

М. С. Рєгєда, П. В. Олєкшій

ВПЛИВ ТІОЦЕТАМУ НА ПОРУШЕНІ ПОКАЗНИКИ ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРАДОНТИТУ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ

Львівський медичний університет

Summary. Reheda M. S., Olekshij P. V. **THE INFLUENCE OF THIOCETAM ON THE DISTURBED INDICATORS OF THE PROTEINASE-INHIBITORY SYSTEM IN PERIODONTAL TISSUES UNDER THE CONDITIONS OF THE EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND IMMOBILIZATION STRESS FORMATION.** - *Lviv Medical University, Ukraine; e-mail: lvivmedinst@gmail.com. The aim:* to study the state of the proteinase-inhibitory system in the periodontal tissues in the dynamics of the development of experimental periodontitis (EP) and immobilization stress (IS) against the background of the use of thioacetam. **Material and methods.** Experimental studies were performed on 50 guinea pigs (males), 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 and up to V - animals on the 15th day of experiment with EP and IS after the use of thioacetam. Experimental periodontitis was modeled by the method of ZR Jogan (1983). Immobilization stress was reproduced by the method of PD Horizontov (1996). To correct disorders in group V, the drug was administered thioacetam at a rate of 250 mg / kg intramuscularly from the 6th day of the experiment for 10 days. Condition of proteinase-inhibitory system in periodontal tissues was determined by lysis of the azoalbumin, azocasein and azocollagen and maintenance content of α 1-protease inhibitor, α 2-macroglobulin by method of Veremeenko K.N., Goloborodko O.P. (1988). **Results and discussion.** Evaluating the research results, it can be concluded that under the conditions of the development of experimental periodontitis and immobilization stress, there is a violation of the functional state of the proteinase-inhibitor system, which is manifested by excessive activation of the proteinase potential (the level of azoalbumin, azocasein, and azocollagen increases) and the depression of protease inhibitors. This leads to the development of a proteinase-inhibitory imbalance, in particular, and a violation of cellular homeostasis, in general. The use of thioacetam showed its corrective effect on the changed indicators of proteolysis, a significant increase in inhibitory protection in the periodontal tissues of guinea pigs under the conditions of the development of EP and IS.

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

Реферат. Рєгєда М. С., Олєкшій П. В. **ВПЛИВ ТІОЦЕТАМУ НА ПОРУШЕНІ ПОКАЗНИКИ ПРОТЕЇНАЗО-ІНГІБІТОРНОЇ СИСТЕМИ В ТКАНИНАХ ПАРОДОНТА ЗА УМОВ ФОРМУВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРАДОНТИТУ ТА ІММОБІЛІЗАЦІЙНОГО СТРЕСУ.** **Мета дослідження:** вивчити стан протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту (ЕП) та іммобілізаційного стресу (ІС) на фоні застосування тїоцєтаму. **Матеріал та методи досліджень.** Експериментальні дослідження проводились на 50 морських свинках (самцях), які розподіляли на чотири групи (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група - тварини з

експериментальним пародонтитом за умов іммобілізаційного стресу (3-я доба), до III групи відносили морські свинки з ЕП та ІС на 5-у добу комбінованого модельного процесу, до IV - тварини з ЕП та ІС (15-а доба) і до V – тварини з ЕП та ІС на 15-у добу експерименту після застосування тіоцетаму. Експериментальний пародонтит моделювали за методом З.Р.Жоган (1983). Іммобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996). Для корекції порушень V групі тварин вводився препарат тіоцетам з розрахунку 250 мг/кг внутрішньом'язово з 6-ої доби експерименту впродовж 10 днів. Стан протеїназо-інгібіторної системи оцінювали за загальною протеолітичною активністю – за лізісом азоальбуміну, азоказеїну і азоколагену та інгібіторів протеолізу за вмістом альфа 1-інгібітора протеїназ, альфа-2-макроглобуліну за методом Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стюдента. **Результати дослідження та їх обговорення.** Оцінюючи результати досліджень, можна зробити висновок про те, що за умов розвитку експериментального пародонтита та іммобілізаційного стресу відбувається порушення функціонального стану протеїназо-інгібіторної системи, яке проявляється надмірною активацією протеїназного потенціалу (зростає рівень азоальбуміна, азоказеїна та азоколагена) і депресією інгібіторів протеаз. Це призводить до розвитку протеїназо-інгібіторного дисбалансу, зокрема і порушення клітинного гомеостазу, в цілому. Застосування тіоцетаму показало його коригуючий вплив на змінені показники протеолізу, суттєве збільшення інгібіторного захисту в тканинах пародонта морських свинок за умов розвитку ЕП та ІС.

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

Вступ. Захворювання пародонта є актуальною проблемою в Україні та світі. За розповсюдженістю вони посідають друге місце серед стоматологічних захворювань поряд з карієсом і його ускладненнями. У літературі ведеться активна дискусія щодо патогенезу, діагностики та лікування цього захворювання [4]. Однак усі патогенетичні механізми, що зумовлюють прогресування генералізованого пародонтита, досі залишаються не вивчені [5]. Великий інтерес для досліджень у галузі медицини та біології становить вивчення протеолітичних ферментів, які виконують важливу роль у життєдіяльності живого організму тому, що вони приймають участь не тільки в обміні білків, деградації їх аномальних молекул, поповненні амінокислотного пула клітини, але й у регуляторних процесах та в процесах проліферації та трансформації клітин [6]. В останні роки особливу увагу привертають глікопротеїди плазми крові, яким притаманна здатність зв'язувати протеолітичні ферменти, котрі відіграють ключову роль в обміні речовин. З дією ферментів протеолізу пов'язані різноманітні функції організму – гемостаз, фібриноліз, кініногенез, утворення активних форм білків, пептидів, імунні реакції, обмін сполучної тканини та ін. [7, 8]. Крім того, протеїнази беруть участь у запальних і алергічних реакціях, онкогенній трансформації, розвитку вірусних інфекцій, тощо [4, 6].

Рання діагностика та проведення необхідних лікувально-профілактичних заходів запобігає прогресуванню патологічного процесу в тканинах пародонта та сприяє збереженню здоров'я пацієнтів.

Мета дослідження: вивчити стан протеїназо-інгібіторної системи в тканинах пародонта в динаміці розвитку експериментального пародонтиту (ЕП) та іммобілізаційного стресу (ІС) на фоні застосування тіоцетаму.

Матеріал та методи досліджень. Експериментальні дослідження проводились на 50 морських свинках (самцях), що утримувалися на стандартному раціоні віварію Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького.

Робота з тваринами та умови їхнього утримання здійснювали відповідно вимогам Директиви 2010/63/EU Європейського парламенту від 22 вересня 2010 р. «Про захист тварин, які використовуються для наукових досліджень» та наказу МОН, молоді та спорту України № 249 від 01.03.2012 р.

Морські свинки розподіляли на п'ять груп (по 10 у кожній): перша – інтактні тварини – контроль; друга (дослідна) група - тварини з експериментальним пародонтитом та

імобілізаційним стресом (3-я доба), до III групи відносили морські свинки з ЕП та ІС на 5-у добу комбінованого модельного процесу, до IV - тварини з ЕП та ІС на 15-у добу (без лікування тіоцетамом) і до V – тварини з ЕП та ІС на 15-у добу експерименту після застосування тіоцетаму.

Експериментальний пародонтит моделювали за методом З.Р.Жоган (1983) [3]. Імобілізаційний стрес відтворювали за методом П.Д. Горизонтова (1996) [2]. Для корекції порушень V групі тварин вводився препарат тіоцетам з розрахунку 250 мг/кг внутрішньом'язово з 6-ої доби експерименту впродовж 10 днів. 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 в тканинах пародонта 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 ($\alpha 1$ -ІП), альфа-2-макроглобуліну за методом Веремеєнко К.Н., Голобородько О.П., 1988 [1]. Статистичне опрацювання одержаних даних здійснювали за методом Стьюдента.

Результати дослідження та їх обговорення. Порівняльний аналіз показників засвідчив: поступове інтенсивне зростання азоальбуміну, азоказеїну та азоколагену в тканинах пародонта за умов формування розвитку експериментального пародонтиту та імобілізаційного стресу, особливо виражене на 15-у добу експерименту. Так, достовірне збільшення азоальбуміна в тканинах пародонта виявили у тварин на всі досліджувані доби: на 13,2% ($p \leq 0,05$) на 5-у добу і на 33,2% ($p \leq 0,05$) на 15-у добу ЕП та ІС в порівнянні з тваринами на 3-ю добу модельного процесу, що свідчить про стимуляцію процесів протеолізу, особливо в пізній період комбінованої експериментальної моделі.

Подібна тенденція спостерігалась і з боку наступного показника протеолітичної активності - азоказеїну. Відмічаємо поступове його підвищення в залежності від тривалості патологічного процесу: на 5-у і 15-у доби відповідно на 21,2% ($p \leq 0,05$) і 30,7% ($p \leq 0,05$) відносно II групи мурчаків.

Відносно ще одного показника колагенолізу в тканинах пародонта, азоколагену, нами виявлено його суттєве збільшення по мірі розвитку ЕП та ІС. Підвищення даного маркера спостерігалось на 5-у добу на 10,2% ($p \leq 0,05$) і на 15-у добу на 25,6% ($p \leq 0,05$) напроти групи мурчаків на 3-ю добу експерименту.

Застосування тіоцетаму, фармакологічний ефект якого зумовлений взаємопотенціюючою дією тіотриазоліну та пірацетаму, призводило до зниження вмісту показників протеїназ в тканинах пародонта відповідно азоальбуміна на 47,7% ($p \leq 0,05$), азоказеїну на 52,4% ($p \leq 0,05$) і азоколагена на 46,2% ($p \leq 0,05$) напроти морських свинок, яким лікування на 15-у добу не проводили (рис. 1).

На тлі інтенсифікації протеолізу в тканинах пародонта мурчаків при ЕП та ІС виявлено значні зміни в системі інгібіторів протеаз. Зокрема, у всіх групах достовірно змінені активність $\alpha 2$ -макроглобуліну і $\alpha 1$ -ІП. Визначення активності $\alpha 2$ -макроглобуліну виявило поступове її зниження на 5-у та 15-у відповідно на 7,6% ($p \leq 0,05$) і на 26,9% ($p \leq 0,05$) відносно групи мурчаків на 3-ю добу експерименту. Дослідження наступного показника $\alpha 1$ -ІП показало, що зміни в його динаміці мають аналогічний напрямок. Достовірно є його регресія в усі досліджувані доби в порівнянні з II групою тварин: на 5,7% ($p \leq 0,05$) і 16,6% ($p \leq 0,05$) відповідно на 5-у та 15-у доби ЕП та ІС, що характеризує депресію цієї ланки захисту.

Результати проведеного лікування показали ефективність та підвищення активності досліджуваних маркерів. Так, після застосування тіоцетаму рівень $\alpha 2$ -макроглобуліну в тканинах пародонта істотно збільшився на 55,2% ($p \leq 0,05$) і $\alpha 1$ -ІП на 63,3% ($p \leq 0,05$) напроти морських свинок, які не піддавалися впливу цього препарату, що свідчить про позитивний його вплив на зазначені показники (рис.2).

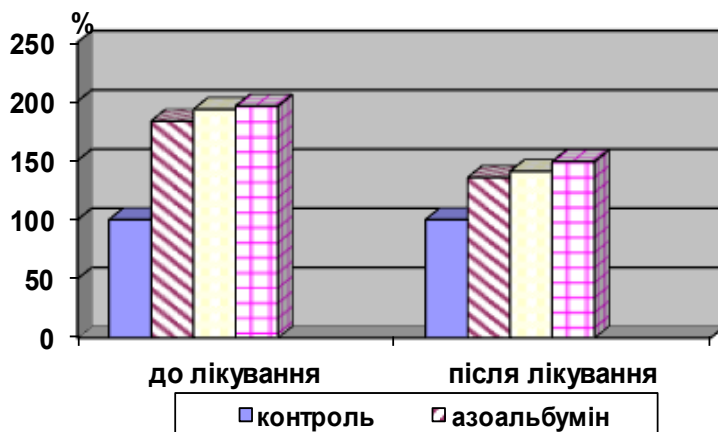


Рис.1. Вплив тіоцетаму на рівень протеолізу в тканинах пародонта морських свинок у динаміці формування ЕП та ІС (% від контролю).

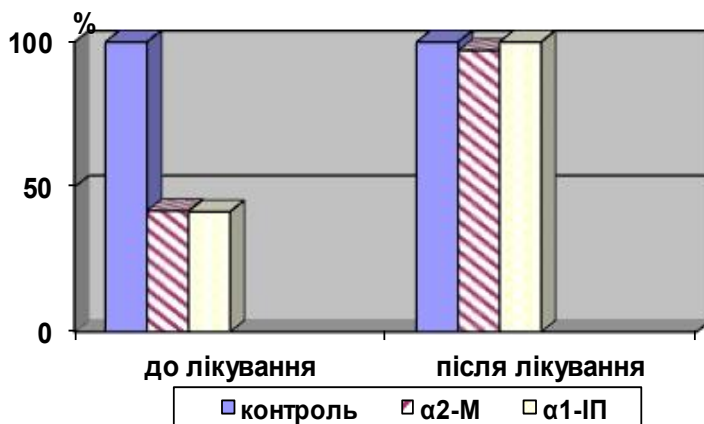


Рис.2. Вплив тіоцетаму на рівень інгібіторів протеаз у тканинах пародонта морських свинок у динаміці формування ЕП та ІС (% від контролю).

Висновки. Оцінюючи результати досліджень, можна зробити висновок про те, що за умов розвитку експериментального пародонтита та іммобілізаційного стресу відбувається порушення функціонального стану протеїназо-інгібіторної системи, яке проявляється надмірною активацією протеїназного потенціалу (зростає рівень азоальбуміна, азоказеїна та азоколагена) і депресією інгібіторів протеаз. Це призводить до розвитку протеїназо-інгібіторного дисбалансу, зокрема і порушення клітинного гомеостазу, в цілому. Застосування тіоцетаму показало його коригуючий вплив на змінені показники протеолізу, суттєве збільшення інгібіторного захисту в тканинах пародонта морських свинок за умов розвитку ЕП та ІС. З огляду на це, отримані дані свідчать про можливу доцільність призначення тіоцетаму в комплексній терапії у разі проведення подальших як експериментальних, так і клінічних досліджень.

Література:

1. Веремеєнко К. Н. Протеолиз в норме и при патологии / К. Н. Веремеєнко, О. П. Голобородько, А. И. Кизим // К.: Здоров'я, 1988. – 200 с.
2. Горизонтов П. Д. Стресс и система крови /П. Д. Горизонтов, О. И. Белоусов, М. И. Федотов./- М.: Медицина, 1983.- 338 с.

3. Жоган З. Р. Клинико-экспериментальное обоснование усовершенствования ортопедических методов при комплексном лечении заболеваний пародонта. Автореф. дис. ... к. мед. н. - Киев, 1996.- 18 с.
4. 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.
5. 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.
6. Сікіринська Д. О. Вплив краніоскелетної травми, ускладненою крововтратою, на функціональні і морфологічні порушення печінки у щурів з різною резистентністю до гіпоксії та їх корекція: Автореф. дис. ... к. мед. н. - Тернопіль, 2021. - 22 с.
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, 200 p. (in Ukrainian)
2. Gorizontov PD, Belousov OI, Fedotov MI. Stress i systema krovi. - M.: Medicine, 1983. — 338 p. (in Russian)
3. Jogan ZR Clinico - experimentalne obosnovanie usovershenstvovaniya orthopedichnykh metodiv pry complexnomu likuvanni khvorob parodonta. — Synopsis of candidate thesis on Medical Sciences. - Kyiv, 1996.- 18 p.
4. Kononova OV Efektyvnist likuvannja zagostrenogo perebigu generalizovanogo parodontytu v chvorych z projavamy psychoemocijnogo stresu // Suchasna stomatologia. - 2020. - № 2. - P. 24 - 28. (in Ukrainian).
5. Romanova Yu. G., Barnich II Suchasnyj pogljad na metody profilachtyky ta likuvannja chronichnogo generalizovanogo parodontytu. Experymentalna i klinichna stomatologia. 2018. №1 (2) .- P. 9 - 13. (in Ukrainian)
6. Sikirynska DO. Vplyv kranioskeletnoyi travmy, uskladnenoyu krovovtratoyu, na funktsional'ni i morfolohichni porushennya pechinky u shchuriv z riznoyu rezystentnistyu do hipoksiyi ta yikh korektsiya: Synopsis of candidate thesis on medicine. - Ternopil, 2021.- 22 p.
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. (2018). Newman and Carranza's Clinical Periodontology, 13th Edition. St. Louis: Saunders, 944

Робота надійшла в редакцію 05.12.2022 року.
Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування