

## **Естественные науки**

### **Медицина**

**Аветиков Д.С.**

**д. мед. н., профессор,**

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)

Кафедра хирургической стоматологии и  
челюстно-лицевой хирургии с пластической и  
реконструктивной хирургией головы и шеи

г. Полтава, Украина

**Бондаренко В.В.**

**к. мед. н., ассистент,**

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)

Кафедра хирургической стоматологии и  
челюстно-лицевой хирургии с пластической и  
реконструктивной хирургией головы и шеи

г. Полтава, Украина

**Гаврильев В.Н.**

**к. мед. н., ассистент,**

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)

Кафедра хирургической стоматологии и  
челюстно-лицевой хирургии с пластической и  
реконструктивной хирургией головы и шеи

г. Полтава, Украина

**Бойко И.В.**

**к. мед. н., ассистент,**

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)

Кафедра хирургической стоматологии и  
челюстно-лицевой хирургии с пластической и  
реконструктивной хирургией головы и шеи

г. Полтава, Украина

**Данильченко С.И.**

**к. мед. н., доцент,**

Высшее государственное учебное заведение Украины  
«Украинская медицинская стоматологическая академия» (г. Полтава)

Кафедра медицины чрезвычайных ситуаций с  
оперативной хирургией и топографической анатомией

г. Полтава, Украина

## **ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОЙ НИТРАТНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА В ТКАНЯХ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ**

Соединения азота являются необходимыми компонентами метаболизма всех организмов. В основном это производные аммиака, амины, аминокислоты, азотистые основания нуклеотидов. Но кроме этих соединений в биосфере значительную часть имеет газ  $N_2$ , нитраты ( $NO_3^-$ ), и нитриты ( $NO_2^-$ ), оксид азота ( $NO$ ,  $NO_2$ ). Химизация ноосферы привела к резкому увеличению концентрации в ней кислородных соединений. Распространение нитратов в окружающей среде и их воздействие на организм человека в целом, одна из проблем для государства с развитым агропромышленным комплексом [1, с. 177; 4, с. 172; 9, с. 14]. Одной из причин является образование в организме третичного мессенджера оксида азота ( $NO$ ) как с цитруллина, так и из нитратов и нитритов [6, с. 51; 11, с. 173]. Наименее изучен ответ слюнных желез содержащих нитратредуктазы при усиленной генерации  $NO$  из экзогенных и эндогенных источников. Основываясь на патобиохимических свойствах избыточного образования  $NO$ , возможно изучение действия кислорода и медьсодержащих соединений модифицирующих активность кислородсодержащих соединений

азота и действие NO [4, с. 173; 8, с. 816; 9, с. 15]. Оксид азота является важным биорегулятором, вместе с тем образование большого количества данного соединения может обуславливать негативные изменения в организме человека и теплокровных животных, которые связаны со свободнорадикальными свойствами его молекулы, дает неспаренный электрон, нарушая действие железо- и медьсодержащих биополимеров аконитазы, цитохромов [2, с. 158; 4, с. 174], благодаря чему образуется реакция с активными формами кислорода и мощным прооксидантом пероксонитритом [9, с. 818; 10, с. 11]. Действие нитратов в малых дозах приводит к хроническому отравлению. При их воздействии развивается гемическая гипоксия благодаря которой если не принять лечебных мер в клетках развивается тканевая гипоксия [5, с. 166; 11, с. 174]. В организме млекопитающих нитраты трансформируются в более токсичные соединения нитриты, которые повреждают внутренне клеточные структуры и за счет действия которых развивается тканевая гипоксия [13, с. 65].

**Целью нашего исследования** было исследовать действие нитритов на слюнные железы. Обстоятельно мало кто исследовал энергетический метаболизм у них на фоне хронической интоксикации нитратом натрия, и их функцию. Такие воздействия не могут пройти не отразившись на функцию организма в целом. Слюнные железы относятся к органам двойного назначения: экскреторного и инкреторного, и подавление их функции отображается на действия эндокринной системы в целом. Наши исследования направлены на предупреждение более тяжелых последствий которые могут возникнуть в организме человека при воздействии малых доз нитратов. Работа выполнена в рамках НИР «Врожденные и приобретенные морфо-функциональные нарушения зубочелюстной системы, органов, тканей головы и шеи, их диагностики, хирургическое и консервативное лечение (государственный регистрационный № 0111U006301)»

#### **Материалы и методы исследования.**

Исследование проводили на 100 крысах линии Вистар весом 160-250 гр. в 10-ти сериях опыта: 1-я группа интактные животные (контроль), 2-я группа

после отравления в течение 14, 30, 60, 90 суток. Хроническую нитратную интоксикацию воспроизводили путем введения в желудок нитрата натрия специальным зондом.

Тканевую навеску (слюнные железы) измельчали, продавливали через охлажденный пресс, 2 раза промывали в пятикратной среде выделения, после чего гомогенизировали тefлоновым пестиком в течение 30-90 сек. в 50 мл среды выделения. Гомогенат слюнных желез центрифугировали в угловом роторе рефрижераторной центрифуги ЦЛР-1 в течение 10 мин. при 600g для осаждения клеток, которые были неразрушенные в процессе гомогенизации. Супернатант центрифугировали 20 мин. при 8000 об/мин. При этом концентрация белка в суспензии составляла 40-60 мг/ml. Все операции связанные с получением гомогената и выделением митохондрий проводили при температуре 0...+2°C. Дыхательную и фосфорилирующую активность митохондрий определяли по Chance B. и Williams G.R. [14, с. 385; 15, с. 97] с помощью платинового кислородного электрода Кларка на полярографа LP -7E. Скорость дыхания измеряли при температуре 24°C в 1 ml среды инкубации, содержащие 120 M сахарозы, 60 mM KCl, 5 mM  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 8 mM сукцината, 30 mM трис-HCl, 5 mM  $\text{MgSO}_4$ , 0,25 mM ЭДТА, pH 4,7. Сущность метода заключается в скорости потребления кислорода митохондриями в присутствии АДФ (250 мкм). По кривым потребления кислорода рассчитывали скорость фосфорилирующего дыхания контролирующего  $V_3$  ( $V_3$  контролирующему состоянию 3 за Чанс - в присутствии субстрата кислорода и АДФ) и метаболическом  $V_4$  ( $V_4$  в метаболическом состоянии 4 за Чанс после фосфорилирования всего количества внесенного АДФ) дыхания. Кроме этого рассчитывали показатели, характеризующие степень окисления и фосфорилирования.

Дыхательный контроль (ДК) определяли по (B. Chance and G.R. Williams) [15, с. 100], отношение скорости дыхания в присутствии АДФ к скорости дыхания после того, как весь добавлен АДФ профосфорилировал в АТФ  $\text{ДК} = V_3/V_4$ ;

Коефіцієнт ефективності фосфорилювання (АДФ/О) – відношення кількості доданого АДФ (в нмоль) до кількості кисню (в натомах), поглинання за період фосфорилювання доданого АДФ.

### Результати та їх обговорення:

Длительность отравления животных была различной (показатели в таблице).

Таблица.

Показатели исследования	Статистические показатели	Інтактні тварини	14 діб	30 діб	60 діб	90 діб
V3, натом О/ хв. х мг	M ±m	22,4±1,30	27,6±2,96 P <0,01	17,67±1,04 P <0,01	12,56±0,72 P <0,001	10,47±0,60 P <0,001
V4, натом О/ хв. х мг	M ±m	18,06±1,07	18,56±1,08	17,16±1,02	15,90±0,89	15,17±0,86 P <0,05
Дихальний контроль	M ±m	1,24±0,13	1,54±0,16	1,03±0,11	0,79±0,08 P <0,01	0,69±0,07 P <0,001
АДФ/О, АДФ нмоль/натом О	M ±m	1,64±0,07	1,39±0,06 p <0,01	1,23±0,05 p <0,001	1,13±0,05 P <0,001	1,02±0,04 P <0,001
ЦХО од, акт.	M ±m	16,64±0,65	15,35±0,60	14,66±0,58 P <0,05	13,66±0,53 P <0,01	12,91±0,50 P <0,001

**Примечание.** В таблице допущенные данные **p** только для достоверных данных в сравнении с интактными животными.

После 14-суточного отравления отмечалось достоверное снижение V3 на 27,6%, после 30-суточного отравления на 21,1%, что приводит к более глубокому нарушению окислительного фосфорилювання. V4 недостоверно снижалось на 5%. Угнетение V3 является показателем снижения скорости фосфорилюющего дыхания, это ингибирует пути транспорта субстратов окисления к энергопреобразующей мембране митохондрий. В развитии диссимиляционного гипозергоза лежит нарушение транспорта субстратов и окисления в дыхательной цепи митохондрий, это ферменты цикла Кребса. Рост субстратного дефицита может проходить в условиях тканевой гипоксии при

снижении активности цикла окисления янтарной кислоты это шунт цикла трикарбоновых кислот и глутамат-оксалоацетаттроксакиназы что приводит к быстрому образованию альфа-кетоглутарата и сукцината, где происходит преобразование лимонных кислот. В связи с этим кислота не задействуется как крупнейший интенсивно окисляющий субстрат, в механизме адаптации организма к действию токсического фактора. Нарушение активности троксепарину который является субстратом окисления может быть связано с нарушением процессов анаэробного гликолиза. Нами было установлено, что хроническая нитратная интоксикация приводит к развитию гемической гипоксии при которой развивается тканевая гипоксия как цепная реакция в тканях слюнных желез, что нарушает энергетический метаболизм и торможением в них окислительных процессов. Метаболизм нитратов в оксиде азота ингибирует глицeroальдегид-3-фосфатдегидрогеназы в связи с нитрозолированием тиоловых групп фермента, что ограничивает способность компенсировать биоэнергетической недостаточность в тканях. На основе нашего исследования мы можем предположить, что происходит нарушение цикла трикарбоновых кислот, а это влияет на обменные процессы в мембранах митохондрий, тем самым нарушается аэробный тип дыхания, и включается анаэробный. Снижение скорости фoфoрилирующего дыхания (в метаболическом состоянии 3 за Чанс) является главным звеном в нарушении синтеза АТФ, вследствие чему снижается активность АТФ- синтазы и нарушаются процессы окисления и фосфорилирования. При снижении активности дыхательного контроля нарушается регуляция митохондриального дыхания, и нарушается взаимодействие между уровнем восстановленных носителей и состоянием фосфорилирования имея адениловые нуклеотиды. Нарушение всех этих процессов приводит к мысли об ослаблении связей субкомплексов F1 АТФ-синтазы на внутренней мембране митохондрий. Расстройство митохондриального дыхания и фосфорилирования в тканях слюнных желез при хронической нитратной интоксикации связано с действием продукта биотрансформации нитритов в оксид азота (NO). Эти процессы

приводят к ослаблению биосинтеза макроэргических соединений в свою очередь тормозят процессы биосинтеза белков, нуклеиновых кислот и других соединений что приводит к нарушению функции слюнных желез.

Таким образом Установлено, что при длительном поступлении нитратов в малом количестве приводит к их накоплению в тканях слюнных желез чем нарушают тканевое дыхание на клеточном уровне.

### **Перспективы дальнейших разработок в данном направлении**

Планируется дальнейшее исследование действия нитритов на функцию слюнных желез у крыс при длительном поступлении в организм в малом количестве в виде водного раствора.

### **Література:**

1. Аветіков Д.С. Тензіометричні характеристики нижньощелепної кістки щурів при моделюванні її перелому за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / Д. С. Аветіков, К. П. Локес // Актуальні проблеми сучасної медицини. вісник української медичної стоматологічної академії. - 2013 - Том 13.- N 2. - С. 177-179.
2. Агаджанян З.С. Роль цитохрома b5 и β-токоферола в митохондриальном окислении / З. С. Агаджанян [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013 - Том 156.-N 8. - С. 156-160
3. Горідько Т. М. Вплив N-стеароїлетаноламіну на активність ензимів антиоксидантного захисту та вміст стабільних метаболітів NO в гонадах та плазмі крові щурів із початковими стадіями стрептозотоциніндукованого цукрового діабету / Т. М. Горідько [та ін.] // Український біохімічний журнал. - 2012 - Том 84.-N 3. - С. 37-43
4. Дзугкоев С.Т. Влияние эндогенных регуляторов эндотелиальной NO-синтазы на гомеостаз оксида азота и липопротеины сыворотки крови при экспериментальном сахарном диабете / С. Т. Дзугкоев, В. А. Метельская, Ф. С. Дзугкоева // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013 – Том 156. -N 8. - С. 171-174.

5. Лазарева З.О. Механізми порушення мітохондріального дихання і окислювального фосфорилування в головному мозку білих щурів у ранньому і відновлювальному періодах гострої інтоксикації нітратом натрію / З.О. Лазарева // Актуальні питання морфогенезу. - 1996 - С. 166
6. Луценко Б.О. Зміни процесів продукції супероксидного аніон-радикалу у тканинах слизової оболонки шлунка білих щурів при відтворенні пептичної виразки за умов хронічної інтоксикації нітратом натрію / Б.О. Луценко // Вісник проблем біології і медицини. - 2007.-N2. - С. 50-52
7. Петрович Ю.А. Новые сведения о значении свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты в синовиальной жидкости и тканях височно-нижнечелюстного сустава при его патологии / Ю.А. Петрович, М.Н. Пузин, С.М. Киченко, Т.В. Сухова, Р.А. Хесин // Российский стоматологический журнал. - 2009. -N 6. - С. 52-55
8. Титов В. Ю. Может ли суммарное содержание нитрита и нитрата служить показателем интенсивности синтеза оксида азота (NO) в тканях организма / В. Ю. Титов [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2012 - Том 153.-N 6. - С. 816-819
9. Бобирьов В.М. Вплив тіотриазоліну на показники вільнорадикального окиснення ліпідів і активність антиоксидантних ферментів на тлі хронічного надходження пестицидів прооксидантної дії / В. М. Бобирьов, Я. А. Цветкова, Г. Ю. Островська // Одеський медичний журнал. - 2011.-N 3. - С. 12-15
10. Костенко В.О. Роль слинних залоз у механізмах ауторегуляції рівня оксиду азоту в організмі ссавців та їх порушень / В. О. Костенко [и др.] // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2013 - Том 13.-N 2. - С. 10-14
11. Рибалов О.В.Клініко-цитологічна характеристика хронічного паротиту у дітей / О.В. Рибалов, О.І. Яценко, О.Ю. Андріянова // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2008 - Том8.-N3. - С. 171-175



12. Нетюхайло Л.Г. Кореляційний взаємозв'язок між клітинними реакціями ушкодженої шкіри і периферійної крові при експериментальній опіковій хворобі / Л.Г. Нетюхайло, С.В. Харченко // Вісник проблем біології і медицини. - 2011.-N 1. - С. 127-131
13. Левков А.А.Зміни процесів пероксидного окиснення ліпідів в тканинах тонкої кишки за умов її гострої непрохідності, залежні від функціонування NO-синтаз / А.А. Левков, В.О. Костенко, А.В. Міщенко, Москаленко П.О. // Актуальні проблеми сучасної медицини. Вісник Української медичної стоматологічної академії. - 2011 - Том11.-N3. - С. 64-66
14. Chance Respiratory enzymes in oxidative phosphorylation / B. Chance , G.R.Williams, // J.Biol.Chem.-1955.-V. 217, № 1. – P.383-395.
15. Chance The respiratory chain and oxydative phosphorylation / B. Chance , G.R.Williams, // Adv. Enzymol.-1956.- P.65-134.