

**О. А. Макаренко**<sup>1</sup>, д. б. н., завідувач кафедри

**В. В. Кіка**<sup>1</sup>, аспірант

**Л. М. Мудрик**<sup>2</sup>, науковий співробітник

<sup>1</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра фізіології людини і тварин, вул. Дворянська 2, Одеса, 65082, Україна, e-mail: makolga29@gmail.com

<sup>2</sup>Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН», вул. Рішельєвська, 11, Одеса, 65026, Україна

## ДИСБАЛАНС АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ ЩЕЛЕП ЩУРІВ ПРИ ТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ ЕТАНОЛУ

В експериментальному дослідженні на щурах встановлено підвищення ступеня атрофії альвеолярного відростку, підвищення активності біохімічних маркерів резорбції кістки (активності еластази та кислій фосфатази), зниження показника кісткоутворення (активності лужної фосфатази) у кістковій тканині щелеп щурів на тлі хронічного вживання алкоголю. Алкогольна інтоксикація сприяла суттєвому зниженню активності ферментів антиоксидантного захисту на фоні інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів у кістковій тканині щелеп.

**Ключові слова:** щури; алкогольна інтоксикація; кісткова тканина; антиоксидантна система; перекисне окислення ліпідів.

Хронічна алкогольна інтоксикація є поширеним екзогенним впливом на організм. В Глобальному докладі ВООЗ про стан справ в області алкоголю та здоров'я 2018 року повідомляють, що в 2016 році зловживання алкоголем призвело до смерті близько 3 млн. людей (5,3 % від всіх смертей) у всьому світі. Смертність від зловживання алкоголем вище за смертність від туберкульозу, ВІЛ/СНІД та діабету. 13,5 % смертей серед людей віком 20-39 років пов'язано із вживанням алкоголю [9].

Ряд зарубіжних досліджень на різних видах тварин встановив порушення остеогенезу при надмірному споживанні алкоголю, що призводить до зміни кортикальної і губчастої архітектури, зниження мінеральної щільності кісткової тканини та зниження міцності кісток [6, 11, 12, 13, 14, 19].

До теперішнього часу незрозуміло, що є пусковим механізмом резорбції кісткової тканини під впливом алкоголю. Оскільки відомо, що реакції перетворення етанолу до оцтової кислоти супроводжуються збільшенням продукції активних форм кисню, накопиченням їх у багатьох органах [3], можна припустити, що формування окисного стресу при тривалому споживанні алкоголю має місце і у кістковій тканині.

Метою роботи стало дослідження впливу тривалого введення етанолу самкам та самцям лабораторних щурів на показники резорбції, остеогенезу, а також на стан антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині.

### **Матеріали і методи дослідження**

Експеримент проводили на лабораторних щурах 2 місячного віку на початок досліду в віварії ОНУ імені І. І. Мечникова. Тварини були поділені на 4 групи (по 7 щурів в групі): дві інтактні (група 1 – самці, група 2 – самки) та дві дослідні групи (група 3 – самці, група 4 – самки), яким в питну воду додавали етиловий спирт, починаючи з 5 % і, поступово збільшуючи концентрацію до 15 % (по 2 % в 10 днів) [9]. Тривалість експерименту склала 108 днів. Щурів виводили з досліду під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг), шляхом тотального кровопускання з серця. Тварин утримували в стандартних умовах світлового режиму і харчовому раціоні віварію університету, згідно з правилами утримання експериментальних тварин, встановлених Директивою Європейського парламенту та Ради (2010/63/EU) та наказом Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 р. № 249 [4].

Для проведення морфометричних досліджень виділяли стегнові кістки та останній поперековий хребець перед куприковим відділом. Визначали щільність цих кісток за методом І. В. Ходакова [1]. Виділяли нижні щелепи, у яких підраховували ступінь атрофії альвеолярного відростка. Для проведення біохімічних досліджень у гомогенатах кісткової тканини щелеп (75 мг/мл 0,1 М цитратного буферу рН 6,1) визначали активність еластази, активність кислоти (далі КФ) та лужної фосфатази (далі ЛФ) [2], а також активність антиоксидантних ферментів – супероксиддисмутази (далі СОД) [16], каталази [2], глутатіонредуктази [2] та вміст малонового діальдегіду (далі МДА) [2].

Показники представлені у вигляді середнього значення та похибки, статистичну обробку результатів досліджень проводили за методом Ст'юдента-Фішера. Достовірними відхиленнями вважали ті, що знаходились в межах вірогідності за таблицями Ст'юдента,  $p \leq 0,05$ .

### **Результати дослідження та їх обговорення**

У табл. 1 представлені результати визначення щільності стегнових кісток та поперекових хребців. Проведене дослідження не виявило статистично значущих відмінностей між інтактними групами та щурами з хронічною алкогольною інтоксикацією. Намітилася лише тенденція до збільшення щільності хребців і стегнової кістки у групах тварин, які отримували алкоголь. Це може бути пов'язано з уповільненням швидкості ремоделювання кісткової тканини під впливом хронічної алкогольної інтоксикації.

Результати визначення атрофії альвеолярного відростку дослідних щурів показують вірогідне підвищення цього показника на 15,0 % у самців ( $p < 0,01$ ) та на 18,0 % у самок ( $p < 0,002$ ), які тривало вживали етанол. Отримані дані

Таблиця 1

**Щільність стегнової кістки та поперекових хребців щурів після тривалого отримання етанолу**

Група	Стегнова кістка		Поперековий хребець		Атрофія альвеолярного відростку	
	самці	самки	самці	самки	самці	самки
Інтактна	1,45 ± 0,02	1,49 ± 0,02	1,34 ± 0,02	1,32 ± 0,03	26,7 ± 0,9	23,3 ± 0,5
Алкоголь	1,46 ± 0,03 p > 0,7	1,50 ± 0,01 p > 0,7	1,36 ± 0,03 p > 0,6	1,35 ± 0,02 p > 0,4	30,7 ± 1,0 p < 0,01	27,5 ± 1,0 p < 0,002

Примітка: p – вірогідність по відношенню до показнику у інтактної групи.

свідчать про посилення резорбції кісткової тканини щелеп щурів під впливом хронічної алкогольної інтоксикації.

Отримані результати морфометричного аналізу різних кісток лабораторних щурів вказують, що щелепні кістки є більш чутливими до негативного впливу етанолу. Можливо це пов'язано з більш вираженим функціональним навантаженням на щелепи в порівнянні з стегновими кістками і хребцями у гризунів.

Встановлені нами факти узгоджуються з даними інших дослідників щодо негативного впливу споживання алкоголю на ступінь атрофії альвеолярного відростка [5, 15], які показали високий ступінь втрати альвеолярного відростка та стимуляцію розвитку пародонтиту після тривалого вживання алкоголю [15].

Тому на наступному етапі у щелепних кістках досліджуваних тварин визначали біохімічні маркери резорбції (активність еластази та КФ), показник остеогенезу (активність ЛФ), активність антиоксидантних ферментів та маркер перекисного окиснення ліпідів МДА. Результати цього дослідження наведені у табл. 2.

Визначення активності КФ у щелепах щурів встановили вірогідне збільшення цього показнику руйнуванням гідроксиапатиту кісткової тканини після тривалого введення тваринам алкоголю. Так, в щелепах самців після вживання етанолу активність КФ підвищилася на 35,2 % (p < 0,002), а у самиць – на 32,0 % (p < 0,02). Інші дослідники пояснюють цей факт збільшенням кількості клітин з тарtrat-резистентної КФ [5] та зростанням кількості остеобластів [8] під впливом алкоголю.

Поряд з цим нами встановлено також посилений гідроліз білкової матриці кісткової тканини щелеп щурів після тривалого отримання етанолу, про що свідчить активація кісткової еластази на 38,4 % у самців (p < 0,02) та на 26,0 % у самиць (p > 0,1), які вживали етанол.

Алкогольна інтоксикація також негативно впливала на показник кісткоутворення – активність ЛФ, яка вірогідно знижувалася у кістковій тканині щелеп

самців на 39,8 % ( $p < 0,02$ ) та на 25,0 % в гомогенатах щелеп самиць ( $p > 0,2$ ), яким тривало вводили етанол. Цей факт підтверджує дослідження R. C. Rosa et al. [19] про значне зниження експресії ЛФ і остеокальцину при алкогольної інтоксикації.

Таблиця 2

**Біохімічні показники у щелепі щурів після тривалого отримання етанолу**

Показники	Самці		Самки	
	інтактна	алкогольна інтоксикація	інтактна	алкогольна інтоксикація
Активність кислої фосфатази, мккат/кг	$0,71 \pm 0,03$	$0,96 \pm 0,06$ $p < 0,002$	$0,75 \pm 0,03$	$0,99 \pm 0,09$ $p < 0,02$
Активність еластази, мккат/кг	$7,95 \pm 0,77$	$11,00 \pm 1,01$ $p < 0,02$	$8,00 \pm 0,94$	$10,08 \pm 0,58$ $p > 0,1$
Активність лужної фосфатази, мккат/кг	$4,80 \pm 0,53$	$2,89 \pm 0,43$ $p < 0,02$	$4,27 \pm 0,53$	$3,20 \pm 0,52$ $p > 0,2$
Активність каталази, мкат/кг	$2,10 \pm 0,07$	$2,80 \pm 0,15$ $p < 0,001$	$2,10 \pm 0,15$	$2,91 \pm 0,06$ $p < 0,001$
Активність супероксиддисмутази, у.о./кг	$10,16 \pm 0,25$	$8,58 \pm 0,47$ $p < 0,01$	$9,71 \pm 0,27$	$7,93 \pm 0,30$ $p < 0,01$
Активність глутатіонредуктази, нмоль/с/мл	$338,5 \pm 34,6$	$226,6 \pm 18,1$ $p < 0,02$	$379,2 \pm 15,6$	$229,9 \pm 10,1$ $p < 0,001$
Концентрація МДА, ммоль/кг	$8,77 \pm 0,66$	$13,92 \pm 0,73$ $p < 0,001$	$7,94 \pm 0,58$	$11,50 \pm 0,49$ $p < 0,001$

Примітка.  $p$  – вірогідність по відношенню до показнику у інтактній групі

Активність СОД, каталази, глутатіонпероксидази, глутатіонредуктази використовуються як показники для оцінки рівня окисного стресу.

Алкогольна інтоксикація призвела до зниження активності СОД у кісткової тканині самців на 15,6 % ( $p < 0,01$ ), а у самиць – на 18,3 % ( $p < 0,01$ ). Причиною зниження активності ферменту може бути стимуляція етанолом ацетилювання СОД по двом функціонально значущим сайтам лізину, K68 і K122 [4, 10]. Ацетилювання цих сайтів значно інгібує активність СОД2, що призводить як до збільшення концентрації супероксиду, так і до геномної нестабільності [10].

Навпаки, активність каталази у кісткової тканині самців, яким вводили алкоголь, збільшилася на 33,3 % ( $p < 0,001$ ), а у кісткової тканині самок – на 38,6 % ( $p < 0,001$ ). Підвищення активності каталази у кістковій тканині щелеп можна пояснити накопиченням супероксиду внаслідок зниженої активності СОД під впливом етанолу.

Активність глутатіонредуктази кісткової тканини щелеп після тривалого вживання етанолу зменшилась у самців на 33,1 % ( $p < 0,02$ ), у самок – на 39,4 % ( $p < 0,001$ ). Встановлені нами факти погоджуються з даними P. S. Harris et al. про значне зниження активності глутатіонпероксидази, шляхом ацетилювання ферменту по K322, та вмісту глутатіону, а активність глутатіонредуктази корелює з рівнем глутатіону [10]. Дослідження A. Ramírez et al. та O. R. Oyenihi et al. [17, 18] показали зниження рівня відновленого глутатіону у клітинах під впливом етанолу, що пов'язано з окислювальним стресом та прямим кон'югуванням глутатіону з ацетальдегідом та іншими інтермедіатами окислення спирту.

Добре відомо, що перекисне окислення ліпідів (далі ПОЛ) як основний механізм руйнування клітинної мембрани і пошкодження клітин є спільною рисою як при гострому, так і при хронічному вживанні алкоголю. Нами встановлено збільшення вмісту маркера ПОЛ – МДА у кісткової тканині на 58,7 % у самців ( $p < 0,001$ ) та на 44,8 % у самиць ( $p < 0,001$ ), що вказує на посилення ПОЛ і порушення механізмів антиоксидантного захисту у кісткової тканині щелеп щурів після тривалого вживання етанолу. Отримані дані з підвищення рівня МДА у кістковій тканині щелеп тварин, які вживали алкоголь, узгоджуються з іншими результатами збільшення рівня МДА під впливом етанолу в печінці [17, 18, 20].

Підводячи загальний висновок виконаного дослідження, необхідно заключити наступне. Тривале вживання етанолу стимулює атрофію альвеолярного відростку щелепи щурів, що свідчить про посилення резорбції кісткової тканини та призводить до зниження швидкості ремоделювання кісткової тканини.

Біохімічні дослідження встановили активацію процесів резорбції на тлі зниження інтенсивності кісткоутворення у кістковій тканині щелеп тварин, які тривало вживали етанол. Активність антиоксидантного захисту (СОД та глутатіонредуктази) у кісткової тканині щелеп щурів після отримання алкоголю була значно зниженою на тлі активації каталази та інтенсифікації ПОЛ.

Тобто тривале споживання етанолу індукує окислювальний дисбаланс у кістковій тканині, якій є пусковим патогенетичним фактором подальшого розвитку резорбційних та прозапальних процесів у кістковій тканині, а також гальмування кісткоутворення. Ці висновки підтверджують дослідження D. R. Frazão et al. [7], а також de J. M. Almeida et al. [5], які вказують на стимуляцію алкоголем остеокластогенезу за рахунок збільшення експресії ліганду рецептора ядерного фактора  $\kappa\text{B}$  (RANK), що опосередковується виробництвом активних форм кисню.

### **Висновки**

1. Тривале введення етанолу призвело до підвищення атрофії альвеолярної кістки на 15,0 % у самців та на 18,0 % у самок, а також сприяло тенденції до збільшення щільності хребців і стегнової кістки самців та самок щурів.
2. Після вживання етанолу активність кісткової кислоти фосфатази підви-

щилася у самців та самок у середньому на 33,6 %, еластази – на 32,2 % на тлі гальмування активності лужної фосфатази – на 32,4 %.

3. Алкогольна інтоксикація індукувала суттєве зниження активності антиоксидантного захисту кісткової тканини щелеп: супероксиддисмутази – на 16,9 %, глутатіонредуктази – на 36,2 % при підвищенні активності каталази на 35,9 % та інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів, яке зафіксували за зростом малонового діальдегіду на 51,8 %.

Стаття надійшла до редакції 04.04.2021

### Список використаної літератури

1. Путилина Ф. Е. Определение активности глутатион-редуктазы / Ф. Е. Путилина // Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен). – Москва: Ин. лит. – 1982. – С. 181–183.
2. Шнайдер С. А. Экспериментальная стоматология. Часть 1. Экспериментальные модели стоматологических заболеваний / С. А. Шнайдер, А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2017. – 168.
3. Alund A. W. Partial Protection by Dietary Antioxidants Against Ethanol-Induced Osteopenia and Changes in Bone Morphology in Female Mice / A.W. Alund, K.E. Mercer, C.F. Pulliam, L.J. Suva, J.R. Chen, T.M. Badger, M.J. Ronis // *Alcohol Clin. Exp. Res.* – 2017. – Jan;41(1). – P. 46-56. doi: 10.1111/acer.13284.
4. Assiri M. A. Chronic Ethanol Metabolism Inhibits Hepatic Mitochondrial Superoxide Dismutase via Lysine Acetylation / M.A. Assiri, S.R. Roy, P.S. Harris, H. Ali, Y. Liang, C.T. Shearn, D.J. Orlicky, J.R. Roede, M.D. Hirschey, D.S. Backos, K.S. Fritz // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2017. – Oct;41(10). – P. 1705–1714. doi: 10.1111/acer.13473.
5. de Almeida J.M. Chronic consumption of alcohol increases alveolar bone loss / de J.M. Almeida, V.F.C. Pazmino, V.C.N. Novaes, S.R.M. Bomfim, M.J.H.Nagata, F.L.P.Oliveira, H.R. Matheus, E. Ervolino // *PLoS One.* – 2020. – Aug 15(8). – P. 1–15. doi: 10.1371/journal.pone.0232731.
6. Föger-Samwald U. Bone Effects of Binge Alcohol Drinking Using Prepubescent Pigs as a Model / U. Föger-Samwald, C. Knecht, T. Stimpfl, T. Szekeres, K. Kersch-Schindl, P. Mikosch, P. Pietzschmann, W. Sipos // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2018. – Nov; 42(11). – P. 2123-2135. doi: 10.1111/acer.13874.
7. Frazão D. R. Ethanol binge drinking exposure affects alveolar bone quality and aggravates bone loss in experimentally-induced periodontitis / D.R. Frazão, C.D.S.F. Maia, V.D.S. Chemelo, D. Monteiro, R.O. Ferreira, L.O. Bittencourt, G.S. Balbinot, F.M. Collares, C.K. Rösing, M.D. Martins, R.R. Lima // *PLoS One.* – 2020. – Jul 30;15(7). – P. 1–12. doi: 10.1371/journal.pone.0236161.
8. Gaddini G.W. Twelve months of voluntary heavy alcohol consumption in male rhesus macaques suppresses intracortical bone remodeling / G.W. Gaddini, K.A. Grant, A. Woodall, C. Stull, G.F. Maddalozzo, B. Zhang, R.T. Turner, U.T. Iwaniec // *Bone.* – 2015. – Feb;71. – P. 227–236. doi: 10.1016/j.bone.2014.10.025.
9. Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
10. Harris P.S. Chronic ethanol consumption induces mitochondrial protein acetylation and oxidative stress in the kidney / P.S. Harris, S.R. Roy, C. Coughlan, D.J. Orlicky, Y. Liang, C.T. Shearn, J.R. Roede, K.S. Fritz // *Redox Biol.* – 2015. – Dec;6. – P. 33–40. doi: 10.1016/j.redox.2015.06.021.
11. Johnson T.L. Effects of chronic heavy alcohol consumption and endurance exercise on cancellous and cortical bone microarchitecture in adult male rats / T.L. Johnson, G. Gaddini, A.J. Branscum, D.A. Olson, K. Caroline-Westerlind, R.T. Turner, U.T. Iwaniec // *Alcohol Clin Exp Res.* – 2014. – May; 38(5). – P. 1365–1372. doi: 10.1111/acer.12366.
12. Martiniakova M. Changes in the microstructure of compact and trabecular bone tissues of mice

- subchronically exposed to alcohol / M. Martiniakova, A. Sarocka, R. Babosova, B. Grosskopf, E. Kapusta, Z. Goc, G. Formicki, R. Omelka // *J Biol Res (Thessalon)*. – 2018. – Dec; 25(8). – P. 1–7. doi: 10.1186/s40709-018-0079-1.
13. Maurel D.B. Effect of the alcohol consumption on osteocyte cell processes: a molecular imaging study / D.B. Maurel, D. Benaitreau, C. Jaffré, H. Toumi, H. Portier, R. Uzbekov, C. Pichon, C.L. Benhamou, E. Lespessailles, S. Pallu // *J Cell Mol Med*. – 2014. – Aug; 18(8). – P. 1680–93. doi: 10.1111/jcmm.12113.
  14. Mercer K.E. Vitamin D supplementation protects against bone loss associated with chronic alcohol administration in female mice / K.E. Mercer, R.A. Wynne, O.P. Lazarenko, C.K. Lumpkin, W.R. Hogue, L.J. Suva, J.R. Chen, A.Z. Mason, T.M. Badger, M.J. Ronis // *J Pharmacol Exp Ther*. – 2012. – Nov; 343(2). – P. 401–412. doi: 10.1124/jpet.112.197038.
  15. Nascimento P.C. Effects of Chronic Ethanol Consumption and Ovariectomy on the Spontaneous Alveolar Bone Loss in Rats / P.C. Nascimento, L.O. Bittencourt, S.O. Pinto, L.N.S. Santana, R.D. Souza-Rodrigues, A.L. Pereira-Neto, C.S.F. Maia, C.K. Rösing, R.R. Lima // *Int J Dent*. – 2020. – Nov 12. – P. 1–7. doi: 10.1155/2020/8873462.
  16. Nishikimi M. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen / M. Nishikimi, N. Appaji, K. Yagi // *Biochem Biophys Res Commun*. – 1972. – Jan 31; 46(2). – P. 849–854. doi: 10.1016/s0006-291x(72)80218-3.
  17. Oyenihni O. R. Hepato- and neuro-protective effects of watermelon juice on acute ethanol-induced oxidative stress in rats / O.R. Oyenihni, B.A. Afolabi, A.B. Oyenihni, O.J. Ogunmokun, O.O. Oguntibeju // *Toxicol Rep*. – 2016. – Jan 12; 3. – P. 288–294. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.01.003.
  18. Ramírez A. Ion Channels and Oxidative Stress as a Potential Link for the Diagnosis or Treatment of Liver Diseases / A. Ramírez, A.Y. Vázquez-Sánchez, N. Carrión-Robalino, J. Camacho // *Oxid Med Cell Longev*. – 2016 Jan 5. – P. 1–17. doi: 10.1155/2016/3928714.
  19. Rosa R.C. Chronic consumption of alcohol adversely affects the bone of young rats / R.C. Rosa, W.F. Rodrigues, C.B. Miguel, F.A.G. Cardoso, A.P. Espindula, C.J.F. Oliveira, J.B. Volpon // *Acta Ortop Bras*. – 2019. – Nov-Dec; 27(6). – P. 321–324. doi: 10.1590/1413-785220192706222834.
  20. Zeng T. Impairment of Akt activity by CYP2E1 mediated oxidative stress is involved in chronic ethanol-induced fatty liver / T. Zeng, C.L. Zhang, N. Zhao, M.J. Guan, M. Xiao, R. Yang, X.L. Zhao, L.H. Yu, Z.P. Zhu, K.Q. Xie // *Redox Biol*. – 2018. – Apr; 14. – P. 295–304. doi: 10.1016/j.redox.2017.09.018.

**О. А. Макаренко<sup>1</sup>, В. В. Кіка<sup>1</sup>, Л. М. Мудрик<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, біологічний факультет, кафедра фізіології людини та тварин, вул. Дворянська 2, Одеса, 65058, Україна.

<sup>2</sup>Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України», вул. Рішельєвська, 11, Одеса, Україна.

## **ДИСБАЛАНС АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ У КІСТКОВІЙ ТКАНИНІ ЩЕЛЕП ЩУРІВ ПРИ ТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ ЕТАНОЛУ**

### **Резюме**

**Актуальність проблеми:** В наш час незрозуміло, що є пусковим механізмом резорбції кісткової тканини за дії тривалого вживання алкоголю. Оскільки реакції перетворення етанолу супроводжуються збільшенням продукції активних

форм кисню, можна припустити, що формування окисного стресу при тривалому споживанні алкоголю має місце і у кістковій тканині.

**Мета:** Дослідження впливу тривалого введення етанолу самкам та самцям лабораторних щурів на показники резорбції, остеогенезу, стан антиоксидантно-прооксидантної системи у кістковій тканині.

**Методи дослідження:** Лабораторним щурам 2-х місячного віку в питну воду вводили етиловий спирт, починаючи з 5 % до 15 %. Виділяли нижні щелепи, підраховували ступінь атрофії альвеолярного відростка. У гомогенатах кісткової тканини щелеп визначали активність еластази, кислоти (КФ) та лужної фосфатази (ЛФ), супероксиддисмутази (СОД), каталази, глутатіонредуктази та вміст малнового діальдегіду (МДА).

**Основні результати дослідження:** Тривале введення етанолу сприяло підвищенню атрофії альвеолярної кістки, підвищенню активності біохімічних маркерів резорбції кістки (еластази – на 32,2 %, КФ – на 33,6 %), зниження показника остеогенезу (активність ЛФ – на 32,4 %). Алкогольна інтоксикація призвела до окислювального дисбалансу кісткової тканини: зниження активності СОД у середньому на 16,9 %, активності глутатіонредуктази на 36,2 %, збільшення активності каталази на 35,9 % та зростання рівня МДА на 51,8 %.

**Висновки:** Тривале вживання етанолу стимулює атрофію альвеолярного відростку щелепи щурів, індукує окислювальний дисбаланс у кістковій тканині, який може бути пусковим патогенетичним фактором подальшого розвитку резорбційних прозапальних процесів у кістковій тканині та гальмування кісткоутворення.

**Ключові слова:** щури; алкогольна інтоксикація; кісткова тканина; антиоксидантна система; перекисне окислення ліпідів.

**O. A. Makarenko<sup>1</sup>, V. V. Kika<sup>1</sup>, L. M. Mudrik<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Odesa National Mechnykov University, Faculty of Biology, Department of Human and Animal Physiology, 2, Dvorianska Str., Odesa, Ukraine

<sup>2</sup>State Institution Institute of Stomatology and Maxillofacial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine, 11 Rishchevska Str., Odesa, Ukraine

## **IMBALANCE OF ANTIOXIDANT-PROOXIDANT SYSTEM IN RAT'S JAW BONE TISSUE UNDER LONG-TERM INTRODUCTION OF ETHANOL**

### **Abstract**

**Introduction.** Nowadays, it is unclear what the trigger for bone resorption under the influence of chronic alcohol consumption is. As the reactions of conversion of ethanol into acetic acid are accompanied by an increase in the production of reactive oxygen species, it can be assumed that the formation of oxidative stress with prolonged alcohol consumption occurs in bone tissue as well.



**Aim.** Research of the effect of chronic administration of ethanol to females and males laboratory rats on indices of resorption, osteogenesis, the condition of the antioxidant-prooxidant system in bone tissue.

**Materials and Methods.** 2-month old animals received from 5 % to 15 % of ethanol in their drinking water with gradual increase of the concentration. The lower jaws were segregated, and the degree of atrophy of the alveolar process was calculated. The activity of elastase, acidic (AcF) and alkaline phosphatase (AlF), superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione reductase and malonic dialdehyde (MDA) content were determined in the bone tissue homogenates.

**Results.** Chronic alcohol consumption contributed to an increase in alveolar bone atrophy, increased activity of biochemical markers of bone resorption (elastase by 32.2 %, AcF – by 33.6 %), decreased osteogenesis (AlF activity by 32.4 %). Alcohol intoxication led to oxidative imbalance of bone tissue: a decrease in SOD activity by an average of 16.9 %, glutathione reductase activity by 36.2 %, increase in catalase activity by 35.9 % and an increase in MDA levels by 51.8 %.

**Conclusion.** Chronic alcohol consumption stimulates atrophy of the alveolar process of the rat jaw, induces oxidative imbalance in bone tissue, which can be a trigger pathogenetic factor in further development of resorption pro-inflammatory processes in bone tissue and inhibition of bone formation.

**Key words:** rats, alcohol intoxication; bone tissue; antioxidant system; lipid peroxidation

## References

1. Putylyna F. E. (1982) *Determination of glutathione reductase activity. Methods of biochemical research (Lipids and energy metabolism)* [Opredelenie aktyvnosti hlutation-reduktazy], Lenynhrad, Yzdatelstvo Lenynhradskoho unyversyteta, pp 181-183.
2. Shnayder S.A., Levitskiy A.P. (2017) *Experimental dentistry. Part 1. Experimental models of dental diseases*[Eksperimentalnaya stomatologiya. Chast 1. Eksperimentalnyie modeli stomatologicheskikh zabolevaniy], Odessa: KP OGT, 168 p.
3. Alund A.W., Mercer K.E., Pulliam C.F., Suva L.J., Chen J.R., Badger T.M., Ronis M.J. (2017) «Partial Protection by Dietary Antioxidants Against Ethanol-Induced Osteopenia and Changes in Bone Morphology in Female Mice», *Alcohol Clin Exp Res.*, Jan;41(1), pp 46-56. doi: 10.1111/acer.13284.
4. Assiri M.A., Roy S.R., Harris P.S., Ali H., Liang Y., Shearn C.T., Orlicky D.J., Roede J.R., Hirschey M.D., Backos D.S., Fritz K.S. (2017) «Chronic Ethanol Metabolism Inhibits Hepatic Mitochondrial Superoxide Dismutase via Lysine Acetylation», *Alcohol Clin Exp Res.*, Oct;41(10), pp 1705-1714. doi: 10.1111/acer.13473.
5. de Almeida J.M., Pazmino V.F.C., Novaes V.C.N., Bomfim S.R.M., Nagata M.J.H., Oliveira F.L.P., Matheus H.R., Ervolino E. (2020) «Chronic consumption of alcohol increases alveolar bone loss», *PLoS One*, Aug 15(8), pp 1-15. doi: 10.1371/journal.pone.0232731.
6. Föger-Samwald U., Knecht C., Stimpfl T., Szekeres T., Kersch-Schindl K., Mikosch P., Pietzschmann P., Sipos W. (2018) «Bone Effects of Binge Alcohol Drinking Using Prepubescent Pigs as a Model», *Alcohol Clin Exp Res.*, Nov;42(11), pp 2123-2135. doi: 10.1111/acer.13874.
7. Frazão D.R., Maia C.D.S.F., Chemelo V.D.S., Monteiro D., Ferreira R.O., Bittencourt L.O., Balbinot G.S., Collares F.M., Rösing C.K., Martins M.D., Lima R.R. (2020) «Ethanol binge drinking exposure affects alveolar bone quality and aggravates bone loss in experimentally-induced periodontitis», *PLoS One*, Jul 30;15(7), pp 1-12. doi: 10.1371/journal.pone.0236161.

8. Gaddini G.W., Grant K.A., Woodall A., Stull C., Maddalozzo G.F., Zhang B., Turner R.T., Iwaniec U.T. (2015) «Twelve months of voluntary heavy alcohol consumption in male rhesus macaques suppresses intracortical bone remodeling», *Bone*, Feb;71, pp 227-236. doi: 10.1016/j.bone.2014.10.025.
9. Global status report on alcohol and health 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
10. Harris P.S., Roy S.R., Coughlan C., Orlicky D.J., Liang Y., Shearn C.T., Roede J.R., Fritz K.S. (2015) «Chronic ethanol consumption induces mitochondrial protein acetylation and oxidative stress in the kidney», *Redox Biol.*, Dec;6, pp 33-40. doi: 10.1016/j.redox.2015.06.021.
11. Johnson T.L., Gaddini G., Branscum A.J., Olson D.A., Caroline-Westerlind K., Turner R.T., Iwaniec U.T. (2014) «Effects of chronic heavy alcohol consumption and endurance exercise on cancellous and cortical bone microarchitecture in adult male rats», *Alcohol Clin Exp Res.*, May;38(5), pp 1365-1372. doi: 10.1111/acer.12366.
12. Martiniakova M., Sarocka A., Babosova R., Grosskopf B., Kapusta E., Goc Z., Formicki G., Omelka R. (2018) «Changes in the microstructure of compact and trabecular bone tissues of mice subchronically exposed to alcohol», *J Biol Res (Thessalon)*, Dec; 25(8), pp 1-7. doi: 10.1186/s40709-018-0079-1.
13. Maurel D.B., Benaitreau D., Jaffré C., Toumi H., Portier H., Uzbekov R., Pichon C., Benhamou C.L., Lespessailles E., Pallu S. (2014) «Effect of the alcohol consumption on osteocyte cell processes: a molecular imaging study», *J Cell Mol Med.*, Aug;18(8), pp 1680-93. doi: 10.1111/jcmm.12113.
14. Mercer K.E., Wynne R.A., Lazarenko O.P., Lumpkin C.K., Hogue W.R., Suva L.J., Chen J.R., Mason A.Z., Badger T.M., Ronis M.J. (2012) «Vitamin D supplementation protects against bone loss associated with chronic alcohol administration in female mice», *J Pharmacol Exp Ther.*, Nov;343(2), pp 401-412. doi: 10.1124/jpet.112.197038.
15. Nascimento P.C., Bittencourt L.O., Pinto S.O., Santana L.N.S., Souza-Rodrigues R.D., Pereira-Neto A.L., Maia C.S.F., Rösing C.K., Lima R.R. (2020) «Effects of Chronic Ethanol Consumption and Ovariectomy on the Spontaneous Alveolar Bone Loss in Rats», *Int J Dent.*, Nov 12, pp 1-7. doi: 10.1155/2020/8873462.
16. Nishikimi M., Appaji N., Yagi K. (1972) «The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen», *Biochem Biophys Res Commun.*, Jan31;46(2), pp 849-854. doi: 10.1016/s0006-291x(72)80218-3.
17. Oyenih O.R., Afolabi B.A., Oyenih A.B., Ogunmokun O.J., Oguntibeju O.O. (2016) «Hepato- and neuro-protective effects of watermelon juice on acute ethanol-induced oxidative stress in rats», *Toxicol Rep.*, Jan 12;3, pp 288-294. doi: 10.1016/j.toxrep.2016.01.003.
18. Ramírez A., Vázquez-Sánchez A.Y., Carrión-Robalino N., Camacho J. (2016) «Ion Channels and Oxidative Stress as a Potential Link for the Diagnosis or Treatment of Liver Diseases», *Oxid Med Cell Longev.*, Jan 5, pp1-17. doi: 10.1155/2016/3928714.
19. Rosa R.C., Rodrigues W.F., Miguel C.B., Cardoso F.A.G., Espindula A.P., Oliveira C.J.F., Volpon J.B. (2019) «Chronic consumption of alcohol adversely affects the bone of young rats», *Acta Ortop Bras*, Nov-Dec;27(6), pp 321-324. doi: 10.1590/1413-785220192706222834.
20. Zeng T., Zhang C.L., Zhao N., Guan M.J., Xiao M., Yang R., Zhao X.L., Yu L.H., Zhu Z.P., Xie K.Q. (2018) «Impairment of Akt activity by CYP2E1 mediated oxidative stress is involved in chronic ethanol-induced fatty liver», *Redox Biol.*, Apr;14, pp 295-304. doi: 10.1016/j.redox.2017.09.018.