

11. **Биохимические** маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.] . □ Одесса: КП «Одеська міська друкарня», 2010. □ 16 с.

12. **Ферментативный** метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.] – Киев: ГФЦ МЗ Украины, 2007. – 23 с.

13. **Асатиани В С.** Новые методы биохимической фотометрии / В. С. Асатиани. – М.: Наука, 1965. – С. 298.

14. **Терентьев П. В.** Практикум по биометрии / П. В. Терентьев, Н. С. Ростова. – Л.: ЛГУ, 1977. – 152 с.

15. **Левицкий А. П.** Влияние квертулина на содержание липидов в печени и в сыворотке крови крыс с эндотоксинемией / А. П. Левицкий, А. И. Гоженко, Е. М. Левченко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2013. – № 1(31). – С. 139-143.

16. **Левицкий А. П.** Гепато-оральный синдром / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко – Симферополь: Тарпан, 2012. – 140 с.

Поступила 26.06.14



УДК 616.314.17.001.57+(612.751.3:599.323.4)

**А. В. Николаева, к. мед. н., С. А. Шнайдер, д. мед. н.,
Е. К. Ткаченко, к. биол. н.,**

Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»

ИЗУЧЕНИЕ НАРУШЕНИЙ МЕТАБОЛИЗМА МЕЖКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА И ПАРОДОНТА КРЫС В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПАРОДОНТИТА

В опытах на 15 белых крысах-самках 18-мес. возраста моделировали пародонтит с помощью поддесневого введения экзогенной коллагеназы. Нарушения метаболизма МКМ СОПР и пародонта старых крыс выразились в значительной деградации геля, образующего основу МКМ. Об этом свидетельствовало существенное снижение содержания ГАГ и ионов магния в СОПР; в кости пародонта – снижение концентрации ионов цинка. В СОПР имел место факт воспаления, существенная активация процессов ПОЛ и недостаточное функционирование ферментов антиоксидантного действия в тканях ротовой полости. В костной ткани пародонта под действием коллагеназы наблюдались нарушения минерального обмена.

Ключевые слова: моделирование пародонтита, коллагеназа, меж-клеточный матрикс, гликозаминогликаны, воспаление слизистой оболочки полости рта, ткани пародонта, нарушения минерального обмена.

Г. В. Николаєва, С. А. Шнайдер, Є. К. Ткаченко,

Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

ВИВЧЕННЯ ПОРУШЕНЬ МЕТАБОЛІЗМУ МІЖКЛІТИННОГО МАТРИКСУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА І ПАРОДОНТУ ЩУРІВ В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ПАРОДОНТИТУ

В дослідях на 15 білих щурах-самцях 18-міс. віку моделювали пародонтит за допомогою під'ясневого введення екзогенної коллагенази. Порухення метаболізму МКМ СОПР і пародонту старих щурів відбилося в значній деградації гелю, який утворює основу МКМ. Про це свідчило суттєве зниження вмісту ГАГ та йонів магнію в СОПР; в кістці пародонту – зниження концентрації йонів цинку. В СОПР мав місце факт запалення, суттєва активація процесів ПОЛ та недостатнє функціонування ферментів антиоксидантної дії в тканинах ротової порожнини. В кістковій тканині пародонту під дією коллагенази спостерігались порухення мінерального обміну.

Ключові слова: моделювання пародонтиту, колагеназа, міжклітинний матрикс, глікозаміноглікани, запалення слизової оболонки порожнини рота, тканини пародонту, порушення мінерального обміну.

A. V. Nikolaeva, S. A. Shnaider, E. K. Tkachenko

State Establishment “The Institute of Stomatology
of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine”

THE STUDY OF THE DISORDERS IN METABOLISM OF INTERCELLULAR MATRIX OF ORAL AND PERIODONTAL MUCOUS MEMBRANE IN RATS AT SIMULATED PERIODONTITIS

The aim of the investigation. *The simulation of the experimental periodontitis in old rats and, in connection with this, the study of the disorders in metabolism of intercellular matrix of mucous membrane of oral cavity and periodontium.*

The materials and methods. *At the experiments with 15 white she-rats of 18 months old periodontitis was simulated with subgingival introduction of exogenous collagenase.*

The disorders in metabolism of intercellular matrix of oral cavity and osseous tissue of periodontium in old rats were expressed in the considerable degradation of gel, composing the basis of the intercellular matrix. The essential reduction of the contents of glycosamineglycanes and ions of magnesium in oral mucous membrane and the decrease of the concentration of ions of zinc – in periodontal bone speak of this phenomenon. Inflammation, the considerable activation of the processes of lipids peroxide-oxidation and insufficient functioning of the enzymes of antioxidant effect in oral tissues took place in oral mucous membrane. The disorders in mineral metabolism were observed in periodontal osseous tissue under the influence of collagenase.

So, as the result of simulation of periodontitis with subgingival introduction of collagenase the disorders in metabolism of intercellular matrix of oral and periodontal mucous membrane in old rats were revealed.

Key words: *simulation of periodontitis, collagenase, intercellular matrix, glycosamineglycanes, inflammation of oral mucous membrane, periodontal tissues, disorders in mineral metabolism.*

Межклеточный матрикс (МКМ) соединительной ткани (СТ) состоит из трех важнейших компонентов – гелеобразующей среды, коллагеновых и эластиновых волокон, и обеспечивает быструю диффузию веществ и строительных материалов между кровью и клетками СТ.

Гелеобразующая среда формируется многочисленными полисахаридными цепями глікозаміногліканов (ГАГ). Эти биополимеры легко образуют комплексы с другими молекулами, способны задерживать и освобождать различные вещества, в т.ч. и токсичные. Известно, что кислые ГАГ (хондроитинсульфат, ГК, гепарин) участвуют в трофической функции СТ, в процессах регенерации и роста тканей. Важную роль в защитной функции эпителия десны, особенно в предотвращении проникновения инфекции и токсинов в подлежащую ткань отводят ГАГ. Таким образом, патология ГАГ может приводить к нарушениям барьерных свойств СТ. Синтез ГАГ и протеогликанов всегда предшествует синтезу коллагена. Коллаген в отсутствие ГАГ представляет собой гомогенную массу, в присутствии хондроитинсульфата имеет четкую исчерченность, характерную для коллагеновых волокон [1].

При старении организма уменьшается растворимость коллагенов и эластинов, увеличивается содержание поперечных связей в белках, снижается содержание в ткани протеогликанов и

глікозаміногліканов. Характерно также общее уменьшение клеточных элементов в СТ.

Изменение состояния МКМ тканей пародонта при пародонтите осуществляется с помощью матриксных металлопротеиназ (MMPs) или коллагеназ, которые расщепляют практически все компоненты МКМ. Баланс между деградацией и синтезом МКМ определяет состояние мягких тканей пародонта и костных тканей при пародонтите.

Целью настоящего исследования. Моделирование экспериментального пародонтита у старых крыс, и, в связи с этим, изучение нарушений метаболизма МКМ СОПР и пародонта.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 15 белых крыс-самок линии Вистар стадного разведения 18-мес. возраста, которые содержались на стандартном рационе вивария. Интактную группу составили 7 особей (I группа). Во II-ой группе у 8 крыс моделировали пародонтит введением под десну раствора коллагеназы (из *Clostridium histolyticum*, Merk, Darmstadt, Germany) дважды в дозе 0,2 мг/мл и однократно в дозе 1 мг/мл. Длительность проведения опыта составила 55 дней.

Крыс выводили из опытов путем тотального кровопускания из сердца (тиопентал натрия в дозе 40 мг/кг). Отделив десну и слизистую оболочку щеки (СОЩ), вычленили челюсти. Объектами

біохімічних досліджень служила надосадочна рідина гомогенатів СОЩ, десни (25 мг/мл) і кістки альвеолярного отростка (50 мг/мл).

Стан МКМ оцінювали за вмістом оксипроліну [2] і ГАГ [3]. Використовуючи комерційні набори реагентів, визначали активність кислої фосфатази (КФ) (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 20/45); щелочної фосфатази (ЩФ) (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 44/100); вміст магнію (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 25/100); цинку (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. ZFO111L/50); кальцію (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 36/200); фосфору (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 22/200).

Рівень процесів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) оцінювали за вмістом в тканинах малонового діальдегіду (МДА) тиобарбітуровим методом [4]. В тканинах пародонта визначали активність глутатіон-пероксидази (ГПО) [5] і каталази [6].

Результати експериментів обробляли статистично.

Результати дослідження. Поддесневе

введення розчину колагенази (з Clostridium histolyticum) викликало значне зниження вмісту ГАГ в СОЩ кісток: в десні – в 6,0 раз ($p=0,05$) і в СОЩ – в 6,8 раз ($p=0,05$; табл. 1).

Вміст загального оксипроліну, що характеризує стан колагену тканин пародонта, суттєво не змінився (табл. 1).

При моделюванні пародонтиту вдвічі знизився ($p=0,04$) вміст іонів Mg^{2+} в десні і суттєво не змінився в кістковій тканині пародонта (табл. 2). Відомо, що при дефіциті магнію синтез білків в МКМ уповільнюється, і МКМ прогресивно деградує [7]. Недостаток магнію призводить до активації гіалуронидази, що сприяє частковій деградації гелю, що складає основу МКМ.

Моделювання пародонтиту знизило в 3 рази ($p=0,05$) концентрацію іонів Zn^{2+} в кістковій альвеолярній часточці (табл. 2). Цинк важливий для нормального розвитку кісткової тканини. Встановлено, що іони цинку мають інгібувальний ефект у відношенні желатинази десни [8].

Таблиця 1

Вміст ГАГ і загального оксипроліну в тканинах ротової порожнини кісток при моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

| Групи тварин | Вміст | | | |
|--------------|------------------------|-----------------------|---------------------------------|------------------------------|
| | ГАГ (мг/г) | | загальний оксипролін (мкмоль/г) | |
| | СОЩ | десна | десна | кістка альвеолярної часточки |
| Інтактна | 1,22±0,32 | 2,35±0,34 | 1,88±0,27 | 2,82±0,82 |
| Модель | 0,18±0,034 $p=0,02$ | 0,39±0,23 $p=0,05$ | 2,54±0,00 | 2,59±0,27 |

Примітка: в табл. 1-4 показник достовірності p розраховано відносно інтактної групи

Таблиця 2

Вміст магнію і цинку в тканинах пародонта при моделюванні пародонтиту ($M \pm m$; p)

| Групи тварин | Вміст | | | |
|--------------|----------------------------|------------------------------|---------------------|------------------------------|
| | Mg^{2+} (ммоль/г) | | Zn^{2+} (ммоль/г) | |
| | десна | кістка альвеолярної часточки | десна | кістка альвеолярної часточки |
| Інтактна | 0,012±0,0010 | 0,14±0,015 | 0,25±0,017 | 3,40±0,74 |
| Модель | 0,0059±0,0020 $p=0,004$ | 0,15±0,064 | 0,27±0,079 | 1,13±0,53 $p=0,05$ |

Об'єднання запальних процесів в СОЩ свідчувало про збільшення активності провоспалительного ферменту КФ на 74 % порівняно з інтактною групою (табл. 3). Крім цього встановлено факт підтверджує збільшення вмісту МДА на 40 % ($p=0,01$) в м'яких тканинах пародонта (табл. 3).

При моделюванні пародонтиту відбувалося порушення синтезу регуляторних білків –

ферментів антиоксидантної захисти в тканинах ротової порожнини. Так, в СОЩ активність каталази знизилася на 36 % (21,8±0,44 мкат/г проти 34,1±5,32 мкат/г; $p=0,05$) і ГПО на 40 % (41,5±1,77 мкмоль/с/г проти 69,2±9,75 мкмоль/с/г; $p=0,03$). В кістковій тканині пародонта активність ГПО знизилася на 29,1 % (65,8±2,99 мкмоль/с/г проти 92,8±8,68 мкмоль/с/г; $p=0,03$).

Таблица 3

Активность КФ и содержание МДА в тканях ротовой полости крыс при моделировании пародонтита ($M \pm m$; p)

| Группы животных | Активность КФ (рН 4,8) (мкмоль/с·г) | | Содержание МДА (нмоль/г) | |
|-----------------|-------------------------------------|------------|--------------------------|------------------------------|
| | СОЩ | десна | десна | кость альвеолярного отростка |
| Интактная | 0,31±0,00 | 0,25±0,048 | 1,48±0,34 | 2,29±0,12 |
| Модель | 0,54±0,15 $p=0,17$ | 0,33±0,042 | 2,07±0,023 $p=0,01$ | 1,91±0,38 |

Таблица 4

Состояние минерального обмена в костной ткани пародонта крыс при моделировании пародонтита ($M \pm m$; p)

| Группы животных | Активность ЩФ (нмоль/с·г) | Содержание | |
|-----------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|
| | | Са (ммоль/г) | Р (ммоль/г) |
| Интактная | 0,18±0,015 | 0,016±0,0012 | 0,016±0,0010 |
| Модель | 0,24±0,035 | 0,0086±0,0017 $p=0,014$ | 0,011±0,0013 $p=0,03$ |

В костной ткани пародонта при поддесневом введении коллагеназы выявлены нарушения минерального обмена (табл. 4). Так, содержание ионов Ca^{2+} в кости альвеолярного отростка снижалось в 1,9 раза ($p=0,014$); ионов фосфора – в 1,5 раза ($p=0,03$). В то же время активность ЩФ при этом существенно не изменялась (табл. 4).

Выводы. Таким образом, в результате моделирования пародонтита с помощью поддесневого введения коллагеназы были выявлены нарушения метаболизма МКМ СОПР и пародонта старых крыс, выразившиеся, прежде всего, в значительной деградации геля, образующего основу МКМ. Об этом свидетельствовало существенное снижение содержания ГАГ и ионов магния в СОПР; в кости пародонта выявлено снижение концентрации ионов цинка.

В СОПР имел место факт воспаления (увеличение активности КФ), существенная активация процессов ПОЛ и недостаточное функционирование ферментов антиоксидантного действия в тканях ротовой полости.

В костной ткани пародонта под действием коллагеназы наблюдались нарушения минерального обмена.

Список литературы

1. Серов В. В. Соединительная ткань / В. В. Серов, А. Б. Шехтер. – М.: Медицина. – 1981. – 312 с.
2. Шараев П. Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. / П. Н. Шараев. // Лаб. дело. – 1981. – 5. – С. 283-285.
3. Метод определения гликазаминогликанов в биологических жидкостях / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. И. Соловьева [и др.] // Лаб. дело. – 1987. – С. 330-332.
4. Стальная И. Д. Метод определения диеновых конъюгаций ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная, Т. В. Гаришвили // Современные методы биохимии. – Москва, 1977. – С. 63-64.
5. А.С.922637 СССР. МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. А. Пахомова, Н. П. Козлянина, Г. Н. Крюкова (СССР). – Оpubл. 25.04.82, Бюл. №15.
6. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Д. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.
7. Effects of magnesium on the production of extracellular matrix metalloproteinases in culture rat vascular smooth muscle cells. / H. Yue, G. Lee, H. Shimizu [et. al] // Atherosclerosis. – 2003. – 166 (2). – P. 271-277.
8. A.de Souza. Inhibition of human gingival gelatinases (MMP-2 and MMP-9) by metal salts / de Souza A. // Dental Materials. – 2000. – 16 (2). – P.103-108.

Поступила 22.05.14

