

Внесок авторів / **authors' contribution:**

Усі автори зазначають про рівномірний вклад в концепцію, написання та затвердження статті. Автори прочитали й погодилися з опублікованою версією рукопису.

Фінансування /**Funding** Це дослідження не отримало зовнішнього фінансування.

Висновок комісії по біоетиці /**Institutional Review Board Statement.** Для проведення дослідження отримано позитивне рішення комісії з біоетики Одеського Національного медичного університету (протокол N 72 від 03.04.2023), дотримано основних морально-етичних принципів Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації з біомедичних досліджень.

Заява про доступність даних / **Data Availability Statement**

Вся інформація знаходиться у відкритому доступі, дані щодо конкретного пацієнта можуть бути отримані на запит у провідного автора.

Конфлікт інтересів /**Conflicts of Interest**

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів

Робота надійшла в редакцію 14.07.2023 року.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування

УДК 616.314.17-008.1:615.355:547.96:577.15.1]-092.4/.9

DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.10053111>

П. В. Олекшій, М. С.Регеда, І. Г. Гайдучок

ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ПРОТЕЇНАЗНО–ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ

Львівський медичний інститут

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Authors' Information

М. С. Регеда- <http://orcid.org/0000-0003-2810-914X>

Summary. Olekshij P. V, Regeda M. S., Hayduchok I. G. **CHARACTERISTICS OF CHANGES IN THE PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM IN PERIODONTAL TISSUES IN THE DYNAMICS OF EXPERIMENTAL PERIODONTITIS DEVELOPMENT.** - Lviv Medical Institute, Danylo Halytsky Lviv National Medical University. The aim of the study is to study the state of the proteinase-inhibitory system in periodontal tissues in the dynamics of experimental periodontitis (EP). Material and methods of research. Experimental studies were performed on 40 guinea pigs (males), were divided into four groups (10 in each): the first - intact animals - control; the second (experimental) group - animals with experimental periodontitis (3rd day), the third group included guinea pigs with EP on the 5th day of the combined model process, to IV - animals with EP 15th day.

Experimental periodontitis was modeled by the method of ZR Jogan (1983). 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 2-macroglobulin by method of Veremeenko K.N., Goloborodko O.P. (1988).

Results and discussion. Thus, an increase in the content of azoalbumin, azocasein and azocollagen during the entire period of the formation of experimental periodontitis was established. At the same time, the activity of protease inhibitors decreased only on the 5th and 15th day of the experiment. The obtained results give reason to think about an imbalance of the proteinase-inhibitory system, which is manifested by the activation of the processes of protein breakdown and a parallel decrease in the inhibitory potential under the conditions of the development of EP. Thus, our research of biochemical parameters of the proteinase-inhibitor system in periodontal tissues during experimental periodontitis revealed an increase in proteolytic activity against the background of insufficiently expressed compensatory mechanisms of protein inhibitors with the advantage of mechanisms of damage over mechanisms of protection.

Key words: periodontitis, azoalbumin, azocasein, azocollagen, α 1-protease inhibitor, α 2-macroglobulin.

Реферат. Олексій П. В., Регада М. С., Гайдучок І. Г. **ХАРАКТЕРИСТИКА ЗМІН ПРОТЕІНАЗНО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА В ДИНАМІЦІ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТУ.** **Мета дослідження** - вивчити стан протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту (ЕП). **Матеріал та методи досліджень.** Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), які розподіляли на чотири групи (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група - тварини з експериментальним пародонтитом (3-я доба), до III групи відносили морські свинки з ЕП на 5-у добу комбінованого модельного процесу, до IV - тварини з ЕП (15-а доба). Експериментальний пародонтит моделювали за методом З.Р.Жоган (1983). Стан протеїназо-інгібіторної системи оцінювали за загальною протеолітичною активністю – за лізисом азоальбуміну, азоказеїну і азоколагену та інгібіторів протеолізу за вмістом альфа 1- інгібітора протеїназ, альфа-2-макроглобуліну за методом Веремєєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стюдента. **Результати досліджень.** Встановлено зростання вмісту азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену протягом усього періоду формування експериментального пародонтиту. Водночас активність інгібіторів протеаз знижувалась лише на 5-у та 15-у добу експерименту. Одержані результати дають підставу думати про порушення дисбаланс протеїназо-інгібіторної системи, яке проявляється активізацією процесів розпаду білків та паралельним зниженням інгібіторного потенціалу за умов розвитку ЕП. **Висновок.** Проведенні дослідження біохімічних показників протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта при експериментальному пародонтиті виявили зростання протеолітичної активності на тлі недостатньо виражених компенсаторних механізмів білкових інгібіторів з перевагою механізмів пошкодження над механізмами захисту.

Ключові слова: пародонтит, азоальбумін, азоказеїн, азоколаген, α 1-інгібітор протеаз, α 2-макроглобулін.

Вступ. З кожним роком захворювання пародонта набувають все більше поширення серед населення України. Вони представляють собою значну загально-медичну та соціальну проблему й супроводжуються значною втратою зубів у населення відносно молодого працездатного віку. Патологічний процес у пародонті представляє собою вогнище інфекції, ротового сепсису і має значний негативний вплив на організм у цілому [6]. Важливими чинниками, що визначають патогенез пародонтиту, є видовий і кількісний склад мікрофлори ротової порожнини, а також стан імунної системи [3, 4]. Останній фактор відіграє чи не ключову роль у розвитку запальних захворювань пародонта. При пародонтитах порушується локальний і системний метаболізм, гемодинаміка, мають місце імунологічні й нейрорегуляторні розлади, що є наслідком індукції прозапальної експресії тканинних цитокінів, активації хемоатрактантів і втягнення в патологічний процес прозапальних клітин [3, 7]. Деструкцію тканин при захворюваннях пародонта вважають результатом зміни запально-імунологічної відповіді на мікробний наліт, що передбачає

масову продукцію фагоцитів [7]. Основну роль у механізмі захисту структур ротової порожнини від бактеріальної інвазії відіграють клітини ясенного епітелію, які реалізують адаптивну імунну відповідь і вивільняють прозапальні цитокіни [5].

Провідними ланцюгами патогенезу ушкоджень органів порожнини рота вважають активацію вільнорадикального окиснення (ВРО), дисбаланс системи “протеоліз-антипротеази”, мікробний фактор та тканинну гіпоксію [4, 8]. Інтенсивність процесів протеолізу контролюється низкою тканинних та плазмових інгібіторів протеїназ (альфа 2-макроглобулін ($\alpha 2$ -МГ), альфа 1-інгібітора протеїназ ($\alpha 1$ -ІП), антитромбін ІІІ, тканинний інгібітор матричної металопротеїнази-1, тощо [3, 4]). Роль і значення стану протеїназо-інгібіторної системи (ПІС) в тканинах пародонта у механізмах розвитку експериментального пародонтиту залишається не з’ясованою.

Мета дослідження - вивчення стану протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту (ЕП).

Матеріал та методи досліджень. Експериментальні дослідження проводились на 40 морських свинках (самцях), що утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. Морські свинки розподіляли на чотири групи (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група - тварини з експериментальним пародонтитом (3-я доба), до ІІІ групи відносили морські свинки з ЕП на 5-у добу модельного процесу, до ІV - тварини з ЕП (15-а доба).

Експериментальний пародонтит моделювали за методом З.Р.Жоган (1983) [2]. Нами були вибрані фіксовані доби (3-я, 5-а та 15-а) для досліджень, які відповідали класичним стадіям гострого запального процесу. Усіх експериментальних тварин утримували в стандартних умовах віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького. 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 лізісом азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) і азоколагену (колагеноліз) та інгібіторів протеолізу за вмістом альфа 1-інгібітора протеїназ, альфа-2-макроглобуліну за методом Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988 [1]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стюдента.

Результати дослідження та їх обговорення

Результати проведених нами досліджень показали, що вже початковий етап експериментального пародонтиту характеризується активізацією процесів протеолізу. На це вказує збільшення протеолітичної активності в тканинах пародонта, що підтверджується достовірним зростанням лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену. Так, спостерігаємо підвищення показників азоальбуміну в тканинах пародонта, (3-я, 5-а та 15-а доби) відповідно на 23,6% ($p \leq 0,05$), 37,5% ($p \leq 0,05$) та 19,4% ($p \leq 0,05$) в порівнянні з контрольною групою. Вміст досліджуваних маркерів у тканинах пародонта морських свинки при експериментальному пародонтиті представлено на рис. 1.

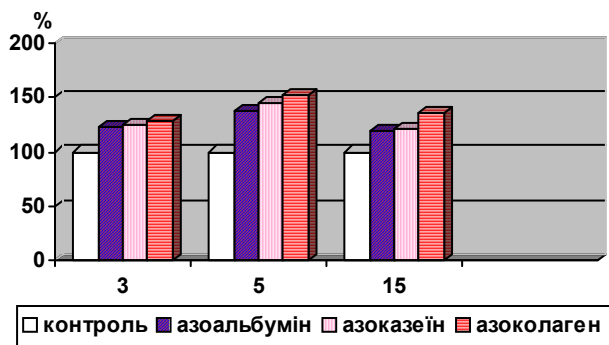


Рис.1. Динаміка протеолітичної активності в тканинах пародонта морських свинки при ЕП (% від контролю).

Аналогічний напрям змін виявлено під час дослідження рівня азоказеїну та азоколагену, які також суттєво зростали за умов розвитку ЕП, як на 3-ю добу (збільшення на 24,6% ($p \leq 0,05$) та 28,0% ($p \leq 0,05$) відповідно), так і на 5-у добу цієї експериментальної моделі (на 45,2% ($p \leq 0,05$) та 52,0% ($p \leq 0,05$) відповідно) в порівнянні з групою інтактних тварин. У подальшому також фіксуємо збільшення досліджуваних показників, але не таке вагоме, як на початку експерименту. Рівень азоказеїну зростає на 20,5% ($p \leq 0,05$), а азоколагену на 36,0% ($p \leq 0,05$) на 15-у добу ЕП напроти контрольної групи. Результати проведених досліджень показали значну активізацію процесів лізису усіх визначених нами маркерів впродовж усього експерименту.

Дослідження білкових інгібіторів, зокрема, $\alpha 1$ -інгібітора протеаз та $\alpha 2$ -макроглобуліну при експериментальному пародонтиті не виявило змін на 3-ю добу в порівнянні з I групою тварин, що може свідчити про включення компенсаторних механізмів захисту протеїназо-інгібіторної системи. Проте, вже на 5-у та 15-у доби ЕП спостерігаємо достовірне зниження показника $\alpha 1$ -ІП на 38,4% і на 46,2% ($p \leq 0,05$) проти показників інтактної групи морських свинок, що дає підставу стверджувати про супресію інгібіторного захисту.

Подібна тенденція зрушень встановлена щодо активності $\alpha 2$ -макроглобуліну в тканинах пародонта на досліджувані доби експериментального пародонтита: спад на 39,5% ($p \leq 0,05$) на 5-у добу і на 35,1% ($p \leq 0,05$) на 15-у добу експерименту в порівнянні з групою інтактних морських свинок. Динаміка активності інгібіторів протеаз у тканинах пародонта мурчаків представлена на рис. 2.

Одержані дані дають підставу стверджувати про порушення стану протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта за умов формування ЕП з перевагою стимуляції протеолітичної активності.

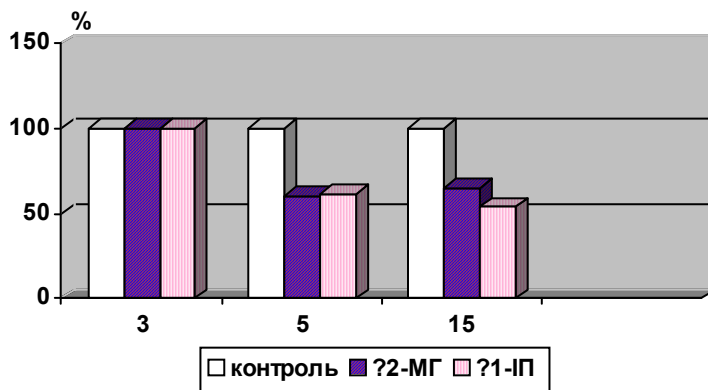


Рис.2. Стан інгібіторної системи в тканинах пародонта морських свинок при ЕП (% від контролю).

Висновки. Таким чином, встановлено зростання вмісту азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену протягом усього періоду формування експериментального пародонтита. Водночас активність інгібіторів протеаз знижувалась лише на 5-у та 15-у добу експерименту. Одержані результати дають підставу думати про дисбаланс протеїназо-інгібіторної системи, яке проявляється активізацією процесів розпаду білків та паралельним зниженням інгібіторного потенціалу за умов розвитку ЕП. Таким чином, проведенні нами дослідження біохімічних показників протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта при експериментальному пародонтиті виявили зростання протеолітичної активності на тлі недостатньо виражених компенсаторних механізмів білкових інгібіторів з перевагою механізмів пошкодження над механізмами захисту.

Література:

1. Веремеєнко К.Н. Протеолиз в норме и при патологии / К.Н.Веремеєнко, О.П. Голобородько, А.И.Кизим // К.: Здоров'я, 1988. – 200с.

2. Жоган З.Р. Клинико-экспериментальное обоснование усовершенствования ортопедических методов при комплексном лечении заболеваний пародонта. Автореф. Дис. К.мед.н., Киев, 1996.-с. 18.
3. Кононова О. В. Ефективність лікування загостреного перебігу генералізованого пародонтиту у хворих з проявами психоемоційного стресу / О. В. Кононова // Сучасна стоматологія. - 2020. - № 2. - С. 24-28.
4. Кононова О. В. Віддалені результати лікування хворих на генералізований пародонтит з проявами психоемоційного стресу / О. В. Кононова // Новини стоматології. - 2019. - № 2. - С. 6-10. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/Ns_2019_2_4.
5. Riznyk S.S. Cytokine status in patients with generalized periodontitis in the settings of type II diabetes mellitus / Riznyk S.S., Riznyk Yu.B. //Actual Dentistry. №4. 2020. P. 22-25
6. Романова Ю. Г. Сучасний погляд на методи профілактики та лікування хронічного генералізованого пародонтиту/Ю.Г. Романова; І.І. Барніч/ Експериментальна та клінічна стоматологія. 2018. №1 (2).-С.9-13.
7. Dixit S, Doshi Y, Shah MU, Dabholkar CS. Management of chronic generalized periodontitis using diode laser. J Indian Soc Periodontol 2016;20:88- 90.
8. Newman M., Takei H., Klokkevold P., Carranza F. Newman and Carranza's Clinical Periodontology, 13th Edition. — St. Louis: Saunders, 2018. — 944 p.

References:

1. Veremeenko K.N., Goloborodko A.P., Kyzym A.Y. (1988). Proteolysis in norm and at pathology. K.: Health, 200p. (in Ukrainian)
2. Jogan ZR Clinico-experimentalne obosnovanie uovershenstvovania orthopedichnykh metodiv pry complexnomu likuvanni chvorob parodonta. Author's ref. Dis. Candidate of Medical Sciences, Kyiv, 1996. p.18. (in Ukrainian)
3. Kononova OV Efektyvnist likuvannja zagostrenogo perebigu generalizovanogo parodontytu v chvorych z proyavamy psychoemocijnogo stresu. Suchasna stomatologia. 2020. № 2. P. 24-28. (in Ukrainian).
4. Kononova OV Viddaleni rezultaty likuvannja chvorych na generalizovanyj parodontyt v umovach psychoemocijnogo stresu. Novyny stomatologii. 2019. № 2. P. 6-10. (in Ukrainian)
5. Riznyk S.S. Cytokine status in patients with generalized periodontitis in the settings of type II diabetes mellitus / Riznyk S.S., Riznyk Yu.B. //Actual Dentistry. №4. 2020. P. 22-25(in English).
6. Romanova Yu. G. , Barnich II Suchasnyj pogljad na metody profilachtyky ta likuvannja chronichnogo generalizovanogo parodontytu. Experymentalna i clinichna stomatologia. 2018. №1 (2) .- P.9-13. (in Ukrainian)
7. Dixit S, Doshi Y, Shah MU, Dabholkar CS. Management of chronic generalized periodontitis using diode laser. J Indian Soc Periodontol 2016;20:88- 90. (in English).
8. Newman, M., Takei, H., Klokkevold, P., & Carranza, F. (2018). Newman and Carranza's Clinical Periodontology, 13th Edition. St. Louis: Saunders, 944 (in English).

Робота надійшла в редакцію 12.07.2023 року.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування