

УДК 616.314.17-008.1

3.3.3 Патологическая физиология

DOI: 10.37903/vsgma.2021.1.2

НАРУШЕНИЯ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ БОЛЕВОМ СИНДРОМЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ© Брусенцова А.Е.¹, Ляшев Ю.Д.¹, Цыган Н.В.^{2,3}, Ляшев А.Ю.¹¹Курский государственный медицинский университет, 305041, Курск, ул. Карла Маркса, 3²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 194044, Санкт-Петербург, ул. Акад. Лебедева, 6 литера Ж³Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», 188300, Ленинградская обл., Гатчина, мкр. Орлова роща, 1*Резюме*

Цель. Изучение содержания малонового диальдегида и ацилгидроперекисей, а также активность супероксиддисмутазы и каталазы у крыс с хроническим болевым синдромом и экспериментальным пародонтитом.

Методика. Экспериментальный пародонтит моделировали по методу, предложенному Воложиным А.И. и Виноградовой С.И. (1990). Хронический болевой синдром моделировали двусторонней перевязкой седалищных нервов в средней трети бедра. Крыс Вистар выводили из опыта передозировкой наркоза и определяли в плазме крови содержание малонового диальдегида и ацилгидроперекисей, а также активность супероксиддисмутазы и каталазы традиционными методами.

Результаты. Установлено снижение активности супероксиддисмутазы и каталазы в плазме крови крыс с хроническим болевым синдромом на 5-7 неделях эксперимента. Моделирование экспериментального пародонтита сопровождалось повышением содержания малонового диальдегида и ацилгидроперекисей, а также падением активности супероксиддисмутазы и каталазы на всем протяжении наблюдения (7-21 сутки). У животных с экспериментальным пародонтитом на фоне предварительного сформированного хронического болевого синдрома установлено увеличение концентрации малонового диальдегида и падение активности обоих антиоксидантных ферментов на 7 сутки эксперимента.

Заключение. Развитие экспериментального пародонтита на фоне хронического болевого синдрома сопровождается более значительным нарушением прооксидантно-антиоксидантного баланса в раннем периоде заболевания, что проявляется повышением концентрации малонового диальдегида и снижением активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы и каталазы, в плазме крови.

Ключевые слова: пародонтит, хронический болевой синдром, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты

DISTURBANCES IN PROOXIDANT-ANTIOXIDANT BALANCE IN CHRONIC PAIN SYNDROME AND EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

Brusentsova A.E., Lyashev Y.D., Tsygan N.V., Liashev A.Y.

¹Kursk State Medical University, 3, Karl Marx St., 305041, Kursk, Russia²S.M. Kirov Military Medical Academy, letter G, 6, Akad. Lebedeva St., 194044, Saint-Petersburg, Russia³Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre "Kurchatov Institute", 1, Mcr. Orlova rosha, 188300, Gatchina, Leningrad region., Russia*Abstract*

Objective. To clear up the content of malonic dialdehyde and acylhydroperoxides as well as the activity of antioxidant enzymes in rats with chronic pain syndrome and experimental periodontitis.

Methods. Experimental periodontitis was simulated according to the method proposed by Volozhin A.I. and Vinogradova S.I. Chronic pain syndrome was simulated by bilateral ligation of sciatic nerves in the middle of third of the thigh. Vistar rats were taken out of the experiment by overdosage of narcosis and

the content of malonic dialdehyde and acylhydroperoxides as well as the activity of superoxide dismutase and catalase were determined in blood plasma by traditional methods.

Results. The decrease in the activity of superoxide dismutase and catalase in the blood plasma of rats with chronic pain syndrome at 5-7 weeks of the experiment was established. The simulation of the experimental periodontitis was accompanied by an increase in the content of malonic dialdehyde and acylhydroperoxides as well as the drop in the activity of superoxide dismutase and catalase throughout the observation period (7-21 days). In animals with experimental periodontitis and preliminary formed chronic pain syndrome an increase in the concentration on malonic dialdehyde and a decrease in the activity of both antioxidant enzymes were found on the 7th day of the experiment.

Conclusion. The development of experimental periodontitis on the background of chronic pain syndrome is accompanied by more significant disturbances in prooxidant-antioxidant balance in the early period of the disease, which manifests itself by the increase in the concentration of malonic dialdehyde and the decrease in the activity of antioxidant enzymes: superoxide dismutase and catalase, in the blood plasma.

Keywords: periodontitis, chronic pain syndrome, lipid peroxidation, antioxidant enzymes

Введение

Несмотря на успехи, достигнутые в профилактике и лечении хронического генерализованного пародонтита, он по-прежнему остается одним из наиболее частых заболеваний оро-фасциальной области, частота встречаемости которого достигает 75% у лиц старшего возраста [5]. При этом пародонтит не только снижает качество жизни пациентов, но и является фактором, отягощающим течение соматической патологии [7, 10]. При этом и соматические заболевания оказывают негативное влияние на течение пародонтита. Хронический болевой синдром, вызванный различными причинами, является одной из наиболее частых форм патологии у пациентов средней и старшей возрастных групп. Его частота по данным разных исследователей составляет у лиц 40-50 лет 35-50%, а в старшей возрастной группе достигает 90% [9]. Широкая распространенность пародонтита и болевых синдромов делают актуальным исследование влияния хронической боли на течение пародонтита.

Одним из ведущих механизмов повреждения при воспалительных заболеваниях и болевых синдромах является нарушение прооксидантно-антиоксидантного баланса, избыточное формирование активных форм кислорода и активация перекисного окисления липидов [8]. В связи с вышесказанным исследование нарушений прооксидантно-антиоксидантного баланса при сочетании хронического болевого синдрома и экспериментального пародонтита представляет несомненный интерес.

Цель исследования – изучить содержание малонового диальдегида (МДА) и ацилгидроперекисей (АГП), а также активности супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы у крыс с хроническим болевым синдромом и экспериментальным пародонтитом.

Методика

Исследования выполнены на 116 крысах-самцах Вистар массой 180-220 г. Лабораторных животных содержали в стандартных условиях при свободном доступе к пище и воде. Исследования выполнены с соблюдением положений, изложенных в Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к лабораторным животным (2000 г.), директивы Европейского сообщества (86/609ЕС), Правил надлежащей лабораторной практики в Российской Федерации (приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.) и Межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными». Выполнение экспериментов одобрено Региональным этическим комитетом (протокол заседания секции доклинических исследований РЭК № 2 от 19.10.2020 г.).

Интактную группу составили 8 крыс. Остальные животные были разделены на следующие экспериментальные группы: 1) крысы с хроническим болевым синдромом (18 особей); 2) ложнопериорированные животные (18 особей); 3) крысы с экспериментальным пародонтитом (24 особи); 4) ложнопериорированные животные с экспериментальным пародонтитом (24 особи); 5) крысы с экспериментальным пародонтитом и хроническим болевым синдромом (24 особи).

Экспериментальный пародонтит моделировали по методу, предложенному Воложиным А.И. и Виноградовой С.И. (1990) [1]. Наркотизированным животным (внутрибрюшинное введение хлоралгидрата в дозе 400 мг/кг массы тела) на резцы нижней челюсти накладывали шелковую нить в виде восьмерки с последующим погружением лигатуры в зубодесневой желобок и ее фиксацией дополнительными узлами. Нить оставляли на 14 дней, а затем удаляли. Крыс выводили из эксперимента на 7, 14 и 21 сутки после снятия нити передозировкой наркоза.

При моделировании хронического болевого синдрома наркотизированным крысам выполняли двустороннюю перевязку седалищных нервов в средней трети бедра [3]. Через 2 недели после операции рана полностью заживала, и животных использовали в дальнейших экспериментах. Ложнооперированным животным выполняли аналогичную операцию без перевязки седалищных нервов. Ложнооперированных крыс и животных с хроническим болевым синдромом выводили из эксперимента через 5, 6 и 7 недель после проведения операции. Выбор указанных сроков обусловлен протоколом эксперимента по изучению развития экспериментального пародонтита у крыс с хроническим болевым синдромом. Крысам с хроническим болевым синдромом и ложнооперированным животным экспериментальный пародонтит моделировали через 2 недели после выполнения соответствующей операции.

После выведения животных из эксперимента у них забирали кровь и определяли в плазме концентрации промежуточных (АГП) и конечных продуктов (МДА) перекисного окисления липидов, а также активность антиоксидантных ферментов: СОД и каталазы, традиционными методами [4]. Уровень АГП в образце определяли спектрофотометрически в гептановом слое при длине волны 233 нм против контрольной пробы и выражали в условных единицах. Для определения МДА проводили реакцию со смесью тиобарбитуровой и уксусной кислот, а затем после инкубации измеряли оптическую плотность при 532 нм и рассчитывали количество МДА в мкмоль/л плазмы. Активность СОД определяли спектрофотометрическим методом, основанным на определении степени торможения реакции восстановления нитросинего тетразолия. За условную единицу активности фермента принимали 50% торможение реакции восстановления нитросинего тетразолия. Активность каталазы определяли методом, основанным на способности перекиси водорода образовывать с солями молибдена стойкий окрашенный комплекс. Интенсивность окраски измеряли фотометрически при 410 нм. Активность каталазы выражали в мкат/мл плазмы.

При статистической обработке полученных результатов нормальность распределения оценивали с помощью критерия Шапиро-Уилка, а гомогенность дисперсий по критерию Левена. Проверку статистических гипотез проводили с помощью непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Применение непараметрической статистики было связано с небольшим размером выборок, разным характером распределения в вариационных рядах и неравенством дисперсий при сравнении групп. Материал представлен как медиана (Me) нижний (Q1) и верхний (Qu) квартили. В ходе проведения статистического анализа нулевая гипотеза отвергалась при $p \leq 0,05$. Статистическая обработка проводилась с помощью программного обеспечения MS Excel и Statistica 10.

Результаты исследования и их обсуждение

В группе ложнооперированных крыс не установлено изменений содержания МДА и АГП, а также активности СОД и каталазы в плазме крови (табл.).

Моделирование хронического болевого синдрома не сопровождалось изменением концентрации промежуточных и конечных продуктов перекисного окисления липидов, однако активность антиоксидантных ферментов статистически достоверно снижалась на 5-7 неделях наблюдения ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными. Так, на 5 неделе после выполнения двусторонней перевязки седалищных нервов установлено падение активности СОД на 23,4%, а каталазы – на 14,9%. На 6-7 неделях эксперимента указанная тенденция сохранялась: на 6 неделе уменьшение активности СОД составило 22,5% ($p < 0,05$), а на 7 неделе – 22,1% ($p < 0,05$). Активность каталазы снизилась на 10,0% и 15,4% ($p < 0,05$) соответственно на 6 и 7 неделях эксперимента.

У крыс с экспериментальным пародонтитом в плазме крови концентрация промежуточных и конечных метаболитов перекисного окисления липидов оказалась статистически достоверно выше, а активность исследованных антиоксидантных ферментов достоверно ниже на протяжении всего эксперимента (7-21 сутки) по сравнению с интактными крысами ($p < 0,05$). Так, на 7 сутки содержание МДА и АГП в плазме крови увеличилось в 2,0 и 1,9 раза соответственно ($p < 0,05$).

Активность СОД и каталазы снизилась на 30,6% и 21,7% ($p < 0,05$). На 14-21 сутки концентрации МДА и АГП хотя и снижались, но оставались выше, чем аналогичные показатели у интактных крыс (на 14 сутки: МДА на 70,3% и АГП в 2,1 раза; на 21 сутки: МДА на 33,3% и АГП на 67,9% ($p < 0,05$)).

В группе ложнооперированных крыс с экспериментальным пародонтитом не установлено статистически достоверных различий в содержании продуктов перекисного окисления липидов и активности антиоксидантных ферментов по сравнению с группой экспериментальный пародонтит ($p > 0,05$).

Таблица. Содержание продуктов ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов у крыс с экспериментальным пародонтитом и хроническим болевым синдромом в плазме крови

Показатель Группа	Срок эксперимента, количество животных	Концентрация малонового диальдегида, мкмоль/л	Концентрация ацилгидроперекисей, у.е.	Активность супероксиддисмутазы, у.е.	Активность каталазы, мкат/мл
Интактная группа		13,5[12,7; 14,4]	5,3[4,7; 6,0]	22,2[20,6; 23,7]	22,1[21,0; 23,8]
Хронический болевой синдром	5 недель, n=6	13,5[12,7; 14,0]	5,2[4,2; 5,7]	17,0[15,9; 17,6]x	18,8[17,9; 20,5]x
	6 недель, n=6	14,0[13,6; 14,2]	5,4[4,8; 5,8]	17,2[16,4; 17,8]x	19,9[19,4; 20,7]x
	7 недель, n=6	13,0[12,7; 13,8]	5,1[4,8; 5,8]	17,3[16,8; 18,3]x	18,7[17,8; 19,6]x
Ложнооперированные крысы	5 недель, n=6	12,9[11,8; 14,2]	5,2[4,9; 5,9]	22,7[21,5; 22,9]	22,3[21,3; 23,7]
	6 недель, n=6	13,5[12,7; 14,2]	5,5[4,4; 5,8]	22,5[21,2; 23,7]	22,0[20,5; 22,9]
	7 недель, n=6	12,8[11,6; 14,7]	5,8[4,4; 6,1]	22,2[20,8; 24,3]	22,6[20,7; 23,5]
Экспериментальный пародонтит	7 суток, n=8	27,3[26,0; 28,6]x	10,2[9,8; 10,8]x	15,4[14,8; 16,1]x	17,3[16,8; 18,5]x
	14 суток, n=8	23,0[21,1; 24,3]x	11,2[10,4; 12,0]x	15,5[14,9; 16,5]x	17,5[16,9; 18,8]x
	21 сутки, n=8	18,0[17,0; 18,9]x	8,9[8,0; 10,8]x	15,9[14,5; 16,3]x	17,7[16,2; 20,0]x
Экспериментальный пародонтит у ложнооперированных крыс	7 суток, n=8	27,2[25,8; 29,5]x	11,1[9,9; 11,7]x	15,4[14,1; 16,6]x	17,1[16,3; 18,4]x
	14 суток, n=8	22,0[20,1; 23,2]x	11,0[10,1; 12,1]x	15,8[14,3; 16,7]x	18,4[17,0; 18,9]x
	21 сутки, n=8	17,4[15,8; 19,6]x	9,3[8,8; 10,5]x	16,1[14,6; 16,9]x	18,3[16,2; 19,8]x
Экспериментальный пародонтит при хроническом болевом синдроме	7 суток, n=8	30,9[28,5; 32,3]*	12,2[11,0; 13,3]	13,7[12,3; 15,3]*	15,2[14,6; 16,5]*
	14 суток, n=8	22,5[20,6; 24,2]	10,4[9,8; 11,4]	14,8[14,1; 15,7]	17,9[16,1; 18,9]
	21 сутки, n=8	17,6[17,1; 19,0]	10,1[8,8; 11,6]	15,8[14,1; 16,4]	18,2[17,4; 20,2]

Примечание: x – $p < 0,05$ по сравнению с интактной группой; * – $p < 0,05$ по сравнению с группой экспериментальный пародонтит

У крыс, которым моделировали экспериментальный пародонтит на фоне предварительно сформированного хронического болевого синдрома, статистически достоверные различия концентраций МДА и АГП, а также активности СОД и каталазы установлены только на 7 сутки после окончания моделирования пародонтита ($p < 0,05$) по сравнению с группой экспериментальный пародонтит: содержание МДА выше на 13,2%, АГП – на 19,6%, активность каталазы ниже на 12,1%. Хотя активность СОД была меньше аналогичного показателя в группе экспериментальный пародонтит на 11,0%, различия не являются статистически достоверными ($p > 0,05$). На 14-21 сутки исследованные показатели у крыс с экспериментальным пародонтитом на фоне предварительного сформированного хронического болевого синдрома достоверно не отличались от аналогичных значений в группе экспериментальный пародонтит.

Результаты исследования подтверждают ранее полученные экспериментальные и клинические данные о накоплении продуктов перекисного окисления липидов и снижении активности антиоксидантных ферментов в плазме крови крыс с экспериментальным пародонтитом и у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом [4, 6]. Активация свободнорадикального окисления при воспалении пародонта обусловлена усилением продукции активных форм кислорода фагоцитами («респираторный взрыв»), нарушением функционирования митохондрий в условиях гипоксии, истощением антиоксидантных систем [2]. Подавление активности СОД объясняется, по-видимому, ингибирующим влиянием избыточного количества метаболитов перекисного окисления липидов, в первую очередь МДА, а также усилением процесса гликирования молекулы фермента. Падение активности каталазы обусловлено, по нашему мнению, нарушением продукции фермента активированными клетками в результате накопления избыточного количества свободных радикалов.

Аналогичные механизмы, по-видимому, лежат в основе снижения активности СОД и каталазы при хроническом болевом синдроме (5-7 недели). Известно, что стресс, возникающий при болевом воздействии, сопровождается активацией перекисного окисления липидов и падением активности

антиоксидантных ферментов [12]. В нашем исследовании не установлено повышения концентрации МДА и АГП в крови у крыс с хроническим болевым синдромом, что связано, по нашему мнению, с повышением активности иных антиоксидантных механизмов, в частности увеличением образования так называемых «ловушек» свободных радикалов.

Повышение содержания продуктов перекисного окисления липидов и снижение активности каталазы у крыс с экспериментальным пародонтитом и предварительно сформированным хроническим болевым синдромом по сравнению с группой экспериментальный пародонтит установлено в нашем исследовании только на начальном этапе развития пародонтита (7 сутки). Это объясняется, истощением активности фермента при предварительном формировании хронического болевого синдрома, а в дальнейшем развитие компенсаторных механизмов предупреждает падение активности каталазы и накопление МДА и АГП.

Выводы

1. Развитие хронического болевого синдрома вызывает снижение активности СОД и каталазы в плазме крови на 5-7 неделях эксперимента, что объясняется подавлением активности ферментов в условиях стресс-индуцированного усиления свободнорадикального окисления.
2. У крыс с экспериментальным пародонтитом установлено повышение содержания МДА и АГП, а также падение активности СОД и каталазы на протяжении 7-21 суток наблюдения, что обусловлено повышением активности фагоцитов и формированием комплекса нарушений, стимулирующих свободнорадикальное окисление при воспалении пародонта.
3. У животных с экспериментальным пародонтитом и предварительно сформированным хроническим болевым синдромом показано повышение концентрации МДА и падение активности антиоксидантных ферментов в плазме крови на 7 сутки эксперимента в результате комбинированного воздействия патологических процессов, сопровождающихся активацией перекисного окисления липидов.

Литература (references)

1. Воложин А.И., Виноградова С.И. Моделирование и лечение воспаления в пародонте // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1990. – №6. – С. 49-51. [Volozhin A.I., Vinogradova S.I. *Pathologicheskaya fiziologiya i jeksperimental'naya terapiya*. Pathological physiology and experimental therapy. – 1990. – №6. – P. 49-51. (in Russian)]
2. Горбачева И.А., Орехова Л.Ю., Сычева Ю.А. и др. Роль гипоксии и процессов перекисного окисления в патогенезе гипертонической болезни и воспалительных заболеваний пародонта // Пародонтология. – 2010. – Т.15, №3(56). – С. 6-8. [Gorbacheva I.A., Orehova L.Yu., Sycheva Yu.A. i dr. *Parodontologiya*. Periodontology. – 2010. – V.15, N3(56). – P. 6-8. (in Russian)]
3. Котиева И.М., Франциянц Е.М., Каплиева И.В. и др. Влияние хронической боли на некоторые метаболические процессы в коже самок мышей // Российский журнал боли. – 2018. – №4. – С. 46-54. [Kotiyeva I.M., Frantsiyants E.M., Kapliyeva I.V. i dr. *Rossiiskii Zhurnal boli*. Russian Journal of Pain. – 2018. – N4. – P. 46-54. (in Russian)]
4. Кутепов И.В., Ляшев Ю.Д., Артюшкова Е.Б. и др. Влияние аналогов индолицидина на прооксидантно-антиоксидантный баланс крыс с острым пародонтитом // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2019. – №1. – С. 51-56. [Kutepov I.V., Lyashev Y.D., Artyushkova E.B. i dr. *Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik "Chelovek i ego zdorov'ye"*. Kursk scientific-practical bulletin "Man and his health". – 2019. – N1. – P. 51-56. (in Russian)]
5. Леонтьев В.К., Фаустов Л.А., Галенко-Ярошевский П.А., Попков В.Л. Хронический генерализованный пародонтит: клиническая и экспериментальная фармакотерапия метаболическими корректорами. – Краснодар: Просвещение-Юг, 2012. – 404 с. [Leontiev V.K., Faustov L.A., Galenko-Yaroshevskiy P.A., Popkov V.L. *Chronicheskii generalizovanniy parodontit: klinicheskaya i jeksperimental'naya farmakoterapiya metabolicheskimi korrektorami*. Chronic generalized periodontitis: clinical and experimental pharmacotherapy by metabolic correctors. – Krasnodar: Prosvesheniye-Yug, 2012. – 404 p. (in Russian)]
6. Локтионов А.Л., Конопля А.И., Лунев М.А., Караулов А.В. Иммунные и оксидантные нарушения в патогенезе воспалительных заболеваний пародонта // Иммунология. – 2015. – Т.36, №5. – С. 319-328. [Loktionov A.L., Konoplya A.I., Lunyov M.A., Karaulov A.V. *Immunologiya*. Immunology. – 2015. – V.36, N5. – P. 319-328. (in Russian)]

7. Цепов Л.М., Николаев А.И., Нестерова М.М. и др. Множественные хронические системные заболевания и патология пародонта // Пародонтология. – 2019. – Т.24, №2. – С. 127-131. [Tsepov L.M., Nikolaev A.I., Nesterova M.M. i dr. *Parodontologiya*. Periodontology. – 2019. – V.24, N2. – P. 127-131. (in Russian)]
8. Asle-Rousta M., Amini R., Aghazadeh S. Carvone suppresses oxidative stress and inflammation in the liver of immobilised rats // Archives of Physiology and Biochememistry. – 2020. – N3. – P. 1-6.
9. Nicholas M., Vlaeyen J.W.S., Rief W. et al. The IASP Taskforce for the Classification of Chronic pain. The IASP classification of chronic pain for ICD-11: chronic primary pain // PAIN. – 2019. – V.160, N1. – P. 28-37.
10. Sanz M., Marco Del Castillo A., Jepsen S. Periodontitis and cardiovascular diseases: Consensus report // Journal of Clinical Periodontology. – 2020. – V.47, N3. – P. 268-288.

Информация об авторах

Брусенцова Анна Евгеньевна – ассистент кафедры терапевтической стоматологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. E-mail: brusentsovaanna81@yandex.ru

Ляшев Юрий Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры патофизиологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: ylyashev@yandex.ru

Цыган Николай Васильевич – доктор медицинских наук, доцент, заместитель начальника кафедры нервных болезней ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, ведущий научный сотрудник НИЦ «Курчатовский институт» – Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова. E-mail: 1860n@mail.ru

Ляшев Андрей Юрьевич – клинический ординатор кафедры внутренних болезней ИНО ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России. E-mail: andr.liashev@yandex.ru

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.