

УДК 615.849.19:616.31

*Т.И. Власова<sup>1</sup>, А.Н. Сидоренко<sup>2</sup>, Е.В. Кондюрова<sup>1</sup>, Е.А. Ташина<sup>1</sup>, В.В. Акимов<sup>1</sup>,  
А.С. Федоськина<sup>1</sup>, Д.Д. Косынкина<sup>1</sup>*

## **КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ СПОСОБНОСТЬ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАРОДОНТИТЕ**

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева» Министерства науки и высшего образования РФ, г. Саранск, Российская Федерация;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет», г. Краснодар, Российская Федерация

*T.I. Vlasova<sup>1</sup>, A.N. Sidorenko<sup>2</sup>, E.V. Kondjurava<sup>1</sup>, E.A. Tashina<sup>1</sup>, V.V. Akimov<sup>1</sup>,  
A.S. Fedos'kina<sup>1</sup>, D.D. Kosynkina<sup>1</sup>*

## **OXYGEN TRANSPORT ABILITY OF ERYTHROCYTES IN CHRONIC PERIODONTITIS**

<sup>1</sup>National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, Russian Federation;

<sup>2</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Kuban State Medical University», Krasnodar, Russian Federation

**Резюме. Цель исследования** — изучение кислород-транспортной способности эритроцитов при хроническом пародонтите. **Материалы и методы.** Клинические исследования 34 больных хроническим генерализованным пародонтитом: первая группа (n=20) — пародонтит средней степени тяжести, вторая группа (n=16) — тяжелый пародонтит. Исследовали содержание вторичных продуктов липоперекисления, активность фосфолипазы А<sub>2</sub>, каталазы, определение фосфолипидного состава эритроцитов (денситометр Model GS — 670 (BIO-RAD, США). Определяли конформацию и свойства гемоглобина эритроцитов методом спектроскопии комбинационного рассеивания (in via Basis фирмы Renishaw (UK)). **Результаты.** При хроническом тяжелом генерализованном пародонтите зарегистрировано нарушение кислородтранспортной функции гемоглобина (снижения способности гемоглобина связывать лиганды на 18,57% (p<0,05) и уменьшения сродства гемоглобина к кислороду на 14,30% (p<0,05)) на фоне конформационных изменений пирролов и в целом гемоглобина. Данные изменения коррелировали с изменениями фосфолипидного спектра клеточной мембраны эритроцита и повышением содержания вторичных продуктов липоперекисления и активностью фосфолипазы А<sub>2</sub> эритроцитов. При хроническом пародонтите средней степени тяжести указанные изменения менее выражены. **Заключение.** При хроническом генерализованном пародонтите установлена зависимость патологических изменений кислородсвязывающей способности гемоглобина от биохимических характеристик эритроцитарных мембран и выраженности оксидативных процессов. Выявленные изменения коррелируют с тяжестью течения заболевания.

**Ключевые слова:** хронический генерализованный пародонтит, кислородсвязывающая способность гемо-

**Abstract. Aim.** To study the oxygen-transporting ability of red blood cells in chronic periodontitis. **Materials and methods.** Clinical studies of 34 patients with chronic generalized periodontitis: the first group (n=20) — periodontitis of moderate severity, the second group (n=16) — severe periodontitis. The content of lipid oxidation products, the activity of phospholipase A<sub>2</sub>, catalase, and the determination of the phospholipid composition of erythrocytes (densitometer GS-670 (BIO-RAD, USA); the conformation and properties of erythrocyte hemoglobin by Raman spectroscopy (in via Basis, Renishaw (UK)). **Results.** In chronic severe generalized periodontitis, the violation of the oxygen transport function of hemoglobin (a decrease in hemoglobin's ability to bind ligands by 18.57% (p<0.05) and a decrease in the hemoglobin's affinity to oxygen by 14.30% (p<0.05)) with conformational changes in pyrroles and hemoglobin in general was determined. These events correlated with changes in the phospholipid spectrum of the erythrocyte cell membrane and an increase in the content of lipid peroxidation products and erythrocyte phospholipase A<sub>2</sub> activity. Under periodontitis of moderate severity, these changes are less pronounced. **Conclusion.** In chronic generalized periodontitis, there is dependence of pathological changes in the oxygen-binding ability of hemoglobin from the biochemical characteristics of erythrocyte membranes and the oxidative processes. Identified changes correlate with the severity of the disease.

**Keywords:** chronic generalized periodontitis, oxygen-binding ability of hemoglobin, red blood cells, oxidative processes, lipid composition

глобина, эритроциты, оксидативные процессы, липидный состав

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Власова Татьяна Ивановна

vlasova.tatyanka@mail.ru

Дата поступления 10.12.2020 г.

Образец цитирования:

Власова Т.И., Сидоренко А.Н., Кондюрава Е.В., Ташина Е.А., Акимов В.В., Федоськина А.С., Косынкина Д.Д. Кислородтранспортная способность эритроцитов при хроническом пародонтите. Вестник уральской медицинской академической науки. 2020, Том 17, №1, с. 33–41, DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-1-33-41

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Tatyana I. Vlasova

vlasova.tatyanka@mail.ru

Received 10.12.2020

For citation:

Vlasova T.I., Sidorenko A.N., Kondjurava E.V., Tashina E.A., Akimov V.V., Fedos'kina A.S., Kosynkina D.D. Oxygen transport ability of erythrocytes in chronic periodontitis. Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki.=Journal of Ural Medical Academic Science. 2020, Vol. 17, no. 1, pp. 33–41. DOI: 10.22138/2500-0918-2020-17-1-33-41 (In Russ)

### Актуальность

До настоящего времени сохраняется высокая распространенность заболеваний пародонта, в том числе хронического пародонтита. Несмотря на большое количество разработанных способов терапии, ее невысокая эффективность открывает проблему необходимости расширения знаний о патогенезе заболевания [1, 2]. Согласно современной концепции хронического воспаления важная роль в развитии и прогрессировании процесса отводится сосудистым реакциям с формированием хронической тканевой гипоксии [3]. Не вызывает сомнения факт, что нарушение трофики тканей обусловлены не только местными изменениями, в частности со стороны микроциркуляции, но и системными. Последние определены многими факторами, в том числе и связанными с кислородтранспортной способностью эритроцитов [4, 5]. Эта специфическая функция эритроцитов в свою очередь зависит от многих факторов, в частности от структурно-функционального состояния самой молекулы гемоглобина и состоянием биомембраны этого форменного элемента крови. Последнее во многом определяет его способность не только изменять транспорт кислорода внутрь эритроцита, но и его способность проходить через сосуды микроциркуляторного русла (капилляры), где и осуществляется газообмен [6]. Следует указать, что само структурно-функциональное состояние биомембраны эритроцита (как и других форменных элементов крови) в основном зависит от активности фосфолипидных систем и перекисного окисления мембранных липидов [7].

В этой связи целью настоящего исследования явилось изучение кислородтранспортной способности эритроцитов при хроническом пародонтите.

### Материалы и методы исследования

Работа основывается на результатах клинико-лабораторных исследований 34 больных хроническим генерализованным пародонтитом: первая группа (n=20) — пародонтит средней степени тяжести, вторая груп-

### Relevance

To date, a high prevalence of periodontal disease, including chronic periodontitis, remains high. Despite the large number of developed methods of therapy, its low efficiency opens up the problem of the need to expand knowledge about the pathogenesis of the disease [1, 2]. According to the modern concept of chronic inflammation, an important role in the development and progression of the process is assigned to vascular reactions with the formation of chronic tissue hypoxia [3]. There is no doubt that the violation of tissue oxygenation is caused not only by local changes, in particular from the microcirculation, but also by systemic ones. They are determined by many factors, including the oxygen transport ability of red blood cells [4, 5]. This specific function of red blood cells, in turn, depends on the structural and functional state of the hemoglobin molecule and the membrane state of red blood cell. They mostly determine erythrocyte ability to pass through the vessels of the microvasculature (capillaries), where gas exchange takes place [6]. The structural and functional state of the erythrocyte membrane (as well as other formed blood elements) mainly depends on the activity of phospholipase systems and peroxidation of membrane lipids [7].

In this regard, **the aim** of this study was to research the oxygen-transporting ability of red blood cells in chronic periodontitis.

### Materials and methods

The work is based on the results of clinical and laboratory studies of 34 patients with chronic generalized periodontitis: the first group (n=20) — periodontitis of moderate severity, the second group (n=16) — severe periodontitis. The mean disease duration is 4.2±1.3 years. The studies were conducted with the informed consent of the patient in accordance with WHO international ethical requirements (GCP rules — Good Clinical Practice) for medical research involving humans (Geneva, 1993). Diagnosis of the disease and treatment of patients was

па (n=16) — тяжелый пародонтит. Средняя давность заболевания  $4,2 \pm 1,3$  года. Исследования проводились при информированном согласии пациента в соответствии с международными этическими требованиями ВОЗ (правила GCP — Good Clinical Practice) предъявляемым к медицинским исследованиям с участием человека (Женева, 1993). Диагностика заболевания и лечение пациентов проводилось согласно протоколам лечения, утвержденным Решением Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России» 23 апреля 2013 года с изменениями и дополнениями на основании Постановления №18 Совета Ассоциации общественных объединений «Стоматологическая Ассоциация России» от 30 сентября 2014 года. За норму (группа сравнения) были приняты показатели 18 здоровых добровольцев. Все группы были сопоставимы по возрастному и гендерному составу, расчет критерия  $\chi^2$  не опроверг нулевой гипотезы. Исследовали интенсивность свободнорадикальных реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) по содержанию вторичных ТБК-реагирующих продуктов [8], определение активности фосфолипазы  $A_2$  в эритроцитах проводили по методике Трофимова В.А. (1998), изучали активность каталазы эритроцитов. Препарат суммарных липидов, экстрагированных из эритроцитов, фракционировали способом тонкослойной хроматографии, процентный состав липидов определяли денситометрическим методом (денситометр Model GS — 670 (BIO-RAD, США), программное обеспечение Phosphor Analyst/ PS Software). Для определения конформации и свойств гемоглобина эритроцитов применен метод спектроскопии комбинационного рассеивания. Регистрацию спектров комбинационного рассеивания (КР) проводили с помощью рамановского спектрометра *in via Basis* фирмы Renishaw (UK) с лазером, генерирующего возбуждающий свет с длиной 532 нм и мощностью 1,5 мВт. Для анализа конформации и кислородсвязывающих свойств гемоглобина (Hb) использовали соответствующие полосы спектров КР эритроцитов с максимумами при 1355, 1375, 1548-1552, 1580-1588  $\text{cm}^{-1}$ , соответственно. Относительное количество оксигемоглобина в эритроцитах определяли как отношение интенсивностей  $I_{1375}/(I_{1355} \pm I_{1375})$ , относительная способность гемоглобина связывать лиганды рассчитывалась как отношение  $I_{1355}/I_{1550}$ , сродство гемоглобина к лигандам ( $O_2$ ) — отношение  $(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$ , конформационные изменения пирролов — отношение  $I_{1375}/I_{1172}$ . Полученные данные обрабатывали методом вариационной статистики с использованием программы Statistica (Statsoft), рассчитывали непараметрический критерий U-критерий Манна-Уитни, корреляционный критерий r Пирсона. Для проверки выборок на нормальность распределения использовали критерий Лиллиефорса.

### Результаты исследования

Анализ спектров КР показал, что при хроническом генерализованном пародонтите конформационная

carried out according to the treatment protocols approved by the Decision of the Council of the Association “Dental Association of Russia” on April 23, 2013. For the norm (comparison group), the indicators of 18 healthy volunteers were taken. All groups were comparable in age and gender composition, the calculation of the  $\chi^2$  criterion did not refute the null hypothesis. The intensity of free radical lipid peroxidation (LPO) reactions was studied by the content of secondary TBA-reactive products [8], phospholipase  $A_2$  activity in erythrocytes was determined according to the method of V. Trofimov. (1998), studied the activity of red blood cell catalase. The preparation of total lipids extracted from erythrocytes was fractionated by thin layer chromatography, the percentage of lipids was determined by densitometric method (densitometer Model GS — 670 (BIO-RAD, USA), software Phosphor Analyst / PS Software). To determine the conformation and properties of erythrocyte hemoglobin, Raman spectroscopy was used. Raman spectra were recorded using an *in via Basis* Raman spectrometer from Renishaw (UK) with a laser that generated exciting light with a length of 532 nm and a power of 1.5 mW. To analyze the conformation and oxygen-binding properties of hemoglobin (Hb), we used the corresponding bands of the erythrocyte Raman spectra with maxima at 1355, 1375, 1548-1552, 1580-1588  $\text{cm}^{-1}$ , respectively. The relative amount of oxyhemoglobin in red blood cells was determined as the ratio of intensities  $I_{1375} / (I_{1355} \pm I_{1375})$ , the relative ability of hemoglobin to bind ligands was calculated as the ratio of  $I_{1355} / I_{1550}$ , the affinity of hemoglobin for ligands ( $O_2$ ) is the ratio of  $(I_{1355} / I_{1550}) / (I_{1375} / I_{1580})$  conformational changes of pyrroles — ratio  $I_{1375} / I_{1172}$ . The obtained data were processed by the method of variation statistics using the Statistica program (Statsoft), the nonparametric Mann-Whitney U-test, the Pearson correlation criterion r were calculated. To check the samples for normal distribution, the Lilliefors test was used.

### The results

An analysis of the Raman spectra showed that in chronic generalized periodontitis, the conformational structure of hemoglobin and, as a consequence, its ability to bind oxygen changed (Table 1). In erythrocytes of patients with a severe course of the studied periodontal tissue pathology, a decrease in oxyhemoglobin content by 2.65% ( $p < 0.05$ ), a decrease in the relative ability of hemoglobin to bind ligands by 18.57% ( $p < 0.05$ ) and its affinity for ligands was revealed by 14.30% ( $p < 0.05$ ). Fluctuations in the methine bridges of the hemoglobin molecule increase 25.94% ( $p < 0.05$ ) compared with the control, which indicates conformational instability of the molecule. These changes are described in relation to control group results.

In patients of the first group (moderate severity of the disease), changes in most of the structural characteristics of hemoglobin are comparable to the norm, but negative dynamics of the studied parameters of the Raman spectra is recorded. A significant decrease in the relative ability of



структура гемоглобина и, как следствие, его способность связывать кислород изменялась (Таблица 1). В эритроцитах пациентов с тяжелым течением изучаемой патологии тканей пародонта выявлено уменьшение содержания оксигемоглобина на 2,65% ( $p < 0,05$ ), снижение относительной способности гемоглобина связывать лиганды на 18,57% ( $p < 0,05$ ) и его сродства к лигандам на 14,30% ( $p < 0,05$ ). Колебания метиновых мостиков молекулы гемоглобина возрастают 25,94% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем, что свидетельствует о конформационной нестабильности молекулы. Данные изменения зарегистрированы относительно контроля.

Таблица 1  
Структурно-функциональные изменения гемоглобина при хроническом пародонтите по данным спектроскопии комбинационного рассеивания ( $M \pm m$ )

Показатель	$I_{1375}/(I_{1355} \pm I_{1375})$	$I_{1355}/I_{1550}$	$(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$	$I_{1375}/I_{1172}$
Норма (контроль)	0,641±0,003	0,630±0,012	0,937±0,042	1,415±0,064
Хронический пародонтит средней степени тяжести (первая группа)	0,639±0,005	0,591±0,017*	0,905±0,034	1,562±0,042
Хронический пародонтит тяжелой степени (вторая группа)	0,604±0,003*	<b>0,513±0,023*</b>	<b>0,803±0,041*</b>	<b>1,782±0,051*</b>

\* — достоверные отличия параметров при сравнении с контролем («Норма») при  $p < 0,05$ .; жирный шрифт — достоверные отличия параметров при сравнении с первой группой при  $p < 0,05$

У пациентов первой группы (средняя степень тяжести заболевания) изменения большинства показателей структурных изменений гемоглобина эритроцитов статистически значимо от нормы не отличались, но была зарегистрирована отрицательная динамика изученных показателей КР спектров. У пациентов данной группы было отмечено достоверное снижение относительной способности гемоглобина связывать лиганды на 18,57% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

В крови пациентов хроническим пародонтитом тяжелой степени часто (71,1%) встречались эритроциты измененной формы, что свидетельствует о частичном нарушении гемопоэза. В этой группе больных зарегистрированы изменения компартиментализации гемоглобина.

Ряд исследований показывают сопряженность изменений структурно-функциональных характеристик гемоглобина и липидного спектра эритроцитарных мем-

hemoglobin to bind ligands by 18.57% ( $p < 0.05$ ) compared with the control was observed.

Table 1  
Structural and functional changes of hemoglobin in chronic periodontitis according to Raman spectrometry ( $M \pm m$ )

Indicator	$I_{1375}/(I_{1355} \pm I_{1375})$	$I_{1355}/I_{1550}$	$(I_{1355}/I_{1550})/(I_{1375}/I_{1580})$	$I_{1375}/I_{1172}$
Norm (the control)	0,641±0,003	0,630±0,012	0,937±0,042	1,415±0,064
Chronic periodontitis of moderate severity (first group)	0,639±0,005	0,591±0,017*	0,905±0,034	1,562±0,042
Severe chronic periodontitis (second group)	0,604±0,003*	<b>0,513±0,023*</b>	<b>0,803±0,041*</b>	<b>1,782±0,051*</b>

\* — significant differences in the parameters compared with the control («Norm») at  $p < 0.05$ ; bold type — significant differences in the parameters compared with the first group at  $p < 0.05$ .

In the blood of patients with severe periodontal disease of severe degree, often (71.1%) erythrocytes of an altered form were found. This indicates a partial violation of hematopoiesis. In this group of patients, changes in the compartmentalization of hemoglobin exist.

A number of studies show a correlation of changes in the structural and functional characteristics of hemoglobin and the lipid spectrum of erythrocyte membranes [9, 10]. Structurally changed hemoglobin, binding to the erythrocyte membrane is capable of initiating its oxidative damage [11] and ferroptosis processes [12].

The study of the composition of the phospholipid bilayer of erythrocyte membranes in patients with chronic generalized periodontitis showed its change, which correlates with the severity of the pathological process (Table 2).

In chronic periodontitis of moderate severity, the content of phosphatidylcholine lysoform increased 5 times relative to the control data ( $p < 0.05$ ), the relative amount of phosphatidylcholine decreased. The proportion of erythrocyte membrane phosphatidylinositol in chronic periodontitis of moderate severity was also lower than the control by 19.75% ( $p < 0.05$ ). The acid phosphatidylserine content increased by 24.09% ( $p < 0.05$ ) compared with the control.

In severe cases of the disease, changes in lipid composition were more pronounced and affected almost all fractions of phospholipids. The erythrocyte phosphatidylcholine content decreased by 13.23% ( $p < 0.05$ ) with an increase in its lysoform by 14.5 times ( $p < 0.05$ )! According to the published data, this fact can be regarded as indirect evidence of an increase in the activity of intracellular

бран [9, 10]. Также имеются данные, что структурно измененный гемоглобин, связываясь с мембраной эритроцита, способен инициировать окислительное ее повреждение [11] и запуск процессов ферроптоза [12].

Изучение состава фосфолипидного бислоя мембран эритроцитов у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом показало его изменение, коррелирующее с тяжестью патологического процесса (Таблица 2).

Таблица 2  
Относительное содержание фосфолипидов в эритроцитах при хроническом пародонтите (M±m)

Показатели, %	Норма (контроль)	Хронический пародонтит средней степени тяжести (первая группа)	Хронический пародонтит тяжелой степени (вторая группа)
Фосфатидилхолин	36,21±1,09	35,54±1,45	<b>31,42±1,34*</b>
Лизофосфатидилхолин	0,18±0,03	1,08±0,08*	<b>2,79±0,15*</b>
Сфингомиелин	19,09±1,11	22,06±1,26	20,59±1,18
Фосфатидилэтанолламин	33,87±1,74	29,12±1,67	27,09±1,54*
Фосфатидилинозит	4,05±0,21	3,25±0,18*	3,17±0,19*
Фосфатидилсерин	5,77±0,29	7,16±0,26*	<b>8,13±0,31*</b>

\* — достоверные отличия параметров при сравнении с контролем («Норма») при  $p < 0,05$ ; жирный шрифт — достоверные отличия параметров при сравнении с первой группой при  $p < 0,05$

При хроническом пародонтите средней степени тяжести было выявлено увеличение содержания лизоформ фосфатидилхолина относительно данных контроля в 5 раз ( $p < 0,05$ ), общее относительное количество данного липида снижалось. Доля фосфатидилинозита эритроцитарных мембран при хроническом пародонтите средней степени тяжести также была ниже контроля на 19,75% ( $p < 0,05$ ). Показатель содержания кислого фосфатидилсерина возрастал на 24,09% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем.

При тяжелом течении заболевания изменения липидного состава были более выражены и затрагивали практически все фракции фосфолипидов. Так, содержание фосфатидилхолина в эритроцитах снижалось на 13,23% ( $p < 0,05$ ) при увеличении его лизоформ в 14,5 раз ( $p < 0,05$ )! Данный факт, согласно литературным данным, можно расценивать как опосредованное свидетельство повышения активности внутриклеточных липолитических ферментов, а также вероятную причину структурно-функциональной нестабильности мембран [11, 12].

Известно, что продукты перекисидации липидов прямо или косвенно влияют на кислородсвязывающую способность гемоглобина и, как следствие, во мно-

lipolytic enzymes, as well as a probable cause of the structural and functional instability of membranes [11, 12].

Table 2  
The relative content of phospholipids in red blood cells in chronic periodontitis (M±m)

Indicator, %	Norm (the control)	Chronic periodontitis of moderate severity (first group)	Severe chronic periodontitis (second group)
Phosphatidylcholine	36,21±1,09	35,54±1,45	<b>31,42±1,34*</b>
Lysophosphatidylcholine	0,18±0,03	1,08±0,08*	<b>2,79±0,15*</b>
Sphingomyelin	19,09±1,11	22,06±1,26	20,59±1,18
Phosphatidylethanolamine	33,87±1,74	29,12±1,67	27,09±1,54*
Phosphatidylinositol	4,05±0,21	3,25±0,18*	3,17±0,19*
Phosphatidylserine	5,77±0,29	7,16±0,26*	<b>8,13±0,31*</b>

\* — significant differences in the parameters compared with the control («Norm») at  $p < 0.05$ ; bold type — significant differences in the parameters compared with the first group at  $p < 0.05$ .

Lipid peroxidation products directly or indirectly affect the oxygen-binding ability of hemoglobin and cause the development of general hypoxia [13, 14]. Malon dialdehyde as a product of free radical oxidation is capable of forming covalent crosslinks between the functional groups of proteins and form high molecular weight adducts. As a result of the formation of large hemoglobin aggregates obtained by crosslinking several tens of molecules with glutaral diadehyde to each other, the affinity of the complexes for oxygen changes [15].

The study of the intensity of free radical processes and the activity of intracellular erythrocyte enzymes in chronic generalized periodontitis showed the following (Table 3).

In chronic generalized periodontitis of moderate severity, the content of primary and secondary products of peroxidation of erythrocyte lipids increased by 60.87 and 32.21% ( $p < 0.05$ ), respectively. The activity of phospholipase A2 was higher than the control by 36.75% ( $p < 0.05$ ). Catalase activity increased by 115.38% ( $p < 0.05$ ). In severe cases of pathology, deviations of these indicators from control were more pronounced. The content of malondialdehyde exceeded the control group by 67.42% ( $p < 0.05$ ). The activity of phospholipase A2 increased by 66.35% ( $p < 0.05$ ) relative to the control. Catalase activity was higher than the control level by 146.15% ( $p < 0.05$ ).

Conformational changes in the hemoglobin molecule and oxidative and membrane-destabilizing phenomena in red blood cells correlated ( $r = 0.63-0.87$ ).

гом обуславливают развитие общей гипоксии [13, 14]. В число последних входит малоновый диальдегид, способный формировать ковалентные сшивки между функциональными группами белков и образовывать высокомолекулярные аддукты. Известно, что в результате образования крупных агрегатов гемоглобина, полученных путем сшивки глутаровым альдегидом нескольких десятков молекул друг с другом, изменяется сродство образующихся комплексов к кислороду [15].

Изучение интенсивности свободно-радикальных процессов и активности внутриклеточных ферментов эритроцитов при хроническом генерализованном пародонтите показало следующее (Таблица 3).

Таблица 3

Показатели перекисного окисления липидов и ферментативной активности в эритроцитах крови при хроническом генерализованном пародонтите (M±m)

Показатель	Норма (контроль)	Хронический пародонтит средней степени тяжести (первая группа)	Хронический пародонтит тяжелой степени (вторая группа)
Диеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	0,33±0,02	0,43±0,03*	<b>0,51±0,03*</b>
Триеновые конъюгаты, усл.ед./мг липидов	0,23±0,01	0,37±0,02*	<b>0,49±0,04*</b>
Малоновый диальдегид, нМоль/г белка	2,67±0,11	3,53±0,23*	<b>4,47±0,32*</b>
Фосфолипаза A <sub>2</sub> , мкмоль/с/г белка	0,419±0,015	0,573±0,038*	<b>0,697±0,042*</b>
Каталаза, мг H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мин/г белка	0,013±0,001	0,028±0,0014*	0,032±0,0021*

Примечание: \* — достоверность изменений по отношению к норме при p<0,05, жирный шрифт — достоверность по отношению к началу лечения при p<0,05.

При хроническом генерализованном пародонтите средней степени тяжести содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов эритроцитов возрастало на 60,87 и 32,21% (p<0,05) соответственно. Активность фосфолипазы A<sub>2</sub> была выше контроля на 36,75% (p<0,05). Активность каталазы увеличивалась на 115,38% (p<0,05). При тяжелом течении патологии регистрировали более выраженные отклонения вышеуказанных показателей от контроля. Содержание малонового диальдегида превышало показатель контрольной группы на 67,42% (p<0,05). Активность фосфолипазы A<sub>2</sub> возрастала на 66,35% (p<0,05) относительно контроля. Активность каталазы была выше контрольного уровня на 146,15% (p<0,05).

Корреляционный анализ показал сопряженность конформационных изменений молекулы гемоглобина и выраженности оксидативных и мембранодестабилизирующих явлений в эритроцитах (r=0,63–0,87).

Table 3

Indicators of lipid peroxidation and enzymatic activity in red blood cells in chronic generalized periodontitis (M±m)

Indicator	Norm (the control)	Chronic periodontitis of moderate severity (first group)	Severe chronic periodontitis (second group)
Diene conjugates, standard units / mg lipid	0,33±0,02	0,43±0,03*	0,51±0,03*
Triene conjugates, standard units / mg lipid	0,23±0,01	0,37±0,02*	0,49±0,04*
Malonic dialdehyde, nMol / g protein	2,67±0,11	3,53±0,23*	4,47±0,32*
Phospholipase A <sub>2</sub> , mmol / s/g protein	0,419±0,015	0,573±0,038*	0,697±0,042*
Catalase, mg H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> / min/g protein	0,013±0,001	0,028±0,0014*	0,032±0,0021*

\* — significant differences in the parameters compared with the control («Norm») at p<0.05; bold type — significant differences in the parameters compared with the first group at p<0.05.

### Conclusion

In chronic generalized periodontitis, the oxygen transport function of hemoglobin is impaired in the form of decrease in the hemoglobin ability to bind ligands and decrease in the hemoglobin affinity for oxygen. These functional disorders are accompanied by conformational changes in pyrroles and hemoglobin. Redistribution of hemoglobin, a change in its conformation and oxygen-binding properties in chronic periodontitis is associated with a modification of the phospholipid spectrum of the erythrocyte membrane. These disorders correlate with oxidative phenomena and the activity of the extracellular lipolytic enzyme of red blood cells. The pathological changes in the oxygen-binding ability of hemoglobin and the biochemical characteristics of erythrocyte membranes depend on the severity of the course of chronic periodontitis.



### Заключение

При хроническом генерализованном пародонтите зарегистрировано нарушение кислородтранспортной функции гемоглобина в виде снижения способности гемоглобина связывать лиганды и уменьшения сродства гемоглобина к кислороду. Данные функциональные нарушения сопровождаются конформационными изменениями пирролов и в целом гемоглобина. Перераспределение гемоглобина, изменение его конформации и кислородсвязывающих свойств при хроническом пародонтите сопряжено модификацией фосфолипидного спектра клеточной мембраны эритроцита. Данные нарушения коррелируют с интенсивностью оксидативных явлений и активностью внутриклеточного липолитического фермента эритроцитов. Установлена зависимость патологических изменений кислородсвязывающей способности гемоглобина и биохимических характеристик эритроцитарных мембран от тяжести течения хронического пародонтита.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Амхадова М.А., Гаража С.Н., Хубаев З.С.С., Гришилова Е.Н., Хачатуров С.С., Ильина Е.Е., Хубаев Т.С.С. Эффективность комплексной терапии хронического генерализованного пародонтита. Российский стоматологический журнал. 2019; 1 (23): 7-9.
2. Еделев Д.А., Рябцун О.И., Нагорнев С.Н., Фролков В.К., Радченко С.Н., Датий А.В. Морфофункциональные предикторы и способ интегральной оценки клинической эффективности применения немедикаментозных методов лечения хронического пародонтита. Российский журнал восстановительной медицины. 2019; 2: 88-107.
3. Пинелис Ю.И., Малежик М.С., Малежик Л.П. Роль свободнорадикального окисления в патогенезе хронического воспаления пародонта у лиц пожилого возраста. Успехи геронтологии. 2017; 1(30):109-113.
4. Wood B.R., Caspers P., Puppels G.J., Pandiancherri S., McNaughton D. Resonance Raman spectroscopy of red blood cells using near-infrared laser excitation. Anal. Bioanal. Chem. 2007; 387: 1691-1703.
5. Власов А.П., Трофимов В.А., Тарасова Т.В., Тюркина Е.П., Котлова Е.В., Ледяйкина Л.В. Структурно-функциональное состояние гемоглобина при гестозе. 2012; 6. <http://www.science-education.ru/106-7340>.
6. Brazhe N.A., Abdali S., Brazhe A.R. New Insight into Erythrocyte through In Vivo Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. Biophys. J. US. 2009; 12 (97): 3206-3214.
7. Халилов Р.А., Джафарова А.М., Астаева М.Д. Оценка состояния прооксидантно-антиоксидантной системы крови и некоторых морфофункциональных параметров эритроцитов у больных хроническим бруцеллезом. Здоровье и образование в XXI веке. 2016; 9. <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-sostoyaniya-prooksidantno-antioksidantnoy-sistemy-krovi-i-nekotoryh-morfofunktsionalnyh-parametrov-eritrotsitov-u-bolnyh>.

### REFERENCES

1. Amkhadova M.A., Garage S.N., Khubaev Z.S.S., Grishilova E.N., Khachaturov S.S., Ilyina E.E., Khubaev T.S.S. The effectiveness of complex therapy of chronic generalized periodontitis. Russian Dental Journal = Rossijskij stomatologicheskij zhurnal. 2019; 1 (23): 7-9. (In Russ)
2. Edelev D.A., Ryabtsun O.I., Nagornev S.N., Frolkov V.K., Radchenko S.N., Daniy A.V. Morphofunctional predictors and a method for the integrated assessment of the clinical effectiveness of the use of non-drug methods of treatment of chronic periodontitis. Russian Journal of Restorative Medicine = Rossijskij zhurnal vosstanovitel'noj mediciny. 2019; 2: 88-107. (In Russ)
3. Pinelis Yu.I., Malezhik MS, Malezhik L.P. The role of free radical oxidation in the pathogenesis of chronic periodontal inflammation in the elderly. The success of gerontology = Uspehi gerontologii. 2017; 1 (30): 109-113. (In Russ)
4. Wood B.R., Caspers P., Puppels G.J., Pandiancherri S., McNaughton D. Resonance Raman spectroscopy of red blood cells using near-infrared laser excitation. Anal. Bioanal. Chem. 2007; 387: 1691-1703. (In Russ)
5. Vlasov A.P., Trofimov V.A., Tarasova T.V., Tyurina E.P., Kotlova E.V., Ledyaykina L.V. Structural and functional state of hemoglobin in preeclampsia. 2012; 6. <http://www.science-education.ru/106-7340>. (In Russ)
6. Brazhe N.A., Abdali S., Brazhe A.R. New Insight into Erythrocyte through In Vivo Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. Biophys. J. US. 2009; 12 (97): 3206-3214.
7. Halilov R.A., Dzhafarova A.M., Astaeva M.D. Assessment of the state of the prooxidant-antioxidant blood system and some morphofunctional parameters of red blood cells in patients with chronic brucellosis. Health and education in the 21st century = Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke. 2016; 9. (In Russ) <https://cyberleninka.ru/article/n/otsenka-sostoyaniya-prooksidantno-antioksidantnoy-sistemy-krovi-i-nekotoryh-morfofunktsionalnyh-parametrov-eritrotsitov-u-bolnyh>. (In Russ)

8. Егоров Д.Ю., Козлов А.В. Природа продуктов ПОЛ, определяемая в сыворотке крови по реакции с 2-тио-барбитуровой кислотой. 1988.
9. Ревин В.В., Кленова Н.А., Громова Н.В., Груньюшкин И.П., Соломадин И.Н., Тычков А.Ю., Пестрякова А.А., Садыхова А.В., Ревина Е.С., Просникова К.В., Бурдон Ю.С., Желев Н. Физико-химические процессы и морфофункциональные характеристики эритроцитов человека при гипергликемии. *Front Physiol* . 2017; 8(30): 606. doi:10.3389 / fphys.2017.00606.
10. Ademowo OS, Sharma P, Cockwell P, Reis A, Chapple IL, Griffiths HR, Dias IH. Distribution of plasma oxidised phosphocholines in chronic kidney disease and periodontitis as a co-morbidity. *Free Radic Biol Med*. 2019.
11. Welbourn EM, Wilson MT, Yusof A, Metodiev MV, Cooper CE. The mechanism of formation, structure and physiological relevance of covalent hemoglobin attachment to the erythrocyte membrane. *Free Radic Biol Med*. 2017;103:95-106. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.12.024.
12. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*. 2018; 25(3):486-541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4. Epub 2018 Jan 23.
13. Митянина В.А., Паршина Е.Ю., Юсипович А.И., Максимов Г.В., Селищева А.А. Исследование кислородсвязывающих свойств эритроцитов у детей с разными сроками заболевания сахарным диабетом 1-го типа. *Бюл. экспер. биол. мед*. 2012; 4 (153): 499-503.
14. Юсипович А.И., Браже Н.А., Лунева О.Г., Паршина Е.Ю., Чурин А.А., Родненков О.В. Изменение состояния гемоглобина у больных ишемической болезнью сердца и больных с недостаточностью кровообращения. *Бюл. экспер. биол. мед*. 2013; 155; 2:201-203.
15. Меринова, Н. И., Козлова, Н. М., Колесниченко, Л. С., Суслова, А. И., Ясько, М. В., Егорова, И. Э., Бахтаирова, В. И., Булавинцева, О. А., Леонова, З. А.. Малоновый диальдегид и система глутатиона в крови у больных хроническим панкреатитом в зависимости от длительности заболевания. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2013; 119 (4): 67-69.
8. Egorov D.Yu., Kozlov A.V. The nature of lipid peroxidation products determined in blood serum by reaction with 2-thiobarbituric acid. 1988. . 1988 (In Russ)
9. Revin V.V., Klenova N.A., Gromova N.V., Grunuyushkin I.P., Solomadin I.N., Tychkov A.Yu., Pestryakova A.A., Sadikhova A.V., Revina E.S., Prosnikova K.V., Bourdon Yu.S., Zhelev N. Physico-chemical processes and morphofunctional characteristics of human red blood cells with hyperglycemia. *Front Physiol*. 2017; 8 (30): 606. doi: 10.3389 / fphys.2017.00606.
10. Ademowo O.S., Sharma P., Cockwell P., Reis A., Chapple I.L., Griffiths H.R., Dias I.H. Distribution of plasma oxidized phosphocholines in chronic kidney disease and periodontitis as a co-morbidity. *Free Radic Biol Med*. 2019.
11. Welbourn E.M., Wilson M.T., Yusof A., Metodiev M.V., Cooper C.E. The mechanism of formation, structure and physiological relevance of covalent hemoglobin attachment to the erythrocyte membrane. *Free Radic Biol Med*. 2017; 103: 95-106. doi: 10.1016 / j.freeradbiomed.2016.12.024.
12. Molecular mechanisms of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ*. 2018; 25 (3): 486-541. doi: 10.1038 / s41418-017-0012-4. Epub 2018 Jan 23.
13. Mityanina V.A., Parshina E.Yu., Yusipovich A.I., Maksimov G.V., Selishcheva A.A. Study of the oxygen-binding properties of red blood cells in children with different periods of type 1 diabetes mellitus. *Bull. expert. biol. med = Bjul. jeksper. biol. med*. 2012; 4 (153): 499-503. (In Russ)
14. Yusipovich A.I., Brazhe N.A., Luneva O.G., Parshina E.Yu., Churin A.A., Rodnenkov O.V. Change in hemoglobin state in patients with coronary heart disease and patients with circulatory failure. *Bull. expert. biol. honey. = Bjul. jeksper. biol. med*. 2013; 155; 2: 201-203. (In Russ)
15. Merinova, N.I., Kozlova, N.M., Kolesnichenko, L.S., Suslova, A.I., Yasko, M.V., Egorova, I.E., Bakhtairova, V.I., Bulavintseva, O.A., Leonova, Z. A. Malondialdehyde and the glutathione system in the blood of patients with chronic pancreatitis, depending on the duration of the disease. *Siberian Medical Journal = Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk)*. 2013; 119 (4): 67-69. (In Russ)

## Авторы

Власова Татьяна Ивановна  
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»

Доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры нормальной и патологической физиологии  
Российская Федерация, 430005, г. Саранск, ул. Больше-вистская, 68  
vlasova.tatyanka@mail.ru

Сидоренко Александр Николаевич  
ФГБОУ ВО «Кубанский государственный медицинский университет»

## Authors

Tatyana I. Vlasova  
National Research Ogarev Mordovia State University  
Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Normal and Pathological Physiology  
68 Bolshevitskaya str. Saransk Russian Federation 430005  
vlasova.tatyanka@mail.ru

Alexander N. Sidorenko  
Kuban State Medical University  
Dr. Sci. (Med.), associate professor, associate Professor, Department of Orthopedic Dentistry  
4 M. Sedina str. Krasnodar Russian Federation 350063  
info@rosminzdrav.ru



Доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры ортопедической стоматологии  
Российская Федерация, 350063, г. Краснодар, ул. им. М. Седина, 4  
info@rosminzdrav.ru

Кондюрова Евгения Викторовна  
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»  
Кандидат медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой стоматологии  
Российская Федерация, 430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68

Ташина Елена Андреевна  
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»  
Аспирант кафедры стоматологии  
Российская Федерация, 430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68

Акимов Владимир Владимирович  
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»  
Соискатель кафедры стоматологии  
Российская Федерация, 430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68

Федоськина Анна Сергеевна  
Студент 5 курса Медицинского института  
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»  
Российская Федерация, 430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68

Косынкина Дарья Дмитриевна  
ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»  
Студент 6 курса Медицинского института  
Российская Федерация, 430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68.

Evgenia V. Kondyurova  
National Research Ogarev Mordovia State University  
Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Dentistry  
68 Bolshevitskaya str. Saransk Russian Federation 430005

Elena A. Tashina  
National Research Ogarev Mordovia State University  
Postgraduate student, Department of Dentistry  
68 Bolshevitskaya str. Saransk Russian Federation 430005

Vladimir V. Akimov  
National Research Ogarev Mordovia State University  
Applicant for the Department of Dentistry  
68 Bolshevitskaya str. Saransk Russian Federation 430005

Anna S. Fedoskina  
National Research Ogarev Mordovia State University  
5th year student of the Medical Institute  
68 Bolshevitskaya str. Saransk Russian Federation 430005

Daria D. Kosykina  
National Research Ogarev Mordovia State University  
6th year student of the Medical Institute  
68 Bolshevitskaya str. Saransk Russian Federation 430005