив лікопену та аміногуанідину на вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові й тканинах ясен щурів з пародонтитом і атрофічним гастритом. Пероральне введення щурам антиоксиданта протягом двох тижнів викликало статистично достовірне зменшення активності ліпопероксидних процесів у сироватці крові (вміст ТБК-активних продуктів після введення препарату становив  $(75,16 \pm 5,08)$  мкмоль/л, а у нелікованих щурів –  $(97,25 \pm 5,20)$  мкмоль/л) і в тканинах пародонта (вміст ТБК-активних продуктів становив  $(3,50 \pm 0,22)$  мкмоль/кг тканини проти  $(5,15 \pm 0,21)$  мкмоль/кг тканини у нелікованих щурів). Тобто в результаті застосування антиоксидного препарату інтенсивність окиснювальних реакцій зменшилася в 1,3 і 1,5 раза відповідно в сироватці крові й пародонті тварин із генералізованим пародонтитом на тлі хронічного гастриту.

На відміну від лікопену, застосування аміногуанідину не призвело до достовірного пригнічення реакцій пероксидного окиснення ліпідів ані в сироватці крові, ані в тканинах пародонта щурів із поєднаною патологією.



**Рис. 1.** Вміст ТБК-активних продуктів у сироватці крові (мкмоль/л) і тканинах пародонта ( $\times 10^{-1}$  мкмоль/кг) щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену і аміногуанідину.

*Примітки:* 1) тут і на наступних рисунках: \* – зміни достовірні порівняно з показниками інтактних тварин; # – зміни достовірні порівняно з показниками тварин із пародонтитом на тлі гастриту; @ – зміни достовірні порівняно з показниками тварин з пародонтитом на тлі гастриту, лікованих лікопеном; & – зміни достовірні порівняно з показниками тварин із пародонтитом на тлі гастриту, лікованих аміногуанідином;

2) 1 – контрольні щури; 2 – тварини з пародонтитом на тлі гастриту; 3 – тварини з пародонтитом на тлі гастриту при застосуванні лікопену; 4 – тварини з пародонтитом на тлі гастриту при застосуванні аміногуанідину; 5 – тварини з пародонтитом на тлі гастриту при застосуванні лікопену і аміногуанідину.

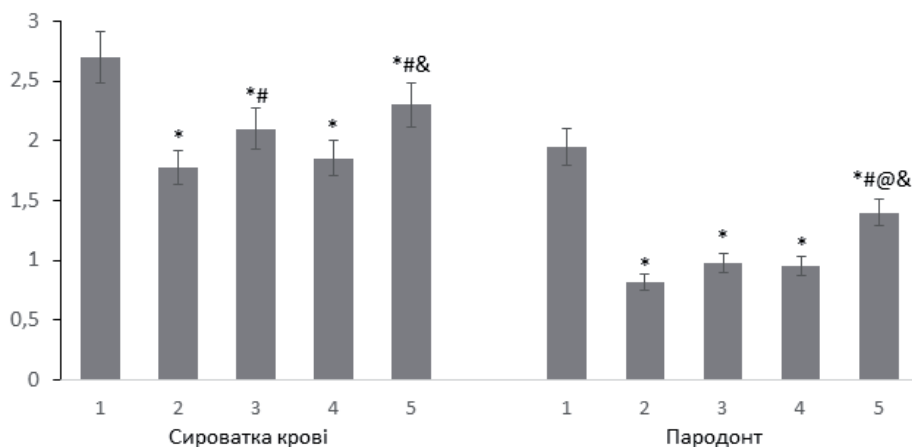
## Експериментальні дослідження

При поєднаному застосуванні антиоксиданта з інгібітором iNOS рівень ТБК-активних продуктів у сироватці крові тварин з пародонтитом і гастритом становив  $(65,05 \pm 4,25)$  мкмоль/л, що було в 1,5 раза менше, ніж в некоригованих щурів ( $p < 0,05$ ). У тканинах пародонта даний показник зменшився, порівняно з тваринами із поєднаною патологією, що не піддавалися корекції, в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ) і сягнув рівня  $(3,04 \pm 0,21)$  мкмоль/кг. Варто зазначити, що в тканинах пародонта швидкість вільнорадикальних реакцій після введення обох препаратів вже достовірно не відрізнялася від такої в контрольній групі.

Введення лікопену щурам з пародонтитом і гастритом призводило до підвищення вмісту

відновленого глутатіону в сироватці крові у 1,2 раза ( $p < 0,05$ ) (з  $(1,78 \pm 0,08)$  ммоль/л у нелікованих тварин до  $(2,10 \pm 0,18)$  ммоль/л у щурів, яким вводили препарат).

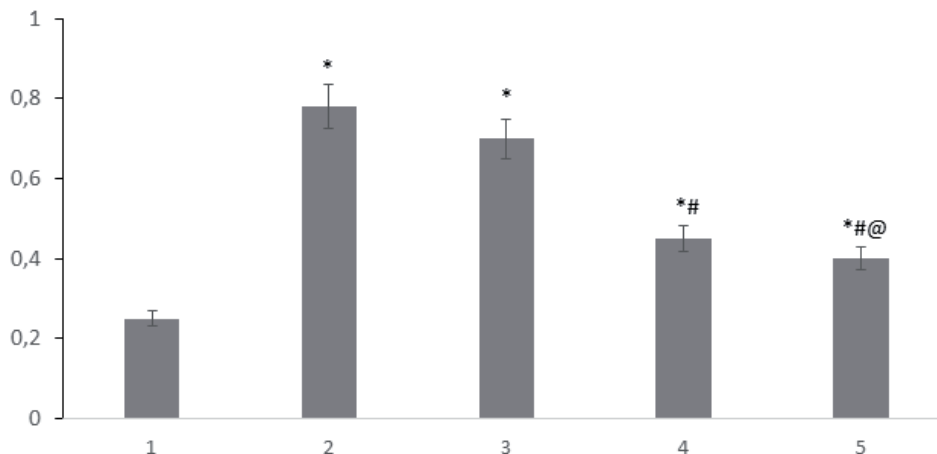
Корекція пародонтиту на тлі гастриту комбінацією антиоксиданта та інгібітора iNOS виявилася ефективнішою, ніж їх окреме застосування. Зокрема, у сироватці крові тварин п'ятої групи вміст відновленого глутатіону був достовірно (в 1,2 раза) вищим від відповідного показника у щурів, яких лікували тільки інгібітором iNOS, а в пародонті – у 1,4 раза більшим ( $p < 0,05$ ), ніж у тварин, яким вводили тільки лікопен, і в 1,5 раза вищим від відповідного показника у щурів, яким вводили тільки аміногуанідин (рис. 2).



**Рис. 2.** Вміст відновленого глутатіону в сироватці крові (ммоль/л) і тканинах пародонта ( $\times 10^2$  ммоль/кг) щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену й аміногуанідину.

З діаграм, наведених на рисунку 3, видно, що загальна активність NO-синтази під впливом аміногуанідину знижувалася в 1,7 раза (до  $(0,45 \pm 0,05)$  нмоль/мг білка·хв у тварин із комбінованою патологією, які не піддавалися

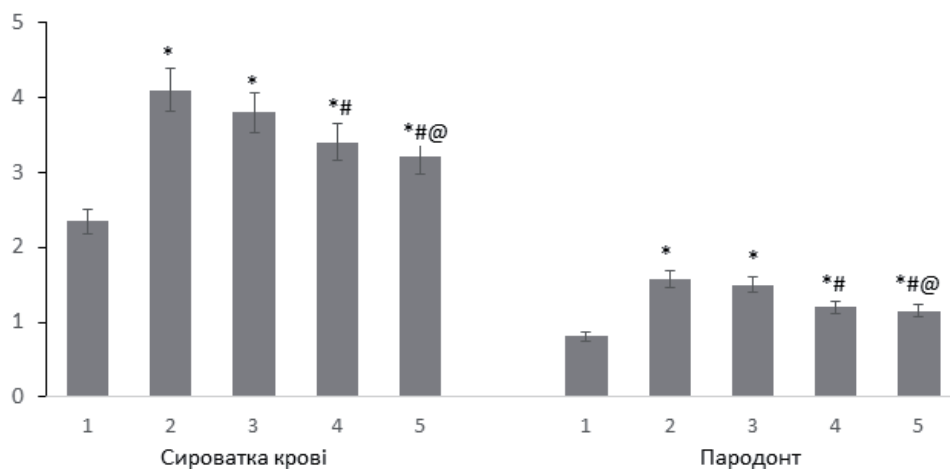
корекції). При поєднаному введенні лікопену й аміногуанідину активність досліджуваного ферменту знижувалася в 1,9 раза (до  $(0,40 \pm 0,32)$  нмоль/мг білка·хв).



**Рис. 3.** Загальна активність NO-синтази в тканинах пародонта (нмоль/мг білка·хв) щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену й аміногуанідину.

На рисунку 4 показано результати дослідження впливу антиоксиданта модулятора iNOS на вміст стабільних метаболітів оксиду азоту (NOx) – нітратів і нітритів – у сироватці крові щурів із генералізованим пародонтитом із супутнім атрофічним гастритом. Окреме застосування лікопену не призводило до достовірного пониження вмісту NOx як в сироватці крові, так і в пародонті. Разом з тим, селективне інгібування iNOS викликало достовірне (в 1,2 раза) зниження показника вмісту нітратів і нітритів у сироватці крові й у 1,3 раза в тканинах пародонта. При спільному застосуван-

ні досліджуваних засобів рівень NOx у досліджуваних тканинах практично не відрізнявся від аналогічних показників у тварин, що піддавалися корекції лише аміногуанідином, проте достовірно (в 1,2 і 1,3 раза відповідно в сироватці й пародонті) зменшувався, порівняно з щурами, яким вводили тільки лікопен. Це, очевидно, свідчить про те, що коригувальний ефект комбінації засобів на систему синтезу оксиду азоту зумовлений практично повністю позитивним ефектом саме інгібітора iNOS аміногуанідину.



**Рис. 4.** Вміст нітратів та нітритів у сироватці крові (ммоль/л) і тканинах пародонта (ммоль/кг) щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену й аміногуанідину.

На рисунках 5 і 6 показано результати впливу лікопену й аміногуанідину на основні показники, що характеризують стан сполучної тканини в щурів із пародонтитом на тлі гастриту. Відомо, що інтенсивність процесів синтезу і розпаду колагену відображають фракції гідроксипроліну. За літературними даними, підвищення концентрації вільного гідроксипроліну в сироватці крові відображає процеси деструкції колагену і вказує на ступінь його катаболізму. Під впливом антиоксиданту рівень вільного оксипроліну в сироватці тварин із поєднаною патологією достовірно (в 1,4 раза) знижувався і становив (25,52±2,40) мкмоль/л проти (34,05±2,12) мкмоль/л у нелікованих щурів. У тварин, яким вводили селективний інгібітор iNOS, вміст вільного оксипроліну також достовірно знижувався майже в такому ж ступені, як і під впливом лікопену, і досягав рівня (26,43±1,95) мкмоль/л. Сумісне введення обох препаратів тваринам із пародонтитом, асоційованим з атрофічним гастри-

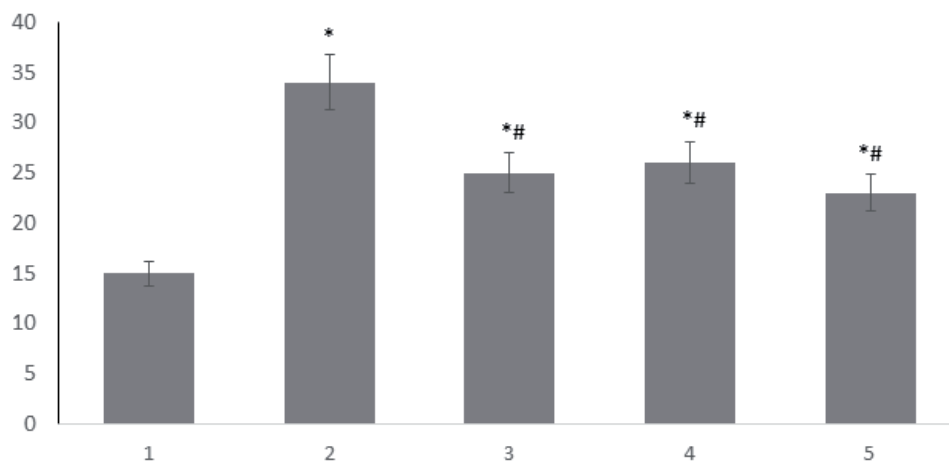
том, не виявилось більш ефективним, ніж їх окреме застосування.

Як і у випадку з колагенолізом, як лікопен, так і аміногуанідин статистично вірогідно знижували інтенсивність розпаду протеогліканів у тварин із генералізованим пародонтитом на тлі атрофічного гастриту (вміст глікозаміногліканів при корекції лікопіном становив (78,20±5,90) мкмоль/л, що було в 1,3 раза менше, ніж у нелікованих щурів, а при використанні аміногуанідину даний показник досягнув значень (76,45±6,50) мкмоль/л, що становило 77 % від рівня тварин із поєднаною патологією, яким корекція не проводилася) (рис. 6). Застосування обох препаратів призвело до зниження концентрації глікозаміногліканів у 1,4 раза, порівняно з тваринами, яким корекцію не проводили.

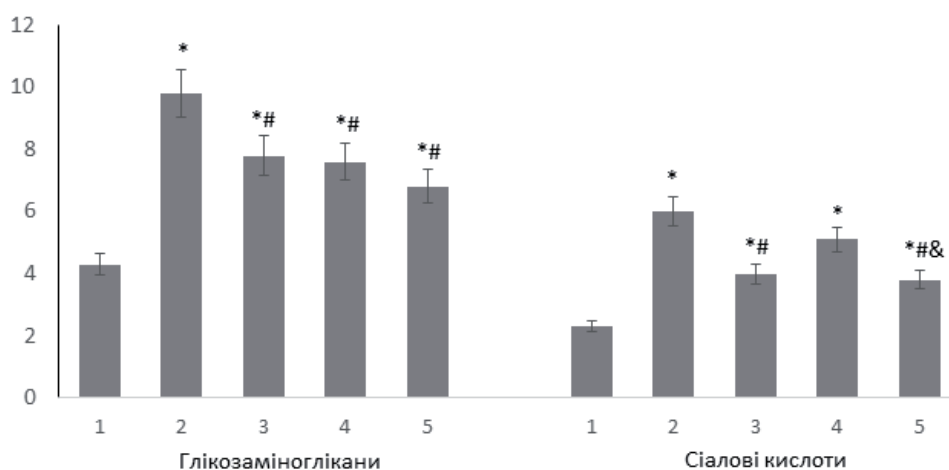
Рівень сіалових кислот в крові відображає ступінь деструкції інших важливих білків сполучної тканини – глікопротеїнів. У щурів із пародонтитом і гастритом концентрація



## Експериментальні дослідження



**Рис. 5.** Вміст вільного оксипроліну в сироватці крові (мкмоль/л) щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену й аміногуанідину.



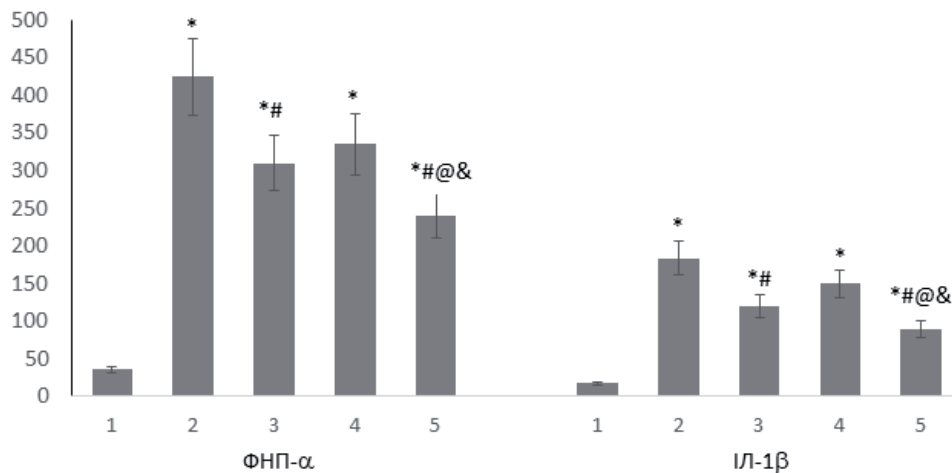
**Рис. 6.** Вміст глікозаміногліканів ( $\times 10$  мкмоль/л) і сіалових кислот (ммоль/л) у сироватці крові щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену й аміногуанідину.

сіалових кислот в сироватці достовірно змінювалася тільки під впливом антиоксиданту. В тварин, яким вводили лікопен, вміст сіалових кислот у сироватці був на 34 % меншим ( $p < 0,05$ ), ніж у некоригованих тварин. Поєднане застосування з метою корекції обох досліджуваних препаратів призвело до зниження рівня сіалових кислот у сироватці до  $(3,82 \pm 0,25)$  ммоль/л, що становило 63 % від рівня аналогічного показника у нелікованих тварин.

Відомо, що зменшення інтенсивності оксидативних процесів за допомогою антиоксидантів зумовлює пригнічення деструктивних і запальних процесів у тканинах і, як наслідок, призводить до зниження продукції цитокінів макрофагами та іншими імунокомпетентними клітинами. З іншого боку, відомо, що розвиток запалення детермінується та-

кож надмірною генерацією оксиду азоту, що синтезується за участю iNOS. Раніше ми показали, що при генералізованому ліпополісахаридному пародонтиті, що розвивається на тлі атрофічного гастриту, має місце дисбаланс між утворенням про- й антизапальних цитокінів. Тому доцільно було дослідити, як антиоксидант лікопен та селективний інгібітор iNOS аміногуанідин впливають на утворення ФНП- $\alpha$ , ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-4 та ІЛ-10.

З рисунка 7 видно, що при застосуванні лікопену концентрація прозапальних ФНП- $\alpha$  та ІЛ-1 $\beta$  достовірно (в 1,4 і 1,5 раза) зменшувалася, порівняно з нелікованими тваринами, досягаючи рівня відповідно  $(310,5 \pm 30,24)$  і  $(120,8 \pm 8,50)$  пг/мл. Важливо зазначити, що у найбільшому ступені концентрація прозапальних цитокінів у сироватці щурів із пародонтитом на тлі гастриту знижувалася при

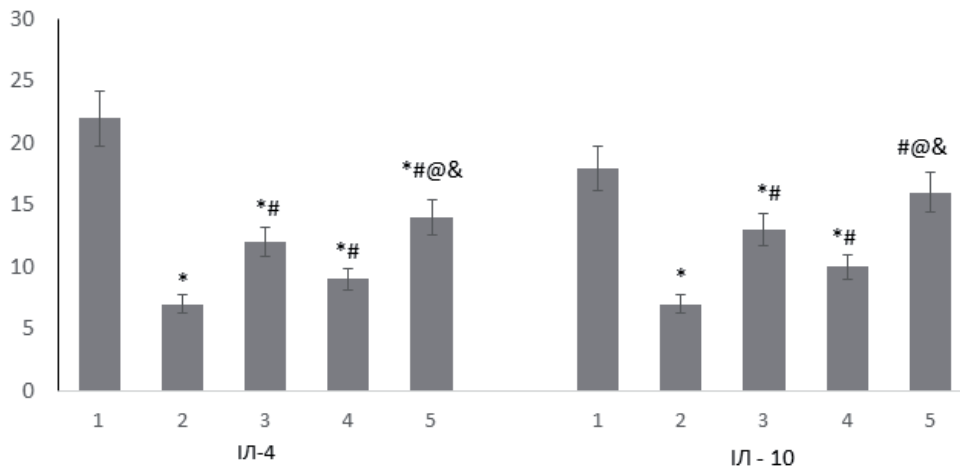


**Рис. 7.** Вміст прозапальних цитокінів (пг/мл) у сироватці крові щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену й аміногуанідину.

застосуванні обох препаратів разом. У цьому випадку досліджувані показники були достовірно нижчими, ніж у тварин, яким вводили з метою корекції тільки антиоксидант або тільки інгібітор iNOS.

При використанні з метою корекції досліджуваної патології лікопену й аміногуанідину

також спостерігали поліпшення показників концентрації антизапальних цитокінів у сироватці крові щурів. Рівень ІЛ-4 при введенні тваринам антиоксиданта був в 1,7 раза більшим ( $p < 0,05$ ), а при введенні інгібітора iNOS – в 1,3 раза більшим ( $p < 0,05$ ), ніж у щурів, яким корекцію не проводили (рис. 8).



**Рис. 8.** Вміст протизапальних цитокінів (пг/мл) у сироватці крові щурів із ліпополісахаридним пародонтитом на тлі атрофічного гастриту при застосуванні лікопену й аміногуанідину.

Вплив методів корекції на рівень іншого антизапального цитокіну – ІЛ-10, які ми запропонували, виявився практично аналогічним. Антиоксидна терапія призвела до підвищення вмісту ІЛ-10 в 1,9 раза, а при інгібуванні iNOS концентрація досліджуваного цитокіну була в 1,4 раза більшою, ніж у нелікованих тварин.

Як і у випадку з прозапальними цитокінами, поєднане застосування досліджуваних препаратів виявилось достовірно ефективнішим у плані нормалізації рівнів ІЛ-4 і ІЛ-10, ніж окреме введення кожного з них.

**Висновки.** 1. Застосування при генералізованому пародонтиті на тлі атрофічного гастриту протягом 14-ти днів антиоксиданта лікопену ефективно пригнічує інтенсивність окиснювальних процесів у сироватці крові й тканинах пародонта. Використання інгібітора iNOS аміногуанідину не призводить до достовірного поліпшення показників оксидативного стресу в тварин із пародонтитом і гастритом.

2. Корекція пародонтиту, асоційованого з атрофічним гастритом, високоселективним

## Експериментальні дослідження

інгібітором iNOS аміногуанідином частково запобігає розвитку нітрооксидативного стресу (в сироватці крові достовірно знижується загальна активність синтази оксиду азоту, в сироватці й пародонті – концентрація нітратів та нітритів). Антиоксидна терапія не призводить до значущого поліпшення показників функціонування системи синтезу оксиду азоту в тварин із поєднаною патологією.

3. Терапія пародонтиту, поєданого з атрофічним гастритом, за допомогою антиокси-

данта та інгібітора iNOS запобігає порушенням метаболізму компонентів сполучної тканини. Лікопен і аміногуанідин пригнічують активність колагенолізу в щурів із пародонтитом і гастритом, інтенсивність деструкції протеогліканів, лікопен частково запобігає розпаду глікопротеїнів.

4. Застосування антиоксиданта лікопену та інгібітора iNOS аміногуанідину частково запобігає порушенню цитокинового дисбалансу при пародонтиті на тлі атрофічного гастриту.

©Е. С. Беденюк, М. М. Корда

Тернопольський національний медичинський університет імені І. Я. Горбачевського  
МОЗ України

## Применение антиоксидной и iNOS модулирующей терапии при липополисахаридном пародонтите на фоне атрофического гастрита

**Резюме.** Эпидемиологические данные свидетельствуют о высокой частоте воспалительных заболеваний ротовой полости у лиц с атрофическими изменениями слизистой оболочки желудка. В патогенезе пародонтита, вызванного эндотоксином грамотрицательной микрофлоры липополисахаридом, важную роль играют активация реакций свободнорадикального окисления и избыточная продукция оксида азота. Поэтому патогенетически обоснованным можно считать использование при пародонтите на фоне гастрита препаратов, которые были бы способны предотвращать оксидативный и нитрооксидативный стресс.

**Цель исследования** – установить лечебную эффективность антиоксиданта ликопена и селективного ингибитора индуцибельной NO-синтазы амингуанидина при генерализованом липополисахаридном пародонтите на фоне хронического атрофического гастрита.

**Материалы и методы.** Для опытов использовали беспородных крыс-самцов, которых разделили на 5 групп: первая – контрольная; вторая – крысы с липополисахаридным пародонтитом на фоне хронического атрофического гастрита; третья и четвертая – животные с пародонтитом и гастритом, которым соответственно вводили перорально ликопен или интраперитонеально амингуанидин; пятая – крысы с пародонтитом и гастритом, которым вводили вместе ликопен и амингуанидин. В сыворотке крови и гомогенате тканей пародонта определяли уровень ТБК-активных продуктов, восстановленного глутатиона, общую активность NO-синтазы, уровень нитратов и нитритов (NOx), содержание свободного оксипролина, гликозаминогликанов, сиаловых кислот, уровень TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Применение ликопена снижало интенсивность окислительных реакций в 1,3 и 1,5 раза в сыворотке крови и пародонте и повышало содержание восстановленного глутатиона в 1,2 раза в сыворотке животных с пародонтитом на фоне гастрита. Активность NO-синтазы в пародонте под влиянием амингуанидина снижалась в 1,7 раза, а уровень NOx – в 1,2 и 1,3 раза в сыворотке и пародонте. Под влиянием антиоксиданта уровень свободного оксипролина в сыворотке животных с сочетанной патологией снижался в 1,4 раза, гликозаминогликанов – в 1,3 раза, сиаловых кислот – на 34 %, а под влиянием ингибитора iNOS – соответственно на 40; 23 и 37 %. При применении ликопена концентрация ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  уменьшалась в 1,4 и 1,5 раза, по сравнению с нелечеными животными, а уровень ИЛ-4 и ИЛ-10 повышался в 1,7 и 1,9 раза. Амингуанидин также достоверно улучшал цитокиновый дисбаланс у крыс с пародонтитом и гастритом. Коррекция пародонтита на фоне гастрита комбинацией антиоксиданта и ингибитора iNOS в большинстве случаев оказалась более эффективной, чем их отдельное использование.

**Выводы.** Применение антиоксиданта ликопена и ингибитора iNOS амингуанидина можно считать эффективным патогенетически обоснованным методом коррекции пародонтита, ассоциированного с атрофическим гастритом.

**Ключевые слова:** пародонтит; атрофический гастрит; ликопен; амингуанидин.



©O. S. Bedeniuk, M. M. Korda

I. Horbachevsky Ternopil National Medical University

## Application of antioxidant and iNOS modulation therapy in lipopolysaccharide periodontitis associated with atrophic gastritis

**Summary.** Epidemiological investigations provide evidence linking a high incidence of inflammatory diseases of the oral cavity in individuals with atrophic changes in the gastric mucosa. In the pathogenesis of periodontitis induced by gram-negative microflora endotoxin lipopolysaccharide, the activation of free radical oxidation reactions and the excessive production of nitric oxide play an important role. Therefore, the using of drugs that would be able to prevent oxidative and nitrooxidative stress can be considered pathogenetically reasonable in periodontitis on the background of gastritis.

**The aim of the study** – to determine the therapeutic efficacy of antioxidant lycopene and inducible NO synthase selective inhibitor aminoguanidine in generalized lipopolysaccharide periodontitis associated with chronic atrophic gastritis.

**Materials and Methods.** Rats-males which were divided into 5 groups were used for experiments: group 1 – control; 2 – rats with lipopolysaccharide periodontitis on the background of chronic atrophic gastritis; 3 and 4 – rats with periodontitis and gastritis, which were respectively administered orally with lycopene or intraperitoneally with aminoguanidine; 5 – rats with periodontitis and gastritis, which were injected with lycopene and aminoguanidine together. In the serum and periodontal tissue homogenate the level of TBA-active products, reduced glutathione, the total activity of NO synthase, the level of nitrates and nitrites (NOx), the content of free oxyproline, glycosaminoglycans, sialic acids, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-10 were measured.

**Results and Discussion.** The use of lycopene reduced the intensity of oxidative reactions by 1.3 and 1.5 times in serum and periodontium, respectively, and increased the content of reduced glutathione by 1.2 times in serum of animals with periodontitis and gastritis. The activity of NO synthase in the periodontium under the influence of aminoguanidine decreased by 1.7 times, and the level of NOx – by 1.2 and 1.3 times in serum and periodontium. Under the influence of an antioxidant, the level of free oxyproline in the serum of animals with combined pathology decreased by 1.4 times, glycosaminoglycans – by 1.3 times, sialic acids – by 34 %, and under the influence of iNOS inhibitor – respectively by 40. 23 and 37 %. When using lycopene, the concentration of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  decreased by 1.4 and 1.5 times compared with untreated animals, and the levels of IL-4 and IL-10 increased by 1.7 and 1.9 times, respectively. Aminoguanidine also significantly improved cytokine imbalance in rats with periodontitis and gastritis. Correction of periodontitis associated with gastritis with a combination of antioxidant and iNOS inhibitor has in most cases proved to be more effective than their individual use.

**Conclusions.** The use of antioxidant lycopene and iNOS inhibitor aminoguanidine can be considered as an effective pathogenetically reasonable method of correction of periodontitis associated with atrophic gastritis.

**Key words:** periodontitis; atrophic gastritis; lycopene; aminoguanidine.

### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Noack B. Metabolic diseases and periodontitis / B. Noack, S. Fischer // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 2012. – 137, No. 22. – P. 1155-1157.
2. Манашук Н. В. Взаємозв'язок патології пародонта та патології шлунково-кишкового тракту / Н. В. Манашук, Н. В. Чорній, В. В. Шманько // *Клінічна стоматологія.* – 2011. – № 1-2. – С. 23-27.
3. Беденюк О. С. Роль оксидативного і нітрооксидативного стресу в патогенезі генералізованого пародонтиту на фоні хронічного гастриту / О. С. Беденюк, М. М. Корда // *Медична та клінічна хімія.* – 2016. – Т. 18, № 4. – С. 11-15.
4. Беденюк О. С. Імунна реактивність організму при генералізованому пародонтиті на фоні хронічного атрофічного гастриту / О. С. Беденюк, М. М. Корда // *Вісник проблем біології і медицини.* – 2018. – № 1. – С. 85-88.
5. Щерба В. В. Застосування інгібітора індукцельної синтази оксиду азоту N-(3-(амінометил)бензил) ацетамідину при ліпополісахаридному запаленні тканин пародонту / В. В. Щерба, М. М. Корда // *Медична хімія.* – 2012. – Т. 14, № 3. – С. 76-79.
6. Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats / L. Wang, S. Chen, Z. Chen [et al.] // *J. Zhejiang Univ. SCIENCE B.* – 2006. – Vol. 7 (8). – P. 634-640.
7. Моисеева Е. Г. Метаболический гомеостаз и иммунная реактивность организма в динамике воспаления в тканях пародонта (экспериментальное исследование) : автореф. дисс. на соискание ученой степени д. мед. наук : спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / Е. Г. Моисеева. – М., 2008. – 45 с.
8. Sahin K. Lycopene in the prevention of renal cell

cancer in the TSC2 mutant Eker rat model. K. Sahin, B. Cross, N. Sahin, [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2015. – Vol. 15, No. 572. – P. 36–39.

9. Фартушна А. М. NO-залежні зміни окиснювально-го метаболізму у тканинах ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / А. М. Фартушна, В. О. Костенко // *Пробл. екології та медицини.* – 2012. – Т. 16, № 3–4. – С. 48–51.

10. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // *Лаб. дело.* – 1988. – № 11. – С. 41–43.

11. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // *Arch. of Biochem. and Biophys.* – 1959. – 82. – P. 70–77.

12. N<sup>ω</sup>-Hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine / D. Stuehr, N. S. Kwon, C. Nathan, O. Griffiths // *J. Biol. Chem.* – 1991. – 266. – P. 6259–6263.

## REFERENCES

1. Noack, B., & Fischer, S. (2012). Metabolic diseases and periodontitis. *Dtsch. Med. Wochenschr*, 137 (22), 1155-1157.

2. Manashchuk, N.V., Chornii, N.V., & Shmanko, V.V. (2011). Vzaiemozviazok patolohii parodonta ta patolohii shlunkovo-kyshkovoho traktu [Interrelation of periodontal pathology and pathology of gastrointestinal tract. *Klinichna stomatolohiia – Clinical Dentistry*, (1-2), 23-27 [in Ukrainian].

3. Bedeniuk, O.S., & Korda, M.M. (2016). Rol oksydatyvnoho i nitrooksydatyvnoho stresu v patohenezi heneralizovanoho parodontytu na foni khronichnoho hastrytu [The role of oxidative and nitrooxidative stress in the pathogenesis of generalized periodontitis on the background of chronic gastritis]. *Medychna ta klinichna khimiia – Medical and Clinical Chemistry*, 18 (4), 11-15 [in Ukrainian].

4. Bedeniuk, O.S., & Korda, M.M. (2018). Imunna reaktyvnist orhanizmu pry heneralizovanomu parodontyti na foni khronichnoho atrofichnoho hastrytu [Immune reactivity of the body in generalized periodontitis on the background of chronic atrophic gastritis]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny – Bulletin of Problems of Biology and Medicine*, 2 (1), 85-88 in Ukrainian.

5. Shcherba, V.V., & Korda, M.M. (2012). Zastosuvannia inhibitora indutsybelnoi syntazy oksydu azotu N-(3-(aminometyl)benzyl)atsetamidynu pry lipopolisaharydnomu zapalenni tkanyn parodontu [The use of an inhibitor of inducible nitric oxide synthase N-(3-(aminomethyl) benzyl) acetamidine in lipopolysaccharide inflammation of periodontal tissues]. *Medychna khimiia – Medical Chemistry*, 14 (3), 76-79 in Ukrainian.

6. Wang, L., Chen, S., & Chen, Z. (2006). Morphological and pathologic changes of experimental chronic atrophic gastritis (CAG) and the regulating mechanism of protein expression in rats. *J. Zhejiang Univ. SCIENCE B*, 7 (8), 634-640.

7. Moyseyeva, E.G. (2008). Metabolicheskiy gomeostaz i imunnaya reaktivnost organizma v dinamike vospaleniya v tkanyah parodonta (eksperimentalnoye

13. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. Ridnour, J. E. Sim, M. Hayward [et al.] // *Anal. Biochem.* – 2000. – 281. – P. 223–229.

14. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови / С.С. Тетянец // *Лаб. дело.* – 1985. – № 1. – С. 61-62.

15. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. И. Соловьева [та ін.] // *Лаб. дело.* – 1987. – № 5. – С. 330–332.

16. Колб В. Г. Клиническая биохимия / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск: Ураджай, 1976. – 145 с.

17. Гублер Е. В. Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов / Е. В. Гублер. – М. : Медицина, 1978. – 294 с.

isslyedovaniye) [Metabolic homeostasis and immune reactivity of the body in the dynamics of inflammation in periodontal tissues (experimental study)]. *Doctor's Extended abstract* [in Russian].

8. Sahin, K., Cross, B., & Sahin, N. (2015). Lycopene in the prevention of renal cell cancer in the TSC2 mutant Eker rat model. *Arch. Biochem. Biophys.*, 15 (572), 36-39.

9. Fartushna, A.M. (2012). NO-zalezni zminy oksylyvalnoho metabolizmu u tkanyakh yasen bilykh shchuriv za umov khronichnoi intoksykatsii nitratom natriu NO- dependent changes in oxidative metabolism in the tissues of white rat rats under chronic intoxication with sodium nitrate]. *Problemy ekolohii ta medytsyny – Ecological and Medical Problems*, 3-4 (16), 48-51 [in Ukrainian].

10. Andreeva, L.I. (1988). Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy [Modification of the method for determination of peroxide in test with thiobarbituric acid]. *Laboratornoye delo – Laboratory Science*, (11), 41-43 [in Russian].

11. Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. of Biochem. and Biophys.*, 82, 70-77.

12. Stuehr, D., Kwon, N.S., Nathan, C., & Griffiths, O. (1991). N-Hydroxy-L-arginine is an intermediate in the biosynthesis of nitric oxide from L-arginine. *J. Biol. Chem.*, 266, 6259-6263.

13. Ridnour, L., Sim, J.E., & Hayward, M. (2000). A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media. *Anal. Biochem.*, 281, 223-229.

14. Tetyanets, S.S. (1985) Metod opredeleniya svobodnogo oksiprolina v syvorotke krovi [Method for determination of free olsiprolin in blood serum]. *Laboratornoye delo – Laboratory Science*, (1), 61-62 in Russian.

15. Sharayev, P.N., Pishkov, V.N., & Solovyova, N.I. (1987). Metod opredeleniya glikozaminglikanov v biologicheskikh zhidkostyakh [Method for the determination of glycosaminoglycans in biological fluids]. *Laboratornoye delo – Laboratory Science*, (5), 330-332 [in Russian].

16. Kolb, V.G., & Kamishnikov, V.S. (1976). *Klinicheskaya biokhimiya [Clinical biochemistry]*. Minsk-Minsk [in Russian].
17. Gublyer, Ye.V. (1978). *Vycheslitelnyye metody*

*analiza i razpoznavaniya patologicheskikh protsessov [Computational methods for the analysis and recognition of pathological processes]*. Moscow: Meditsina in [Russian].