“ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ»
 “EXPERIMENTAL AND CLINICAL PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY”
Науково-практичний журнал/Scientific-practical journal

Наукові статті / Research Articles
 ECPB 2021, 3/4(93): 28–32

УДК 616.311.2+616.314.17. – 008.6:612.015.13]-092.9

Особливості зрушень стану протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта за умов формування експериментального парадонтиту та іммобілізаційного стресу

П.В. ОЛЕКШІЙ

Львівський медичний інститут, Львів, Україна

E-mail: lvivmedinst@gmail.com

Резюме. Метою дослідження було вивчення стану протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального парадонтиту (ЕП) та іммобілізаційного стресу (ІС). Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), масою тіла 0,18–0,21 кг, яких поділили на чотири групи (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група – тварини з експериментальним парадонтитом за умов іммобілізаційного стресу (3-тя доба); третя група – морські свинки з ЕП та ІС на 5-ту добу комбінованого модельного процесу; четверта група – тварини з ЕП та ІС (15-та доба). Експериментальний парадонтит моделювали за методом З.Р. Жоган (1983). Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996). Стан протеїназо-інгібіторної системи оцінювали за загальною протеолітичною активністю – за лізисом азоальбуміну, азоказеїну й азоколагену та інгібіторів протеолізу за вмістом альфа 1- інгібітора протеїназ ($\alpha 1$ -ІП), альфа-2-макроглобуліну за методом Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента. Результати проведених досліджень показали активізацію процесів лізису усіх визначених нами маркерів. Так, встановлено поступове інтенсивне зростання азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в тканинах пародонта впродовж усього експерименту. Динаміка активності інгібіторів протеїназ характеризується зниженням всіх досліджуваних маркерів в усі досліджувані нами доби ЕП та ІС, що свідчить про їх пригнічення. Одержані результати дають підставу думати про порушення балансу в системі у протеїназо-інгібіторній системі з перевагою протеїназного потенціалу на тлі депресії інгібіторів.

Ключові слова: парадонтит, стрес, азоальбумін, азоказеїн, азоколаген, $\alpha 1$ -інгібітор протеаз, $\alpha 2$ -макроглобулін.

Peculiarities of shifts in the state of proteinase-inhibitory system in periodontal tissues under conditions of formation of experimental periodontitis and immobilization stress

P.V. OLEKSHIJ

Lviv Medical Institute, Lviv, Ukraine

Abstract. The aim was to study the state of the proteinase-inhibitory system in periodontal tissues in the dynamics of experimental periodontitis (EP) and immobilization stress (IS). Experimental studies were performed on 40 guinea pigs (males), body weight 0.18-0.21 kg, were divided into four groups (10 in each): the first – intact animals – control; the second (experimental) group – animals with experimental periodontitis under conditions of immobilization stress (3rd day), the third group included guinea pigs with EP and IS on the 5th day of the combined model process, to IV – animals with EP and IS 15th day. Experimental periodontitis was modeled by the method of ZR Jogan (1983). Immobilization stress was reproduced by the method of PD Horizontov (1996). Condition of proteinase-inhibitory system in periodontal tissues was determined by lysis of the azoalbumin, azokasein and azokolagen and maintenance content of α 1-protease inhibitor (α 1-IP), α 2-macroglobulin by method of Veremeenko K.N., Goloborodko O.P. (1988). The results of the research showed the activation of lysis processes of all markers identified by us. Thus, a gradual intensive growth of azoalbumin, azocasein and azocollagen in periodontal tissues was found throughout the experiment. The dynamics of the activity of proteinase inhibitors is characterized by a decrease in all studied markers in all studied days of EP and IS, which indicates their inhibition. The obtained results give reason to think about the imbalance in the system in the proteinase-inhibitory system with the predominance of proteinase potential against the background of inhibitor depression.

Key words: periodontitis, stress, azoalbumin, azokasein, azokolagen, α 1-protease inhibitor, α 2-macroglobulin.

Вступ. Генералізований пародонтит (ГП) є найбільш поширеним стоматологічним захворюванням, прогресування якого призводить до втрати зубів і резорбції кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп [1]. Унаслідок значного поширення й труднощів лікування захворювання пародонта стають значну медичну та соціальну проблему [2]. На сьогодні доведено, що етіологію та патогенез ГП слід характеризувати як інтегральний процес, що відбувається внаслідок порушень функціонального стану як тканин пародонта, так і різноманітних органів та систем [3]. Однією з основних систем організму, що контролює гомеостаз, є протеїназо-інгібіторна система (ПІС), зміни в якій призводять до виникнення низки захворювань. З протеолізом тісно поєднані захисні системи організму – зсідання крові, фібриноліз, кініногенез, імунні реакції, створення біологічно-активних пептидів і гормонів, тощо. Відомо, що патогенез багатьох хвороб асоціюється зі змінами протеолітичної активності [4]. Найважливіший механізм регулювання активності протеїназ здійснюється за допомогою тканинних і сироваткових білків-інгібіторів, які можна розглядати як одну із захисних систем організму [4].

При патології рівновага між ферментами та їх інгібіторами порушується, що призводить до розвитку запальних, алергічних реакцій. У зв'язку з цим отримання, вивчення механізмів функціонування та регуляції протеолізу є важливим завданням біохіміків, патофізіологів та клініцистів.

Мета дослідження: вивчення стану протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту (ЕП) та іммобілізаційного стресу (ІС).

Матеріали й методи дослідження. Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), масою тіла 0,18–0,21 кг. Усіх експериментальних тварин утримували на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Морські свинки були поділені на чотири групи (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група – тварини з експериментальним пародонтитом за умов іммобілізаційного стресу (3-тя доба); третя група – морські свинки з ЕП та ІС на 5-ту добу комбінованого модельного процесу; четверта група – тварини з ЕП та ІС (15-та доба).

Експериментальний пародонтит моделювали за методом З.Р. Жоган (1983) [5]. Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996) [6]. Нами були вибрані фіксовані доби (3-тя, 5-та й 15-та) для досліджень, які відповідали класичним стадіям гострого запального процесу. Евтаназію тварин проводили шляхом декапітації з дотриманням Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985).

Стан протеїназо-інгібіторної системи оцінювали за загальною протеолітичною активністю – за лізисом азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) і азоколагену (колагеноліз) та інгібіторів протеолізу за вмістом альфа 1-інгібітора протеїназ ($\alpha 1$ -ІІІ), альфа-2-макроглобуліну за методом Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988 [7]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Результати проведених досліджень показали значну активізацію процесів лізису усіх визначених нами маркерів впродовж усього експерименту. Так, було зафіксовано підвищення вмісту азоальбуміну в тканинах пародонта на 3-тю, 5-ту й 15-ту доби ЕП та ІС відповідно на 62,5% ($p \leq 0,05$), 70,8% ($p \leq 0,05$) і 83,3% ($p \leq 0,05$) порівняно з контролем (рис. 1).

Визначення наступного показника протеолітичної активності – азоказеїну в тканинах пародонта залежно від тривалості дії пошкоджуючих факторів також показало його стрімке зростання на 71,2% ($p \leq 0,05$), 86,3% ($p \leq 0,05$) і 93,1% ($p \leq 0,05$) за умов формування ЕП та ІС (на 3-тю, 5-ту й 15-ту доби) порівняно з інтактною групою тварин (рис.1).

Щодо активності азоколагену, то результати дослідження засвідчують, що його рівень аналогічно зростав у тварин другої, третьої та четвертої груп при цій поєднаній експериментальній моделі відповідно на 56,0 % ($p \leq 0,05$), 72,0% ($p \leq 0,05$) і 96,0% ($p \leq 0,05$) порівняно з показниками контрольних величин, що свідчить про активацію колагенолізу в тканинах пародонта зокрема, та виражене прогресування розпаду протеїнів в цілому (рис. 1).

Отже, підсумовуючи дослідження показників протеїназ в тканинах пародонта, можна зробити висновок про стимуляцію процесів протеолізу та їх інтенсифікацію в міру розвитку патологічного процесу.

Рис. 1. Динаміка протеолітичної активності в тканинах пародонта морських свинок при ЕП та ІС (% від контролю)

Вміст білкових інгібіторів у тварин пародонта за умов формування комбінованої патології також зазнавав виражених змін протягом усього експерименту. Встановлено достовірне зниження рівня $\alpha 2$ -макроглобуліну відповідно на 42,8% ($p \leq 0,05$), 47,2% ($p \leq 0,05$) та 58,2% ($p \leq 0,05$) на 3-тю, 5-ту та 15-ту доби ЕП та ІС відносно контролю (рис.2).

Окрім визначення $\alpha 2$ -МГ, проводилось дослідження $\alpha 1$ -ІП в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту та імобілізаційного стресу. Встановлено його зниження на 47,5% ($p \leq 0,05$) та на 50,4% ($p \leq 0,05$) на 3-тю та 5-ту доби порівняно з першою групою тварин. У подальшому, на 15-ту добу експерименту, спад досліджуваного нами маркера досягнув 58,5% ($p \leq 0,05$) проти інтактних тварин (рис. 2).

Рис.2. Стан інгібіторної системи в тканинах пародонта морських свинок при ЕП та ІС (% від контролю)

Висновки. Оцінюючи результати проведених біохімічних досліджень показників протеїназо-інгібіторної системи, можна зробити висновок про суттєву перевагу процесів катаболізму протеїнів, яка зростає в міру розвитку патологічного процесу та є потужним пошкоджувальним фактором, і водночас – про зниження системи захисту. Так, встановлено поступове інтенсивне зростання азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в тканинах пародонта впродовж усього експерименту. Динаміка активності інгібіторів протеїназ характеризується зниженням усіх досліджуваних маркерів в усі досліджувані нами доби ЕП та ІС, що свідчить про їх пригнічення. Одержані результати дають підставу думати про порушення балансу в системі у протеїназо-інгібіторній системі з перевагою протеїназного потенціалу на тлі депресії інгібіторів.

Рекомендовано до друку комісією з етики

ПОСИЛАННЯ

1. Кононова ОВ. Показники клітинної ланки імунітету у хворих на генералізований пародонтит в умовах психоемоційного стресу. Сучасна стоматологія. 2019;1:42–5. (Kononova OV. Pokaznyky klityynnoi lanky imunitetu u chvorych na generalizovanyj parodontyt v umovach psychoemocijnogo stresu. Suchasna stomatologia. 2019;1:42–5).
2. Кононова ОВ. Патолофізіологічне дослідження впливу комплексу адреноблокаторів на регенерацію кістки щелепи. Сучасна стоматологія. 2018;3:36–8. (Kononova OV. Patophysiolohichne doslidzhennia vplyvu kompleksu adrenoblokatoriv na reheneratsiu kistky shchelepy. Suchasna stomatologia. 2018;3:36–8).
3. Arunachalam M, Pulikkotil SJ, Sonia N. Platelet Rich Fibrin in Periodontal Regeneration. The Open Denistry Journal. 2016.
4. Dixit S, Doshi Y, Shah MU, Dabholkar CS. Management of chronic generalized periodontitis using diode laser. J Indian Soc Periodontol 2016;20:88–90.
5. Jogan ZR. Clinico-experimentalne obosnovanie usovershenstvovania orthopedichnyx metodiv pry complexnomu likuvanni chvorob parodonta. Author's ref. Dis. Candidate of Medical Sciences, Kyiv; 1996. 18 p.
6. Горизонтов ПД, Белоусов ОИ, Федотов МИ. Стресс и система крови. М.: Медицина; 1983. 338 с. (Gorizontov PD, Belousov OI, Fedotov MI. Stress i sistema krovi. M.: Medicine; 1983. 338 p.).
7. Veremeenko KN, Goloborodko AP, Kyzym AY. Proteolysis in norm and at pathology. K.: Health; 1988. 200 p.

Стаття надійшла до редколегії 20.10.2021