

1. **Благовещенская Д.Б.** Исследование токсических свойств распространенных современных консервантов / **Д.Б. Благовещенская, А.С. Мерзляков** // Вестник новых медицинских технологий. - 2011. - Т. 18. - № 2. - С. 501-502.
2. **Гумеров Т.Ю.** О безопасности использования консервантов на предприятиях общественного питания / **Т.Ю. Гумеров, И.А. Илларионова, О.А. Решетник** // Безопасность жизнедеятельности. - 2011. - № 10. - С. 21-25.
3. **Гурьянова В.В.** Пищевые добавки и здоровье человека / **В.В. Гурьянова, Н.П. Корчагина, Е.С. Сергеева** // Бюллетень медицинских интернет-конференций. - 2012. - Т. 3. - № 7. - С. 10-25.
4. Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» від 21.02.2006 р., № 3447.
5. **Климова Е.В.** О безопасности продуктов питания с пищевыми добавками / **Е.В. Климова** // Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. - 2008. - № 3. - С. 886.
6. **Лусс Л.В.** Роль пищевых добавок в формировании истинной и ложной пищевой аллергии (часть 2) / **Л.В. Лусс, Т.Ю. Репина** // Российский аллергологический журнал. - 2009. - № 3. - С. 17-25.
7. **Титова Н.Д.** Диагностика аллергических реакций к натрия бензоату путем определения антител и сенсибилизации гранулоцитов / **Н.Д. Титова** // Медицинские новости. - 2011. - № 5. - С. 71-73.
8. **Ярыгина Т.И.** Определение бензоата натрия в растворе перекиси водорода / **Т.И. Ярыгина, О.Е. Саттарова** // Фармация. - 2010. - № 5. - С. 10-12.

УДК 616.314.17 – 008 – 092.9

© Ляшенко Л.І., Костенко В.О., 2013.

РОЛЬ NF-κB-ОПОСЕРЕДКОВАНОЇ ДІЇ NO-СИНТАЗ У ДЕЗОРГАНІЗАЦІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПАРОДОНТУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МЕТАБОЛІЧНОГО СИНДРОМУ

Ляшенко Л.І., Костенко В.О.

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава.

Ключові слова: метаболічний синдром, ядерний фактор κB, оксид азоту, NO-синтази, пародонт, сполучна тканина.

Ляшенко Л.І., Костенко В.О. Роль NF-κB-опосередованного действия NO-синтаз в дезорганизации соединительной ткани пародонта в условиях экспериментального метаболического синдрома // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 53 – 57.

В эксперименте на 40 белых крысах исследована роль NF-κB в механизмах дезорганизации соединительной ткани пародонта, зависящих от функционального состояния NO - синтазы (NOS), в условиях моделирования метаболического синдрома (МС). Выявлено, что способность нейрональной NOS ограничивать дезорганизацию соединительной ткани пародонта (коллагенолиз и деполимеризацию протеогликанов), в условиях МС, является NF-κB-опосредованной. Показано, что действие селективного ингибитора индукцибельной NOS аминоганидина в этих условиях не приводит к NF-κB-зависимым изменениям состояния коллагеновых и неколлагеновых белков в тканях пародонта. Введение ингибитора NF-κB JSH-23 сопровождается повышением коллагенопротективного действия L-аргинина в мягких и костной тканях пародонта.

Ключевые слова: метаболический синдром, ядерный фактор κB, оксид азота, NO - синтазы, пародонт, соединительная ткань.

Ljashenko L.I., Kostenko V.A. The role of NF-κB- mediated action of NO-synthases in disorganization of periodontal connective tissue under modeled metabolic syndrome // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, № 3. – С. 53 – 57.

NO- dependent disorders is an important part of the pathogenesis of metabolic syndrome (MS). It is known that a large number of effects produced by NO are mediated via the activation of nuclear factor κB (NF-κB). Excessive NO formation is accompanied by increased proteolysis and disorganization of connective tissue.

The aim of this study was to clarify the role of NF-κB in the mechanisms of disruption of periodontal connective tissue in rats depending on the functional state of NO-synthases (NOS) under modeled MS.

Methods. The research was carried out on 40 Wistar male rats weighing 180-230g in 8 series of experiments: during the first series necessary parameters of intact animals (control series) were studied; during the second series we investigated necessary parameters after the MS simulation, the during the third, fourth and fifth series when MS was modeling the animals were administered selective inhibitor of neuronal NO-synthase (nNOS) 7-nitroindazol (7-NI, 30 mg/kg), a selective inhibitor of inducible NO-synthase (iNOS) - aminoguanidine (20 mg/kg)

and NO-synthase substrate - L-arginine (500 mg/kg). During the sixth, seventh and eighth series against the background of modeled MS in addition to the above mentioned substances the rats were administered an inhibitor of NF- κ B activation II - JSH-23 (4-methyl-N-(3-phenylpropyl) benzene -1,2-diamine, 1 mg/kg). All compounds were administered intraperitoneally twice a week for a period of MS modeling.

The state of collagen was assessed by the content of free oxyproline (FO) in the soft tissues and bone tissues. The level of proteoglycans was assessed by their monomers – glycosaminoglycans (GAG).

Results. MS modeling is accompanied by increased FO concentration in bone and soft tissues by 61.8 % ($p < 0.001$) and 68.3 % ($p < 0.001$) respectively, increased GAG by 64.3 % ($p < 0.001$) and 80.9 % ($p < 0.001$).

The introduction of 7-NI increases FO concentration in soft and bone periodontal tissues of the rats by 23.8 % ($p < 0.001$) and by 21.8 % ($p < 0.001$), GAG by 19.6 % ($p < 0.001$) and 10.6 % ($p < 0.01$) compared with the data of the second series. Under the combined effect produced by 7-NI and JSH-23 FO concentration and GAG decreases in periodontal soft tissues by 20.5 % ($p < 0.01$) and 20.8 % ($p < 0.01$), in periodontal bone tissue by 24.5 % ($p < 0.001$) and by 16.0 % ($p < 0.01$) compared to the results of the third series.

The introduction of aminoguanidine limits FO content in soft and bone periodontal tissue by 40.0 % ($p < 0.001$) and 43.4 % ($p < 0.001$), GAG by 36.5 % ($p < 0.001$) and 34.1 % ($p < 0.001$) compared with the data of the second series. Under the combined effect produced by aminoguanidine and JSH-23 the concentration of GAG and FO in periodontal tissues is remaining reduced.

The introduction of L-arginine under conditions of MS decreases FO concentration in soft and bone periodontal tissue by 32.8 % ($p < 0.001$) and 30.8 % ($p < 0.001$), GAG by 27.0 % ($p < 0.001$) and 32.4 % ($p < 0.001$) compared with the data of the second series. Under the combined effect produced by L-arginine and JSH-23 in the conditions of modeled MS FO concentration was significantly reduced in periodontal soft tissues by 25.1 % ($p < 0.01$), the periodontal tissue by 21.6 % ($p < 0.01$) compared with the data of the fifth series. GAG content did not change significantly.

Conclusions: 1) The ability of nNOS to limit the disruption of periodontal connective tissue (collagenolysis and proteoglycan depolymerization) in modeled MS is NF- κ B- mediated. 2) Effect of selective iNOS inhibitor aminoguanidine in modeled MS is not accompanied by NF- κ B- dependent changes in the state of the collagen and non-collagen fibers in the periodontal tissues. 3) Introduction of an inhibitor NF- κ B JSH-23 under MS is accompanied by increased collagen-protecting action of L-arginine in soft and bone tissues of periodontium.

Keywords: metabolic syndrome, nuclear factor κ B, nitric oxide, NO- synthases, periodontium, connective tissue.

Численні дослідження повідомляють про позитивний зв'язок між метаболічним синдромом (МС) і пародонтитом [4, 10]. Деякі автори вважають доцільним розглядати пародонтоз як компонент МС [10]. Важливою ланкою патогенезу останнього є ендотеліальна дисфункція та NO-залежні порушення метаболізму [3]. Відомо, що значна кількість ефектів NO опосередковується за допомогою активації транскрипційного ядерного фактора κ B (NF- κ B) [9]. В останні роки висунуто припущення, що порушення NF- κ B сигналізації може бути загальною ланкою, яка об'єднує всі компоненти МС та призводить до інсулінорезистентності, ліпотоксичності, системної гіперцитокінемії та артеріальної гіпертензії [2].

Надлишкове утворення NO супроводжується посиленням вироблення активних форм кисню та інших факторів, що сприяють протеолізу та дезорганізації сполучної тканини [7]. Остання відіграє важливу роль у підтримці гомеостазу. Її фібрилярні компоненти – колагенові волокна та основна речовина (протеогліка-

ни та глікопротеїни) – забезпечують еластичні властивості міжклітинного матрикса, зв'язують іони Ca^{2+} , затримують воду і забезпечують селективну проникність, при цьому виявляючи високу чутливість до впливу патогенних чинників ендо- та екзогенної природи [5].

Мета роботи. З'ясувати роль NF- κ B у механізмах дезорганізації сполучної тканини пародонта щурів, залежних від функціонального стану NO-синтаз (NOS), за умов моделювання МС.

Матеріали та методи. Дослідження були проведені на 40 білих щурах-самцях лінії Вістар, з масою тіла 180-230 г у 8-ми серіях дослідів: у першій необхідні показники вивчали у інтактних тварин (контрольна серія), у другій - після моделювання МС, у третій, четвертій і п'ятій серіях - протягом відтворення МС тваринам вводили відповідно селективний інгібітор нейрональної NO-синтази (nNOS) 7-нітроіндазол (7-NI), селективний інгібітор iNOS - аміногуанідин і субстрат NO-синтазної реакції - L-аргінин, у шостій, сьомій та восьмій – поряд з наве-

деними вище речовинами, щурам, на тлі моделювання МС, вводили інгібітор активації NF-κB II - JSH-23 (4-метил-N-(3-фенілпропил) бензол-1,2-диамін).

Для моделювання МС гризунам протягом двох місяців призначали 20% водний розчин фруктози для пиття та "дієту західного типу", що містить такі складові: рафіноване пшеничне борошно – 45 %, сухе знежирене коров'яче молоко – 20 %, крохмаль – 10 %, столовий маргарин (зі складом жирів 82 %) – 20 %, перекиснена соняшникова олія – 4 %, натрію хлорид – 1 %. 7-NI ("Sigma", США) призначали в дозі 30 мг/кг [12], аміногуанідин ("Sigma", США) - 20 мг/кг [13], L-аргінін ("Kyowa Hakko Kogyo Co LTD", Японія) - 500 мг/кг [1], JSH-23 ("Santa Cruz Biotechnology", ФРН) - 1 мг/кг маси тіла тварини [11]. Усі сполуки вводили внутрішньоочередово 2 рази на тиждень, протягом періоду відтворення МС. Тварин декапітували під ефірним наркозом. Стан колагену визначали за вмістом у м'яких і кістковій тканинах вільного оксипроліну (ВО) [6]. Стан протеогліканів оцінювали шляхом визначення їх мономерів глікозаміногліканів (ГАГ) [8].

Отримані цифрові дані обробляли варіаційно-статистичним методом з використанням критерію Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Відтворення МС супроводжується збільшенням у м'яких і кістковій

тканинах пародонта концентрації мономерів колагенових і неколагенових білків: ВО – відповідно, на 61,8 % (p<0,001) та 68,3 % (p<0,001), ГАГ – на 64,3 % (p<0,001) та 80,9 % (p<0,001). Це свідчить про те, що розвиток МС супроводжується дезорганізацією сполучної тканини пародонту, яка включає активацію колагенолізу і деполімеризацією протеогліканів як у м'яких тканинах, так і у кістковій.

Нами виявлено, що на стан біополімерів сполучної тканини пародонту, значною мірою впливає функціональна активність NOS.

Введення 7-NI достовірно підвищує у м'яких і кістковій тканинах пародонту щурів концентрацію ВО – відповідно, на 23,8 % (p<0,001) та 21,8 % (p<0,001), ГАГ – на 19,6 % (p<0,001) та 10,6 % (p<0,01), у порівнянні з даними другої серії (таблиця 1).

Для дослідження можливої ролі NF-κB у реалізації ефектів nNOS на зміни мономерів колагенових і неколагенових білків у тканинах пародонту за умов відтворення експериментального МС щурам призначали 7-NI та JSH-23. За цих умов концентрація ВО та ГАГ достовірно знижується у м'яких тканинах пародонта – відповідно, на 20,5 % (p<0,01) та 20,8 % (p<0,01); у кістковій тканині пародонту – відповідно, на 24,5 % (p<0,001) та 16,0 % (p<0,01), у порівнянні з результатом третьої серії.

Таблиця 1. Вплив JSH-23 на зміни мономерів колагенових і неколагенових білків у тканинах пародонту за умов МС і пригнічення nNOS (M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ 7-NI	+ 7-NI + JSH-23
У м'яких тканинах пародонту				
ВО, мкмоль/г	3,82±0,24	6,18±0,18*	7,65±0,17 */**	6,08±0,41 */***
ГАГ, мкмоль/г	1,15±0,07	1,89±0,04*	2,26±0,05 */**	1,79±0,10 */***
У кістковій тканині пародонту				
ВО, мкмоль/г	3,22±0,20	5,42±0,14*	6,60±0,16 */**	4,98±0,27 */***
ГАГ, мкмоль/г	0,94±0,04	1,7±0,04*	1,88±0,02 */**	1,58±0,06 */***

Примітки: * - p <0,05, при порівнянні з даними інтактних щурів; ** - P <0,05, при порівнянні з даними другої серії; *** - P <0,05, при порівнянні з даними третьої серії.

Таким чином, у цьому випадку здатність селективного інгібітора nNOS 7-NI підвищувати концентрацію ВО та ГАГ усувається при застосуванні JSH-23. Це свідчить про те, що підвищення інтенсивності колагенлізу та деполімеризації протеогліканів у м'яких і кістковій тканинах пародонту, за умов відтворення МС, пов'язано з утратою тормозного впливу nNOS на NF-κB.

Раніше у досліджах *in vitro* та *in vivo* було показано, що введення інгібіто-

ра nNOS супроводжується активацією NF-κB, зниженням вмісту інгібіторного білка ІκВα з наступним підвищенням мРНК іNOS, вмісту та активності цього ферменту [13].

Введення аміногуанідину (таблиця 2) обмежує у м'яких і кістковій тканинах пародонту вміст ВО – відповідно, на 40,0 % (p<0,001) та 43,4 % (p<0,001), ГАГ - на 36,5 % (p<0,001) та 34,1 % (p<0,001), у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 2. Вплив JSH-23 на зміни мономерів колагенових і неколагенових білків у тканинах пародонту за умов МС і пригнічення іNOS (M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ аміно-гуанідин	+ аміногуанідин + JSH-23
У м'яких тканинах пародонту				
ВО, мкмоль/г	3,82±0,24	6,18±0,18*	3,71±0,21**	4,15±0,21**
ГАГ, мкмоль/г	1,15±0,07	1,89±0,04*	1,20±0,07**	1,35±0,07**
У кістковій тканині пародонту				
ВО, мкмоль/г	3,22±0,20	5,42±0,14*	3,07±0,18**	3,36±0,19**
ГАГ, мкмоль/г	0,94±0,04	1,7±0,04*	1,12±0,03 */**	1,18±0,05 */**

Примітки: * - p <0,05, при порівнянні з даними інтактних щурів; ** - P <0,05, при порівнянні з даними другої серії; *** - P <0,05, при порівнянні з даними четвертої серії.

При поєднаному впливі селективного інгібітора іNOS аміногуанідину та JSH-23, за умов відтворення експериментального МС, у тканинах пародонту зберігається знижена концентрація ВО та ГАГ. Введення L-аргініну за умов МС

знижує у м'яких і кістковій тканинах пародонту (таблиця 3) концентрацію ВО – відповідно, на 32,8 % (p<0,001) та 30,8 % (p<0,001), ГАГ – на 27,0 % (p<0,001) та 32,4 % (p<0,001), у порівнянні з даними другої серії.

Таблиця 3. Вплив JSH-23 на зміни мономерів колагенових і неколагенових білків у тканинах пародонту за умов МС і введення + L-аргініну (M±m, n=20)

Показники	Серії дослідів			
	Інтактні тварини	Відтворення МС		
		Контроль	+ L-аргінін	+ L-аргінін + JSH-23
У м'яких тканинах пародонту				
ВО, мкмоль/г	3,82±0,24	6,18±0,18*	4,15±0,28**	3,11±0,05 */**/**
ГАГ, мкмоль/г	1,15±0,07	1,89±0,04*	1,38±0,09**	1,30±0,06 **
У кістковій тканині пародонту				
ВО, мкмоль/г	3,22±0,20	5,42±0,14*	3,75±0,22 **	2,94±0,05 */**
ГАГ, мкмоль/г	0,94±0,04	1,7±0,04*	1,15±0,05 */**	1,01±0,05 **

Примітки: * - $p < 0,05$, при порівнянні з даними інтактних щурів; ** - $P < 0,05$, при порівнянні з даними другої серії; *** - $P < 0,05$, при порівнянні з даними п'ятої серії.

При сполученому впливі L-аргініну та JSH-23 - за умов відтворення експериментального МС, концентрація ВО достовірно знижується у м'яких тканинах пародонту – на 25,1 % ($p < 0,01$), у кістковій тканині пародонту – на 21,6 % ($p < 0,01$), у порівнянні з даними п'ятої серії. Вміст ГАГ істотно не змінюється.

Таким чином, у цьому випадку пригнічення активності NF- κ B супроводжується підвищенням колагенопротективної дії L-аргініну в м'яких і кістковій тканинах пародонту.

Висновки: 1) Здатність pNOS об-

межувати дезорганізацію сполучної тканини пародонта (колагеноліз і деполімеризацію протеогліканів) за умов експериментального МС є NF- κ B-опосередкованою. 2) Дія селективного інгібітора iNOS аміногуанідину, за умов експериментального МС, не супроводжується NF- κ B-залежними змінами стану колагенових і неколагенових білків у тканинах пародонту. 3) Введення інгібітора NF- κ B JSH-23, за умов експериментального МС, супроводжується підвищенням колагенопротективної дії L-аргініну в м'яких і кістковій тканинах пародонту.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Дробінська О. Вплив L-аргініну на ураження в слизовій оболонці шлунка, спричинені серотоніном / О. Дробінська, Л. Остапченко, О. Цирюк [та ін.] // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. – 2004. – Вип. 38. – С. 201-204.
2. Кайдашев І.П. Активация NF- κ B при метаболічному синдромі / І.П. Кайдашев // Фізіол. журн. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 93-101.
3. Мазуров В.И. Эндотелиальная дисфункция при метаболіческом синдроме / В.И. Мазуров, В.А. Якушева // Эфферентная терапия. – 2006. – Т. 12, № 3. – С. 19-25.
4. Романенко И.Г. Генерализованный пародонтит и метаболіческий синдром. Единство патогенетических механизмов развития / И.Г. Романенко, Д.Ю. Крючков // Крымск. терапевт. журн. – 2011. – № 1. – С. 60-67.
5. Тарасенко Л.М. Метаболіческое обеспечение пародонта при эмоциональном стрессе / Л.М. Тарасенко, К.С. Непорада // Укр. стоматол. альманах. – 2001. - № 5. – С. 20-22.
6. Тетянец С.С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови / С.С. Тетянец // Лабор. дело. – 1985. - № 1. – С. 61-62.
7. Фартушна А.М. NO-залежні зміни сполучнотканинних структур ясен білих щурів за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / А.М. Фартушна, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2012. – Т. 12, № 1-2. – С. 215-218.
8. Шараев П.Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П.Н. Шараев // Лаб. дело. – 1987. – № 5. – С. 530-532.
9. Brady T.C. Extracellular superoxide dismutase is upregulated with inducible nitric oxide synthase after NF-kappa B activation / T.C. Brady, L.Y. Chang, B.J. Day, J.D. Crapo // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 273, № 5 (Pt 1). – P. L1002- L1006.
10. Kumar A. JSH-23 targets nuclear factor-kappa B and reverses various deficits in experimental diabetic neuropathy: effect on neuroinflammation and antioxidant defence / A. Kumar, G. Negi, S.S. Sharma // Diabetes Obes. Metab. – 2011. – Vol. 13, № 8. – P.750-758.
11. Laude K. NO produced by endothelial NO synthase is a mediator of delayed preconditioning-induced endothelial protection / K. Laude, J. Favre, C. Thuillez [et al.] // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. – 2003. – Vol. 284, № 6. – P. H2053-H2060.
12. Qu X.-W. Neuronal nitric oxide synthase (NOS) regulates the expression of inducible NOS in rat small intestine via modulation of nuclear factor kappa B / X.-W. Qu, H. Wang, I.G. de Plaen [et al.] // FASEB. – 2001. – Vol. 15. – P. 439-446.
13. Takeuchi K. Role of endogenous nitric oxide (NO) and NO synthases in healing of indomethacin-induced intestinal ulcers in rats / K. Takeuchi, R. Hatazawa, M. Tanigami [et al.] // Life Sci. – 2007. – Vol. 80, № 4. – P. 329-336.