

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА ГОМОГЕНАТІВ ЯСЕН У ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГІНГІВІТІ, ВИКЛИКАНОМУ КОМБІНОВАНОЮ ДІЄЮ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА ДЕФІЦИТОМ ФТОРУ ТА ЙОДУ

Національний медичний університет ім. Данила Галицького (м. Львів)

Дане дослідження є фрагментом планової НДР: «Стоматологічна захворюваність дітей з урахуванням еколого-соціальних чинників ризику та обґрунтування диференційованих методів лікування та профілактики», № держ. реєстрації 0110U002147.

Вступ. Запальні захворювання пародонта є актуальною проблемою не тільки стоматології, але й медицини в цілому, у зв'язку з їх високою розповсюдженістю та негативним впливом на організм та обумовлюють певні економічні наслідки. Так, за останні десять років, витрати держави на надання стоматологічної допомоги дітям України збільшилися більш ніж у 2,5 рази, що свідчить про недостатню ефективність профілактики основних стоматологічних захворювань у дітей [2,4,8].

У науковій літературі широко обговорюється питання про вплив екологічних факторів довкілля на захворюваність дітей, у тому числі, і стоматологічну [6;7]. Відомо, що внаслідок антропогенного забруднення біосфери, води, ґрунту, в організм людини потрапляє до 70% токсикантів та, на фоні дефіциту окремих мікроелементів (йод, фтор, селен, залізо), обумовлюють політропні патогенетичні зміни у організмі дітей [3,4,9]. У зв'язку з високою розповсюдженістю у довкіллі токсикантів, особливий інтерес викликають захворювання, викликані їх дією, які можуть проявлятися на молекулярному, клітинному, тканинному та органному рівнях [12]. При цьому, часто виникає ураження систем біорегуляції біохімічних процесів, які, досягаючи певного рівня, сприяють виникненню та розвитку захворювань, у тому числі, і стоматологічних [2;3;8]. Тому, вивчення впливу комбінованої дії ксенобіотиків на біохімічні показники тканин у підростаючому організмі та розробка нових засобів корекції, яка заснована на інгібуванні протеаз, гідролаз, хінінової системи, нормалізації тканинного проникнення, підвищенні захисних факторів організму, забезпечуючи стійкість тканин пародонта до дії негативних факторів довкілля, є актуальними та недостатньо вивченими питаннями.

Мета дослідження – вивчити біохімічні показники сироватки крові та гомогенатів ясен у експериментальних тварин при гінгівіті за впливу комбінованої дії важких металів та дефіциту йоду та фтору

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальний гінгівіт у щурів моделювали шляхом переводу тварин у віці 30 ± 5 діб на перекисну модель гінгівіту, шляхом додавання до звичайного раціону переокисненої соняшникової олії у дозі 1 мл на тварину упродовж 3-х тижнів [5]. Усього в експерименті використовували 80 щурів лінії Вістар стадного розведення, з середньою масою 54 ± 5 г, самок і самців порівну. Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

В залежності від моделювання антропогенних умов середовища, тварини були поділені на IV групи:

I група (контрольна) – 20 інтактних щурів, яких утримували на звичайній дієті віварія;

II група – 20 тварин, з модельованим гінгівітом;

III група – 20 щурів – перекисна модель гінгівіту, з додаванням до води солей важких металів з урахуванням їх молекулярної маси ($\text{CdCl}_2 = 0,010$ мг/л; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 = 0,36$ мг/л) [10];

IV група – 20 щурів – перекисна модель гінгівіту + солі важких металів + дефіцит йоду + дефіцит фтору. Дефіцит йоду в організмі щурів викликався додаванням до води мерказоліну, з розрахунку 50 мг/кг маси тіла на добу впродовж 3-х тижнів [1]. Дефіцит фтору моделювали шляхом утримання тварин на низькокалорійній дієті з виключенням продуктів, що містять багато фтору.

Забій та збір крові проводили під ефірним наркозом через 21 добу після початку експерименту.

В сироватці крові визначали трипсин-інгібіторну та загальну протеолітичну активність. Загальну протеолітичну активність з'ясовували по гідролізу 2%-ого казеїну при pH 7,6 шляхом оцінки кількісного рівня розчинених у трихлороцтовій кислоті продуктів розщеплення за допомогою реактиву Фоліна [5]. Трипсин-інгібіторну активність з'ясовували по методу В. Ф. Нартикової та Т. С. Пасхіної (1977) [1;5].

В гомогенатах ясен оцінювали активність еластази та уреаз. Активність еластази у гомогенатах

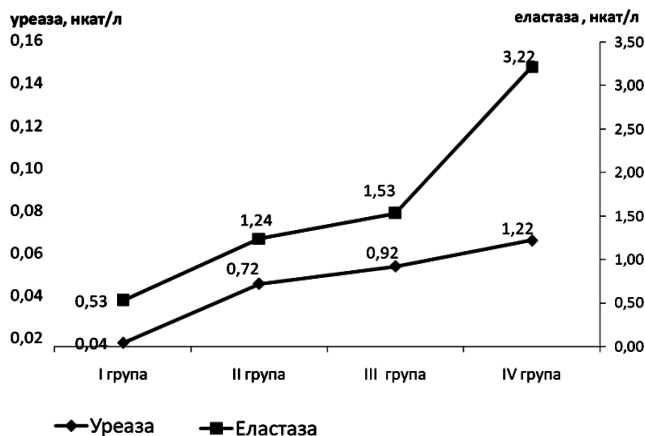


Рис. 1. Активність еластази та уреази у гомогенатах ясен щурів за впливу негативних чинників оточуючого середовища.

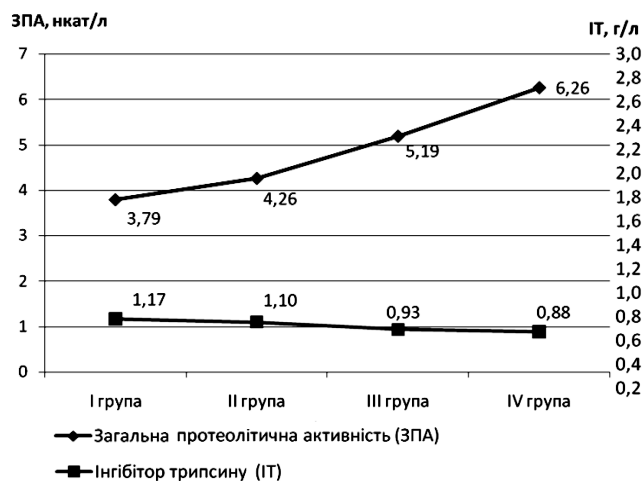


Рис. 2. Біохімічні показники сироватки крові щурів на фоні патогенних факторів навколишнього середовища.

ясен оцінювали за допомогою методу Л. Віссер та Е. Р. Блоуф. Метод ґрунтується на гідроліз-синтетичному субстраті БОС-L-аланін-p-нітрофенілового ефіру під дією еластази [11]. Активність уреази з'ясовували експрес-тестом (Biohit), який руйнує мочевино до амонію та реєструється зміною кольору індикатора, який присутній у гелі [5]. Отримані результати опрацьовані статистично, з використанням програми Microsoft Excel.

Результати досліджень та їх обговорення.

Аналіз активності еластази та уреази в гомогенатах ясен експериментальних тварин (рис. 1) показав, що у I експериментальній групі (інтактні тварини), активність еластази складала $(0,53 \pm 0,14)$ нкат/г, що було у 2,3 рази вище стосовно даних II дослідної групи ($(1,24 \pm 0,19)$ нкат/г, $p < 0,01$). У групах дослідження III, IV спостерігали подальше збільшення активності еластази ($(1,53 \pm 0,17)$ нкат/г та $(3,22 \pm 0,14)$ нкат/г, відповідно, що перевищувало дані у інтактних тварин у 3-6 разів ($p < 0,01$). Слід зазначити, що значення активності еластази у III, IV експериментальних

групах, де тварини зазнавали впливу важких металів та їх комбінації з фтор- та йод дефіцитом на тлі гінгівіту, були у 1,2 та у 2,6 рази вище стосовно значень у II експериментальній групі ($p_1 < 0,01$), де тваринам моделювався гінгівіт.

Активність уреази у гомогенатах ясен складала $(0,04 \pm 0,003)$ мкат/г у групі інтактних тварин, при цьому отримані дані були на 80,0% нижче, стосовно даних у групі з модельованим гінгівітом ($p < 0,01$). Значення активності уреази у групах III, IV, де моделювались умови негативних чинників оточуючого середовища на тлі гінгівіту, перевищували дані інтактних тварин на 130,0% та на 205,0% ($p < 0,01$), відповідно.

У той же час, активність уреази у III та IV групах була на 27,8% та на 69,4% вище, ($p_1 < 0,01$) стосовно відповідних даних II групи дослідження.

Оцінка біохімічних показників (рис. 2), за даними загальної протеолітичної активності (ЗПА), інгібітора трипсину (ІТ) та їх співвідношення (ІТ/ЗПА) у сироватці крові експериментальних тварин груп дослідження довела, що при моделюванні гінгівіту (група II) відбувається підвищення ЗПА на 12,40%, ($p < 0,01$) стосовно значень у інтактних тварин (група I). У групі III-IV досліджували збільшення ЗПА на 36,93% та на 65,17%, відповідно ($p < 0,01$). При цьому, загальна протеолітична активність у експериментальних тварин, де моделювались патогенні фактори довілля на тлі гінгівіту, була на 21,83% та на 46,94% вище, стосовно даних II експериментальної групи, ($p_1 < 0,01$).

У групах II, III, IV досліджували зменшення інгібітору трипсину (ІТ) на 5,99%, ($p > 0,05$), 0,51% ($p_1 < 0,05$) та на 24,79% ($p_1 < 0,01$), відповідно, стосовно даних у інтактних тварин I групи. При цьому, визначалось зниження співвідношення ІТ/ЗПА: від 0,31 у I групі тварин до 0,14 – у IV групі. У III та IV експериментальних групах досліджували зменшення ІТ на 15,46% ($p_1 < 0,05$) та на 20,0% ($p_1 < 0,01$), стосовно даних II експериментальної групи.

Висновки. Проведені експериментальні дослідження переконливо довели, що при експериментальному гінгівіті, на тлі моделювання несприятливих факторів довілля, досліджуються підвищення маркера запалення – еластази та уреази, збільшення показників протеазно-інгібіторної системи, причому підвищення аналізованих показників відбувається зі збільшенням комбінованого ксенобіотичного навантаження, що підкреслює додаткову роль останніх у виникненні та прогресуванні гінгівіту та потребує розробки адекватних лікувально-профілактичних заходів.

Перспективи подальших досліджень. Розпрацювати лікувально-профілактичний комплекс, для корекції імунологічного стану тварин з модельованим гінгівітом на тлі несприятливих чинників довілля для корекції імунологічного стану в експерименті.

Література

1. Виноградов В. М. Фармакология с рецептурой. – 5-е изд. испр. / В. М. Виноградов, Е. Б. Каткова, Е. А. Мухин. – СПб.: Спецлит, 2009. – 864 с.
2. Клінічна ефективність комплексної профілактики карієсу і гінгівіту у дитячого населення екологічно несприятливих регіонів / О. В. Савичук, Ю. П. Немирович, І. М. Голубева // Новини стоматології. – 2007. – №3. – С. 82-84.
3. Комар В. М. Стан здоров'я, фізичний та нервово-психічний розвиток дітей, що мешкають у регіоні з підвищеним вмістом фтору у питній воді : автореф. дис. на здобуття наукового ступеня канд. мед. наук : спец. 14. 01. 10 «Педіатрія» / В. М. Комар. – Київ, 2008. – 29 с.
4. Крюченко Н. О. Наличие фтора в подземных водах Украины и заболевания, связанные с ним / Н. О. Крюченко // Пошукова та екологічна геохімія. – 2001. – № 1. – С. 9-13.
5. Левицкий А. П. Взаимосвязь между уровнями протеиназы, их ингибированием и хозяйственно-полезными признаками зерна пшеницы / А. П. Левицкий, В. Г. Адамовская, С. В. Вовчук // Научно-техн. бюлл. ВСГИ. – 1990. – №3 (37). – С. 25-30.
6. Леус П. О. Пілотний проект: «Оптимізація системи стоматологічної допомоги дитячому населенню / П. О. Леус // Вісник стоматології. – 2010. – №2. – С. 141-146.
7. Лозовий М. П. Результати моніторингу вивчення впливу стану атмосферного повітря на здоров'я дитячого населення / М. П. Лозовий, А. В. Нікітіна, Л. І. Кузьменко // Науковий вісник НМУ ім. О. О. Богомольця. – 2010. – №27. – С. 143-145.
8. Остапко О. І. Вплив чинників довкілля на рівень стоматологічного здоров'я дітей України / О. І. Остапко // Наук. вісн. НМУ ім. О. О. Богомольця. – 2007. – С. 162-164.
9. Петровська М. Здоров'я населення Львівської області як результат реакції на зміни природного середовища / М. Петровська // Вісник Львівського ун-ту. Серія геогр. – 2011. – Вип. 39. – С. 267-277.
10. Яковлев М. Ю. «Эндотоксинная агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных / М. Ю. Яковлев // Успехи современной биохимии. – 2003. – №1. – С. 31-40.
11. Visser L. The use of p-nitrophenol –N butyl-oxycarbonyl- α -alanylilate as substrate for elastase / L. Visser, E. R. Blout // Biochem. Biophys. Acta. – 1972. – Vol. 268. – №1. – P. 275-280.
12. World Health Organization. Oral Health Surveys Methods, 5th Ed. – WHO Yeneva, 2013.

УДК 616. 311. 2-002:616. 314-002:612. 018

БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СИРОВАТКИ КРОВІ ТА ГОМОГЕНАТІВ ЯСЕН У ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГІНГІВІТІ, ВИКЛИКАНОМУ КОМБІНОВАНОЮ ДІЄЮ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ ТА ДЕФІЦИТОМ ФТОРУ ТА ЙОДУ

Безвушко Е. В., Малко Н. В.

Резюме. Проведене дослідження сироватки крові та гомогенатів ясен у щурів дозволило встановити, що при інтоксикації організму токсичними речовинами, а також при дефіциті йоду та фтору підвищується вміст маркерів запалення – еластази та уреазу у гомогенатах ясен та збільшуються показники протеазно-інгібіторної системи, причому, інтенсивність змін більш виражена при комбінованому ксенобіотичному впливі на тлі гінгівіту.

Ключові слова: гінгівіт, щурі, сироватка крові, токсичні фактори.

УДК 616. 311. 2-002:616. 314-002:612. 018

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ И ГОМОГЕНАТОВ ДЕСЕН У КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИНГИВИТЕ, ВЫЗВАННЫМ КОМБИНИРОВАННЫМ ДЕЙСТВИЕМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ДЕФИЦИТОМ ФТОРА И ЙОДА

Безвушко Э. В., Малко Н. В.

Резюме. Проведенное исследование сыворотки крови и гомогенатов десен у крыс позволило установить, что при интоксикации организма токсичными веществами, а также при дефиците йода и фтора повышается содержание маркеров воспаления – эластазы и уреазы в гомогенатах десен и увеличиваются показатели протеазно-ингибиторной системы, причем, интенсивность изменений более выражена при комбинированном ксенобиотическом воздействии на фоне гингивита.

Ключевые слова: гингивит, крысы, сыворотка крови, токсические факторы.

UDC 616. 311. 2-002:616. 314-002:612. 018

Biochemical Indices of Blood Serum and Gomogenates of Gums for Rats at the Experimental Gingivitis, Caused by the Combined Action of Heavy Metals and Deficit of Fluorine and Iodine

Bezvuchko E. V., Malko N. V.

Abstract. The inflammatory periodontal diseases are the issue of the day of not only dentistry, but also medicine on the whole, in connection with their high prevalence and negative influence on the body and stipulate economic consequences are certain. For the last 10 years, the charges of the state on the grant of dental help to the children of Ukraine increased more than 2. 5 times, that testifies to insufficient efficiency of prevention of basic dental morbidity for children.

The aim of our research was to study of biochemical indices of blood serum and gomogenates of gums for experimental animals at gingivitis under the influence of the combined action of heavy metals and deficit of iodine and fluorine.

Materials and research methods. Experimental gingivitis for rats was designed by transferring of animals in age 30 ± 5 twenty-four hours on the model of peroxide of gingivitis, with adding to the ordinary ration of peroxidation sunflower-seed oil in a dose 1 ml on an animal during 3th weeks. Just experiment were used 80 rats of line Vistar of the gregarious breeding, middle mass of which is 54 ± 5 g, females and males equally. In dependence on the design of anthropogenic conditions of environment, animals were divided into four groups:

I group (control) is 20 intact rats that were contained on the ordinary diet of vivarium;

II group is 20 animals, with the designed gingivitis;

III group is 20 rats – model of peroxide of gingivitis, with adding to water of salts of heavy metals taking into account their molecular mass ($\text{CdCl}_2 = 0,010$ mg/l; $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2 = 0,36$ mg/l);

IV group is 20 rats – model of peroxide of gingivitis + salt of heavy metals + deficit of iodine + deficit of fluorine. The deficit of iodine in the organism of rats was caused by adding to water of merkazole, from a calculation 50 mg/kg the masses of body on twenty-four hours during 3th weeks. The deficit of fluorine was designed by maintenance of animals on a low-caloric diet with the exception of products that contain much fluorine.

Results of research and their discussion. Activity of urease in gomogenates of gums was $(0,04 \pm 0,003)$ mkkat/g in the group of intact animals with the obtained data were on (80,0 %) lower relative to the data in a group with the designed gingivitis ($p < 0,01$). The value of the activity of urease in the III and IV groups, where conditions of negative factors of environment were designed on a background gingivitis, exceeded the data of intact animals on 130,0 % and 205,0 % ($p < 0,01$), respectively.

In the same time, activity of urease in III and IV groups was on 27,8 % and 69,4 % higher ($p_1 < 0,01$) relative to the data of II study group.

Estimation of biochemical indices from the data of general proteolysis activity (GPA), inhibitor of Trypsinum (IT) and their correlation (IT/ GPA) in the blood serum of experimental animals in the study groups proved that at the design of gingivitis (group II) there is an increase of GPA on 12,40 % ($p < 0,01$) relative to the values in the intact animals (I group). In the III-IV group investigated the increase GPA on 36,93 % and on 65,17 %, respectively ($p < 0,01$). Thus, general proteolysis activity in experimental animals, where the environmental pathogenic factors were designed on the background of gingivitis, was on 21,83 % and on 46,94 % higher relative to the data of II experimental group ($p_1 < 0,01$).

In the groups of II, III, IV investigated the reduction of the Trypsinum inhibitor (IT) on 5,99 % ($p > 0,05$), 0,51 % ($p_1 < 0,05$) and on 24,79 % ($p_1 < 0,01$), respectively, in relation to the data for the intact animals (I group). Thus, the decrease of correlation of IT / GPA was determined: from 0,31 in the I group of animals to 0,14 in the IV group. In III and IV experimental groups investigated reduction of IT on 15,46 % ($p_1 < 0,05$) and on 20,0 % ($p_1 < 0,01$), in relation to the data of the II experimental group.

Conclusions. Undertaken experimental studies proved convincingly, that at experimental gingivitis, on the background of design of unfavorable environmental factors, increases markers of inflammation – elastase and urease, increase of indices of the protease-inhibitor system are investigated, thus the increase of analtube indices takes place with the increase of the combined xenobiotics loading that underlines the additional role of the last in an origin and progress of gingivitis and needs development of adequate medical and preventive events.

Key words: gingivitis, rats, blood serum, toxic factors.

Рецензент – проф. Каськова Л. Ф.

Стаття надійшла 29. 05. 2014 р.