

DOI 10.29254/2077-4214-2022-3-166-501-509

UDC 612.015.13:616.314.17-002.1-085.361-092.9

Bigulyak G. T., Klishch I. M.**INDICATORS OF THE PROTEINASE SYSTEM/PROTEINASE INHIBITORS IN ACUTE EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND AFTER CORRECTION BY STEM CELLS****Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine (Ternopil, Ukraine)**

bigulyak@tdmu.edu.ua

Today, the prevalence of inflammatory and dystrophic-inflammatory periodontal diseases among the population of Ukraine reaches 96-98%. According to modern literary data, a commensurate level is also noted in most other countries. The progression of generalized periodontitis leads to bone loss of the cellular process of the jaws, deformation of the maxillofacial area, changes in the temporomandibular joint and premature loss of teeth. In modern periodontology, significant importance is attached to agents that stimulate the regenerative potential of periodontal tissues, especially bone tissue. The aim of our study was to investigate the effect of stem cells on the activity of proteolysis processes in rats with acute periodontitis and correction by stem cells. Acute periodontitis was modeled by injecting 40 microliters (1 mg/ml) of lipopolysaccharide into the gum tissues every other day for 14 days. Stem cells were injected into the gum area with a single injection at the rate of 1 million cells per 1 kg of body weight. As a result of the research, it was established that the use of correction methods using stem cells in animals with acute experimental periodontitis had a positive effect, which was manifested in the reduction of the imbalance of the protease/antiprotease system, which was accompanied by a decrease in the proteolysis index, especially in later periods after modeling the pathological process.

The use of stem cells slows the activity of proteolysis processes at the initial stages of the pathological process, which can be of significant importance for accelerating the regeneration of periodontal tissues damaged by modeling the pathological process.

Key words: acute experimental periodontitis, correction, stem cells, proteolysis, proteases, protease inhibitors.

Connection of the publication with planned research works. The work is a fragment of the planned SRW of Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine "Development and application of new methods of diagnosis, prevention and treatment of dental and periodontal diseases in people of different ages", state registration number O120U104149.

Introduction. Today, the development and progression of inflammatory periodontal diseases are considered not as a local inflammation of the peri-dental tissues, but as a reaction of the whole organism to bacterial invasion of the periodontal tissues. According to the literature, the development of periodontitis results from an imbalance between the microflora of the oral cavity and the body's immune defenses [1]. At the same time, it is necessary to consider the activity of inflammatory effector cells and the sufficiency of resistance mechanisms. One bacterial factor is not enough for the development of inflammation, a combination of many pathogenetic factors is necessary. Therefore, it is essential to fix them not only in periodontal tissues, but also in the whole body, depending on standard therapy's effectiveness. Inflammatory diseases of periodontal tissues mainly have a chronic course with periods of exacerbations and therefore require timely and regular treatment courses [2].

Compared to other dental diseases, periodontal tissue damage is accompanied by more complex and profound metabolic disorders, endocrinological and immunological changes. Against this background, the development of morphological changes of periodontal

tissues, its vascular and nervous system, connective tissue structures of the soft tissues of the bone of the cellular process occurs, which causes the early destruction of the periodontal tissue complex and the appearance of pathological mobility and tooth loss [3].

Violations of the proteinase inhibitory system play an essential role in the pathogenesis of many pathological conditions [4-6]. The processes of limited (restricted) proteolysis play an important role in the formation of inactive precursors of active forms of enzymes, hormones, structural proteins, blood plasma proteins, formation and inactivation of bioactive peptides (kinins, neuropeptides) involved in the regulation of vascular tone, microcirculation processes, etc. [4]. Without proper control over proteolysis, pathological conditions develop, accompanied by destructive, inflammatory and immune reactions. The diverse range of physiological effects of proteinases, their high activity in protein substrates determines the complexity of the mechanisms of regulation of these processes in the body [6, 7].

Under physiological conditions, the activity of proteolytic enzymes is balanced with the level of proteinases. The dynamic balance between proteases and their inhibitors is disturbed in critical conditions. An increase in the number and activity of tissue-derived proteolysis enzymes leads to a "protease explosion", due to which the coagulation, fibrinolytic, kallikrein-kinin, renin-angiotensin-aldosterone systems and complement are hyperactivated. The induced changes lead to destructive and inflammatory changes in the entire body [4, 6, 8].

To improve the effectiveness of treatment of generalized periodontitis, it is necessary to strengthen the

regenerative potential of periodontal tissues, especially bone tissue. Considering this, interest in studying stem cells in periodontal tissues is growing. Based on similar studies, it becomes possible to stimulate the growth of bone tissue in patients with generalized periodontitis [9-11]. Thus, the use of similar tissue engineering methods in treating caries complications [12, 13], periodontal diseases and operative surgical treatment of maxillofacial lesions is relevant [9-14]. Such treatment methods are promising for more effective restoration of lost and damaged bone tissue in various diseases, especially periodontal tissues [15].

The aim of the study. To determine stem cells' influence on proteolysis processes' activity in rats with acute periodontitis and correction by stem cells.

Object and research methods. The research was conducted on white outbred male rats with a body weight of 180-200 g. Periodontitis was induced by injecting 40 microliters (1 mg/ml) of lipopolysaccharide into the gum tissues every other day for 14 days. On the 1st, 7th, 14th, and 21st days after the last administration of LPS, rats were decapitated under thiopental anesthesia (50 mg/kg). Material from intact animals served as a control.

Obtaining mesenchymal stem cells (MSCs) was performed in pregnant females approximately on the 21st-24th day of pregnancy. An enzyme method was used to obtain viable MSCs. Cultivation was carried out in a CO₂ incubator at a temperature of 37°C and a CO₂ concentration of 5%. Stem cells were injected into the gum area of rats by a single injection at the rate of 1 million cells per 1 kg of body weight. To preserve cell viability as much as possible, MSCs were injected within 30 minutes after receiving the suspension.

The total proteolytic activity of the blood plasma was determined by the lysis of azoalbumin, azocasein, and azocol, using a set of reagents "SimkoLtd" (Ukraine), by the method [4], the principle of which is that during the incubation of azo protein compounds in the presence of activators and inhibitors of proteolysis, which are contained in tissues, lysis of azoalbumin (decay of low-molecular proteins), azocasein (decay of high-molecular proteins) and azocollagen (collagenolysis) occurs, the intensity of which was assessed by the degree of coloration of the incubation medium on a SF-46 spectrophotometer at a wavelength of 440 nm. Proteolytic activity was expressed in extinction units per 1 ml of plasma in 1 h.

The content of α 2-MG in blood serum was determined by the method, the principle of which is that it forms an active complex with trypsin, which is insensitive to the action of the soybean inhibitor. Trypsin («Spofa», Czech Republic) was used to perform the technique. The concentration of α 2-MG was determined according to the calibration graph, in which the amount of trypsin was plotted on the abscissa axis, and the optical density of the samples in which the corresponding concentration of trypsin hydrolyzed N-benzoyl-DL-arginine-para-nitroanilide (BAPNA) was plotted on the ordinate axis. The concentration of α 2-MG in blood serum was expressed in g/l [16]. The content of α 1-IP in blood serum was determined by the method based on its ability to inhibit hydrolysis by BAPNA trypsin. At the same time, trypsin in a complex with α 2-MG is capable of cleaving BAPNA. The content of α 1-IP was de-

termined by the difference between the known amount of trypsin and the amount of enzyme remaining after its interaction with plasma inhibitors. The content of this inhibitor was determined according to the calibration graph, in which the amount of trypsin (1–10 μ g) was plotted on the abscissa axis, and the optical density of the samples in which BAPNA hydrolysis took place with the corresponding concentration of trypsin was plotted on the ordinate axis. The content of α 1-IP in blood serum was expressed in μ mol/l [17].

The obtained digital data were processed by the method of variational statistics. Determination of the reliability of the differences of the compared parameters between different samples was carried out using the Student's t-test (in the case of a normal distribution of results) or Mann-Whitney test (in the case of a distribution that was not normal).

Research results and their discussion. Analyzing the indicators of the proteolytic activity of blood serum in rats modeled with acute periodontitis, we found that during the entire experiment, they were significantly higher than in animals that were not modeled for the pathological process (**table 1**). Thus, the lysis of azoalbumin on the 1st day after simulation of periodontitis significantly exceeded the rate of animals without simulated pathology and this excess was 50.6%. We noted the same directionality of changes in the lysis of azocasein and azocol. In particular, the rate of lysis of azocasein during this observation period was 2.2, and the lysis of azocol was 2.1 times higher than in animals without a simulated pathological process. In both cases, the difference between the indicators was reliable. On the 7th day of observation, the rate of azoalbumin lysis decreased slightly but exceeded the level of animals without simulated pathology by 45.5%. The indicators of lysis of azocasein and azocol continued to increase, and on the 7th day from the moment of modeling, the pathological process was 221.9 and 229.3%, respectively, of the indicators of animals that were not modeled for periodontitis. By the 14th day, the lysis of azoalbumin, azocasein, and azocol decreased significantly but still exceeded the level of animals without simulated pathology by 55.8 and 54.9%, respectively. On the 21st day of observation, we recorded a further decrease in the indicators characterizing the activity of the blood serum proteolysis process, but even during this period, they were significantly higher than the norm. Thus, the lysis of azoalbumin was 113.4%, azocasein – 142%, and azocol – 137.8% of similar indicators of animals without simulated pathology.

The use of MSCs caused a decrease in the activity of serum proteases. The lysis of azoalbumin on the 1st day from the moment of simulation of periodontitis in animals of this group exceeded the level of animals without simulated pathology by 1.4 times but was 11.4% less than in animals that were simulated with periodontitis, but no correction was performed. Azocasein lysis also exceeded the level of healthy animals by 1.9 times, but was 15% less than in animals without correction. Azocol lysis also had a similar orientation – the indicator was 1.7 times higher than usual but lower than the animals without simulated pathology level by 26.8%.

On the 7th day of observation, the activity of proteolytic processes decreased relative to the previous observation period. Thus, the lysis of azoalbumin ex-

ceeded the rate of animals without simulated pathology by 28.1%, the lysis of azocasein – by 98.2%, and azocol – by 54.9%. Compared with the indicators of animals that were not corrected, the lysis of azoalbumin was lower by 13.6%, the lysis of azocasein by 11.9%, and azocol by 48%. We found a significant decrease in proteolytic activity on the 14th day of observation. Azoalbumin lysis during this observation period exceeded the level of animals without simulated pathology by 25.3% and was not significantly different from the level of animals without correction. The lysis of azocasein was slightly higher – the excess in relation to healthy animals was 75.9%, which is 12.9% more than in animals without correction. Azokole lysis was 145% of the rate of animals without simulated pathology and was 6.7% less than in animals that were not corrected. By the 21st day, the activity of proteolytic processes was at the previous level, except for the azocasein lysis index, which was lower than on the 14th day of observation and was 158.9% of the level of animals without pathology, which is 10.8% more than in animals without correction.

The content of protein inhibitors in the blood plasma also underwent pronounced changes (table 2). On the first day of observation, a reliable increase in the inhibitory potential of the blood of animals that simulated acute periodontitis was established. In particular, the concentration of α 2-MG increased by 74.9% of the norm. As for α 1-IP, its concentration also increased, but significantly less – by 9.1% compared to animals without simulated pathology. A less pronounced increase in inhibitory potential, along with a significant increase in proteolytic activity, was reflected in the value of the proteolysis index – it increased by 66.1%. On the 7th day, the concentration of α 1-IP significantly decreased compared to the previous observation period but exceeded the level of animals without pathology by 14.6% and α 2-MG – by 22.1%. However, considering the increase in blood proteolytic activity during this period, the proteolysis index was 62.9% higher than that of intact animals. On the 14th day, from the moment of modeling the pathological process, the content of protein inhibitors in blood serum continued to decrease. The concentration of α 1-IP was 83.3% relative to animals without pathology, and α 2-MG was 86.8%, which indicates depletion of antiprotease blood reserves. This is one factor that prevents the normalization of proteolysis processes' activity against the background of high activity of proteolytic enzymes, which is indicated by a reliable increase of IP – by 1.7 times. By the 21st day, the indicators of protease inhibitors increased slightly and did not significantly differ from the indicators of animals without simulated pathology. The concentration of α 1-IP was 97.1%, and α 2-MG – 88.9% of the level of animals without pathology. However, the normalization of antiprotease activity did not correlate with the activity of proteolytic enzymes, so the proteolysis index was still significantly higher than normal and amounted to 132.3%.

The application of the correcting factor was accompanied by a significant shift in the ratio of proteases/protease inhibitors towards the dominance of proteolysis inhibition processes. On the 1st day of observation, the

Table 1 – Dynamics of indicators of the proteolytic activity of blood serum of rats with acute periodontitis and MSC correction (M±m)

Indicator/ A group of animals	Azoalbumin lysis, Unit/ml x hour	Azocasein lysis, Unit/ml x hour	Azocol lysis, Unit/ml x hour	
Without pathology, n=12	2,53±0,12	2,24±0,13	0,82±0,10	
Periodontitis	1st day, n=10	3,81±0,07*	4,86±0,11*	1,75±0,09*
	7th day, n=10	3,68±0,09*	4,97±0,14*	1,88±0,07*
	14th day, n=10	3,22±0,11*	3,49±0,09*	1,27±0,09*
	21st day, n=10	2,87±0,14	3,18±0,10*	1,13±0,12*
Periodontitis + MSC correction	1st day, n=10	3,42±0,12**	4,22±0,12**	1,38±0,11**
	7th day, n=10	3,24±0,10**	4,44±0,12**	1,27±0,13**
	14th day, n=10	3,17±0,13*	3,94±0,10**	1,19±0,12*
	21st day, n=10	3,18±0,28*	3,56±0,16**	1,11±0,18

Notes: here and in the table. 2
 1.* – changes in indicators are reliable relative to intact ones (p<0,05);
 2.** – changes in indicators of animals with correction are reliable relative to indicators without correction for the corresponding days of the study (p<0,05).

concentration of α 1-IP was 37.7%, and α 2-MG – 25.7% higher than in healthy animals, but lower than the similar indicators of animals without correction by 27.1 and 24.3 % respectively. However, against the background of the growth of proteolytic processes during this period, a 16.9% increase in the proteolysis index was observed compared to intact animals, which, however, were 42.1% less than in animals without correction. On the 7th day, we noted the normalization of the inhibitory activity of blood serum. The concentration of α 1-IP was 109.5%, and α 2-MG – 123.2% of the level of animals without simulated pathology, not significantly different from the values of animals without correction. However, the proteolysis index was lower than in the group of animals without correction by 8.4%, although it was 1.8 times higher than the level of intact animals. By the 14th day, the indicators of the antiprotease blood system actually normalized – α 1-IP was 110.9%. α 2-MG – 107.1% of the norm, not significantly different from similar indicators of animals without correction. Although the proteolysis index exceeded the similar index of intact animals by 1.6 times, it was lower than the index of animals without correction. On the 21st day of the experiment, the concentration of α 1-IP slightly exceeded the level of intact animals and amounted to 115.9%, and α 2-MG – 109.6%. At the same time, the proteolysis index also significantly decreased and amounted to 120.9% relative

Table 2 – Dynamics of indicators of serum protease inhibitors of rats with acute periodontitis and MSC correction, (M±m)

Indicator/ A group of animals	α 1-IP, μ mol/l	α 2-MG, g/l	Proteolysis index	
Intact, n=12	42,45±1,06	2,72±0,12	0,124±0,006	
Periodontitis	1st day, n=10	46,27±1,62	4,25±0,09*	0,206±0,011*
	7th day, n=10	48,64±1,17*	3,32±0,14*	0,202±0,014*
	14th day, n=10	35,33±1,11*	2,38±0,11*	0,212±0,012*
	21st day, n=10	41,22±1,13	2,47±0,08*	0,164±0,009*
Periodontitis + MSC correction	1st day, n=10	58,47±1,37**	3,42±0,07**	0,145±0,011**
	7th day, n=10	46,67±1,16*	3,35±0,08*	0,219±0,014*
	14th day, n=10	38,25±1,09	2,54±0,07	0,203±0,012*
	21st day, n=10	49,18±1,02**	2,98±0,08#	0,150±0,011**

to intact animals, which is 9.3% less than in the group that was not corrected.

Conclusions. Therefore, using stem cells slows the activity of proteolysis processes, which can be of significant importance for accelerating the regeneration pro-

cesses of periodontal tissues damaged due to modeling the pathological process.

Prospects for further research. In the future, the study is planned on the effect of stem cells on indicators of specific and non-specific resistance of the organism in animals with acute experimental periodontitis.

References

1. Thumbigere Math V, Michalowicz BS, Hodges JS, Tsai ML, Swenson KK, Rockwell L, et al. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Journal of periodontology*. 2014 Feb;85(2):226-33.
2. Melnychuk GM, Politun AM, Kovalchuk LE, Erstenyuk GM. Alhorytm vynyknennya y rozvytku heneralizovanoho parodontytu ta parodontozu schema kompleksnoho likuvannya heneralizovanoho parodontytu. *Sovremennaya stomatologiya*. 2013;1:35-40. [in Ukrainian].
3. Danylevskyy NF, Borysenko AV. Zabolevannya parodonta. K.: Zdorov'ya; 2008. 464 s.
4. Veremeenko KN, Holoborod'ko OP, Kyzym AY. Proteolyz v norme y pry patolohyy. K.: Zdorov'ya; 1988. 200 s.
5. Kresyun VY, Sementsiv NH, Reheda MS. Osoblyvosti zrushen' stanu proteynazno inhibitoryi systemy za umov rozvytku eksperymental'nogo alerhichnoho al'veolitu i shlyakhy yoho korektsiyi. *Odes. med. zhurn*. 2009;3(113):35-7.
6. Krynyts'ka IYA. Stan proteynazo-inhibitoryi systemy krovi ta bronkhoal'veolyarnoho zmyvu u shchuriv z model'ovanyim hepatopul'monal'nym syndromom. *Zah. patolohiya ta patolohichna fiziolohiya*. 2012;7(4):92-7. [in Ukrainian].
7. Shvets' VI, Kisilyuk VL, Shkrobanets' ID. Zminy tkannynnoho proteolizu pry intoksykatsiyi bilykh shchuriv malymy dozamy vazhkykh metaliv. *Klinich. ta eksperym. patolohiya*. 2009;8(4):87-9. [in Ukrainian].
8. Dedul' MY, Radetskaya LE, Kyrpychenok LN. Systema proteolyza v syvorotke krovy y perytoneal'noy zhydkosti pry khyrurhycheskom lecheny bol'nykh endometriozom. *Novosti khyrurhyi*. 2006;14(3):74-80.
9. Zolotukhyna EL. Stvolovyketyky y perspektyvy ykh pryvnyennya v stomatolohyy y chelyustno-lytsevoy khyrurhyi. *Molodyy vcheny*. 2014;6:145-7.
10. Malanchuk VA, Astakhova VS, Tsylenko OL. Osteohennye kletky – predshestvennyky kostnoho mozha cheloveka v rekonstruktyvno-vosstanovitel'noy khyrurhyi. *Zhurn. AMN Ukrainy*. 2009;2:276-88.
11. Malanchuk VO. Rekonstruktyvno-vidnovleni operatsiyi na nyzhnyi shchelepi (kliniko-laboratorne doslidzhennya) [avtoreferat]. Kyiv; 1994. 47 s. [in Ukrainian].
12. Khisham A. Pul'pit: osoblyvosti rozvytku ta vybir metodu likuvannya [avtoreferat]. Kyiv; 1993. [in Ukrainian].
13. Saber SE. Tissue engineering in endodontics. *Journal of Oral Science*. 2009;51(4):495-507.
14. Tsilenko OL, Sosidko AV. Sravnitel'naya kharakteristika tipov koloniy KOYe - f pul'py zuba I stvolovykh stromal'nykh kletok kostnogo mozga cheloveka v usloviyakh in vitro. *Sovremennaya ortodontiya*. 2015;3:57-60.
15. Gerashchenko SB, Chaykovskiy YUB, Del'tsova OI. Stovburovi klitini zuba. *Galits'kiy likars'kiy visnik*. 2011;18(4):5-8. [in Ukrainian].
16. Zorin NA, Zorina VN, Zorina RM, Levchenko VG. Universal'nyy regulator – a2 -makroglobulin. *Klinich. lab. diagnostika*. 2004;11:18-21.
17. Karyagina IYU, Zaremskiy RA, Balyabina MD. Ispol'zovaniye metoda kompleksnogo opredeleniya aktivnosti tripsinopodobnykh proteinaz, a1 -antitripsinai a2 -makroglobulina v gastroenterologicheskoy klinike. *Lab. delo*. 1990;2:10-3.

ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ПРОТЕЇНАЗИ/ІНГІБОРИ ПРОТЕЇНАЗ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТИ ТА ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОЇ КОРЕКЦІЇ СТОВБУРОВИМИ КЛІТИНАМИ

Бігуляк Г. Т., Клішч І. М.

Резюме. Метою нашого дослідження було дослідження впливу стовбурових клітин на активність процесів протеолізу щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. Проаналізовано результати дослідження системи протеїнази/інгібітори протеїназ у тварин з гострим експериментальним пародонтитом, який коригували за допомогою мезенхімальних стовбурових клітин людини. Залежно від лікування піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1 група – тварини без патології (інтактні); 2-га – тварини з модельованим гострим пародонтитом; 3-я – тварини з пародонтитом, коригованим мезенхімальними стовбуровими клітинами. Терміни спостереження встановили на 1-шу, 7-му, 14-ту та 21-шу доби після виведення тварин з експерименту. Визначали показники, що характеризують активність процесів протеолізу (за лізісом азоальбуміну, азоказеїну й азоколу, використовуючи набір реактивів “SimkoLtd” (Україна) та інгібіторів протеолізу (α2-МГ, α1 –ІП), а також розраховували індекс протеолізу. За результатами дослідження встановлено, що при експериментальному моделюванні гострого пародонтиту відбувалась виражена активація протеолізу з максимумом на 1-шу добу спостереження та незначне зростання рівня інгібіторів протеаз. Менш виразне зростання інгібіторного потенціалу, поряд із суттєвим зростанням протеолітичної активності, відобразилося на достовірному зростанні значення індексу протеолізу.

Застосування мезенхімальних стовбурових клітин зменшує дисбаланс системи протеази/антипротеази, що супроводжується зниженням індексу протеолізу особливо у більш пізні терміни після нанесення травми.

Ключові слова: гострий експериментальний пародонтит, корекція, стовбурові клітини, протеоліз, протеази, інгібітори протеаз.

INDICATORS OF THE PROTEINASE SYSTEM/PROTEINASE INHIBITORS IN ACUTE EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND AFTER CORRECTION BY STEM CELLS

Bigulyak G. T., Klishch I. M.

Abstract. The purpose of the study was to investigate the effect of stem cells on the activity of proteolysis processes in rats with periodontitis, corrected by stem cells. The results of the study of the proteinase system/proteinase inhibitors in animals with acute experimental periodontitis, which was corrected with the help of human mesenchymal stem cells, were analyzed. Depending on the treatment, the animals were divided into several groups: 1st group – animals without pathology (intact); 2nd – animals with simulated acute periodontitis; 3rd – animals with periodontitis corrected by mesenchymal stem cells. The observation dates were set on the 1st, 7th, 14th, and 21st days after the animals were removed from the experiment. Indicators characterizing the activity of proteolysis processes were determined (by lysis of azoalbumin, azocasein, and azocol, using a set of “SimkoLtd” (Ukraine) reagents

and proteolysis inhibitors (α 2-MG, α 1-IP), and the proteolysis index was also calculated. According to the results of the study, it was established that during the experimental modeling of acute periodontitis, there was a pronounced activation of proteolysis with a maximum on the 1st day of observation and a slight increase in the level of protease inhibitors. A less pronounced increase in inhibitory potential, along with a significant increase in proteolytic activity, was reflected in a significant increase in the value of the proteolysis index.

The use of MSCs reduces the imbalance of the protease/antiprotease system, which is accompanied by a decrease in the proteolysis index, especially in the later periods after injury.

Key words: acute experimental periodontitis, correction, stem cells, proteolysis, proteases, protease inhibitors.

ORCID and contributionship:

Biguliak H. T.: 0000-0002-2137-4859 ^{BCDE}

Klishch I. M.: 0000-0001-6226-4296 ^{AF}

Conflict of interest:

The Authors declare no conflict of interest.

Corresponding author

Biguliak Galyna Teodorivna

Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine

Ukraine, 46001, Ternopil, 1 Maidan Voli

Tel: 0987515333

E-mail: bigulyak@tdmu.edu.ua

A – Work concept and design, B – Data collection and analysis, C – Responsibility for statistical analysis, D – Writing the article, E – Critical review, F – Final approval of the article.

Received 17.03.2022

Accepted 26.08.2022

DOI 10.29254/2077-4214-2022-3-166-501-509

УДК 612.015.13:616.314.17-002.1-085.361-092.9

Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М.

ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ПРОТЕЇНАЗИ/ІНГІБІТОРИ ПРОТЕЇНАЗ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ ТА ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОЇ КОРЕКЦІЇ СТОВБУРОВИМИ КЛІТИНАМИ

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України
(м. Тернопіль, Україна)

bigulyak@tdmu.edu.ua

На сьогодні розповсюдженість запальних та дистрофічно-запальних захворювань пародонта серед населення України досягає 96-98%. Співрозмірний рівень, згідно сучасних літературних даних, відмічений і у більшості інших країн. Прогресування генералізованого пародонтиту призводить до втрати кістки коміркового відростка щелеп, деформації щелепно-лицевої ділянки, змін у скронево-щелепному суглобі та передчасній втраті зубів. У сучасній пародонтології важливе значення відводиться застосуванню засобів, що стимулюють регенераторний потенціал тканин пародонта, особливо кісткової тканини. Метою нашого дослідження було дослідження впливу стовбурових клітин на активність процесів протеолізу у щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. Гострий пародонтит моделювали введенням ліпополісахариду в тканини ясен по 40 мікролітрів (1мг/мл) через день протягом 14-ти діб. Стовбурові клітини вводили в ділянку ясен разовою ін'єкцією з розрахунку 1 млн клітин на 1 кг маси тіла. У результаті проведених досліджень встановлено, що застосування методів корекції з використанням стовбурових клітин мало у тварин з гострим експериментальним пародонтитом мало позитивний вплив, що проявлялось у зменшенні дисбалансу системи протеази/антипротеази, що супроводжувалось зниженням індексу протеолізу особливо у більш пізні терміни після моделювання патологічного процесу.

Застосування стовбурових клітин сповільнює активність процесів протеолізу на початкових етапах патологічного процесу, що може мати суттєве значення для пришвидшення процесів регенерації тканин пародонта, ушкоджених внаслідок моделювання патологічного процесу.

Ключові слова: гострий експериментальний пародонтит, корекція, стовбурові клітини, протеоліз, протеази, інгібітори протеаз.

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом планової НДР Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України «Розробка та застосування нових методів діагностики,

профілактики та лікування захворювань зубів та пародонта у осіб різного віку», № державної реєстрації 0120U104149.

Вступ. На сьогодні розвиток і прогресування запальних захворювань пародонта розглядають не

як локальне запалення навколорізних тканин, а як реакцію цілого організму на бактеріальну інвазію тканин пародонта. За даними літератури, розвиток пародонтиту є наслідком дисбалансу між мікрофлорою порожнини рота та імунним захистом організму [1]. Водночас необхідно враховувати активність клітин-ефекторів запалення і достатність механізмів резистентності. Для розвитку запалення одного бактеріального чинника недостатньо, необхідна сукупність цілого ряду патогенетичних факторів. Тому має значення закріплення їх не тільки в тканинах пародонта, а й в цілому організмі, від чого залежить ефективність стандартної терапії. Запальні захворювання тканин пародонта в основному мають хронічний перебіг із періодами загострень, а тому вимагають своєчасного і регулярного проходження курсів лікування [2].

В порівнянні з іншими стоматологічними захворюваннями ураження тканин пародонта супроводжуються більш складними і глибокими порушеннями обміну речовин, ендокринологічними та імунологічними змінами. На даному фоні відбувається розвиток морфологічних змін тканин пародонта, його судинно-нервового апарату, сполучнотканинних структур м'яких тканин кістки коміркового відростка, що спричиняє раннє руйнування комплексу тканин пародонта та появу патологічної рухомості і випадання зубів [3].

У патогенезі багатьох патологічних станів важливе місце посідають порушення протеїназо-інгібіторної системи [4-6]. Процеси лімітованого (обмеженого) протеолізу відіграють важливу роль в утворенні з неактивних попередників активних форм ферментів, гормонів, структурних білків, білків плазми крові, утворенні та інактивації біоактивних пептидів (кініни, нейропептиди), що беруть участь у регуляції судинного тону, процесів мікроциркуляції тощо [4]. При відсутності належного контролю за протеолізом розвиваються патологічні стани, що супроводжуються виникненням деструктивних, запальних та імунних реакцій. Різноманітний спектр фізіологічної дії протеїназ, їх висока активність стосовно білкових субстратів зумовлюють складність механізмів регуляції цих процесів в організмі [6, 7].

За фізіологічних умов активність протеолітичних ферментів урівноважена з рівнем протеїназ. При критичних станах порушується динамічна рівновага між протеазами та їх інгібіторами. Збільшення кількості та активності ферментів протеолізу тканинного походження призводить до "протеазного вибуху", у зв'язку з чим гіперактивуються згортальна, фібринолітична, калікреїн-кінінова, ренін-ангіотензин-альдостеронова системи і комплемент. Викликані зміни зумовлюють розвиток деструктивних і запальних змін у всьому організмі [4, 6, 8].

Для підвищення ефективності лікування генералізованого пародонтиту необхідно певним чином посилити регенераторний потенціал тканин пародонта, особливо кісткової тканини. Враховуючи це, зростає цікавість дослідження саме стовбурових клітин у тканинах пародонта. На основі подібних досліджень стає можливим стимулювати ріст

кісткової тканини у хворих на генералізований пародонтит [9-11]. Таким чином, застосування подібних методів тканинної інженерії в лікуванні ускладнень карієсу [12, 13], захворюваннях пародонта та оперативного хірургічного лікування уражень щелепнолицевої ділянки є актуальним [9-14]. Такі методи лікування є перспективними для більш ефективного відновлення втраченої пошкодженої кісткової тканини при різних захворюваннях, особливо тканин пародонта [15].

Мета дослідження. Встановити вплив стовбурових клітин на активність процесів протеолізу щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180-200 г. Пародонтит викликали введенням ліпополісахариду в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) через день протягом 14-ти діб. Через 1-ну, 7, 14 і 21-ну доби після останнього введення ЛПС щурів декапітували під тіопенталовим наркозом (50 мг/кг). Контролем служив матеріал від інтактних тварин.

Отримання мезенхімальних стовбурових клітин (МСК) проводили у вагітних самок, орієнтовно на 21-24-ту добу вагітності. Для отримання життєздатних МСК використовували ферментний метод. Культивування здійснювали в CO₂ інкубаторі за температури 37 С та концентрації CO₂ – 5%. Стовбурові клітини вводили щурам в ділянку ясен разовою ін'єкцією з розрахунку 1 млн клітин на 1 кг маси тіла. Для максимального збереження життєздатності клітин введення МСК здійснювали протягом 30 хв після отримання суспензії.

Загальну протеолітичну активність плазми крові визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну й азоколу, використовуючи набір реактивів "SimkLtd" (Україна), методом [4], принцип якого полягає в тому, що при інкубації білкових азосполук у присутності активаторів та інгібіторів протеолізу, які містяться у тканинах, відбувається лізис азоальбуміну (розпад низькомолекулярних протеїнів), азоказеїну (розпад високомолекулярних протеїнів) та азоколагену (колагеноліз), інтенсивність якого оцінювали за ступенем забарвлення інкубаційного середовища на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 440 нм. Протеолітичну активність виражали в одиницях екстинкції на 1 мл плазми за 1 год.

Вміст α2-МГ у сироватці крові визначали методом, принцип якого полягає в тому, що він утворює з трипсином активний комплекс, який є нечутливим до дії інгібітора з бобів сої. Для виконання методики використовували трипсин ("Spofa", Чехія). Концентрацію α2-МГ визначали за калібрувальним графіком, в якому по осі абсцис відкладали кількість трипсину, а по осі ординат – оптичну щільність проб, в яких відбувся гідроліз N-бензоїл-DL-аргінін-параїтроаніліду (БАПНА) відповідною концентрацією трипсину. Концентрацію α2-МГ у сироватці крові виражали в г/л [16]. Вміст α1-ІП у сироватці крові визначали методом, що базується на його здатності пригнічувати гідроліз трипсином БАПНА. Водночас трипсин у комплексі з α2-МГ здатний розщеплювати БАПНА. Вміст α1-ІП визначали за різницею між відомою кількістю трипсину і кількістю фер-

менту, що залишився після його взаємодії з інгібіторами плазми. Вміст цього інгібітора визначали за калібрувальним графіком, в якому по осі абсцис відкладали кількість трипсину (1–10 мкг), а по осі ординат – оптичну щільність проб, в яких відбувся гідроліз БАПНА відповідною концентрацією трипсину. Вміст α_1 -ІП у сироватці крові виражали в мкмоль/л [17].

Отримані цифрові дані оброблялись методом варіаційної статистики. Визначення достовірності відмінностей порівнюваних параметрів між різними вибірками проводили з використанням t-критерію Стюдента (при нормальному розподілі результатів) чи Манна-Уїтні (у випадку розподілу, що не був нормальним).

Результати дослідження та їх обговорення.

Аналізуючи показники протеолітичної активності сироватки крові у щурів, яким моделювали гострий пародонтит нами встановлено, що протягом усього експерименту вони були достовірно вищими, ніж у тварин, яким патологічний процес не моделювали (табл. 1). Так, лізис азоальбуміну на 1-шу добу після моделювання пародонтиту достовірно перевищував показник тварин без змодельованої патології і це перевищення склало 50,6%. Такі ж за спрямованістю зміни ми відмітили і стосовно лізису азоказеїну та азоколу. Зокрема, показник лізису азоказеїну у цей термін спостереження був у 2,2, а лізис азоколу – у 2,1 раза вищим, ніж у тварин без змодельованого патологічного процесу. В обох випадках різниця між показниками була достовірною. На 7-му добу спостереження показник лізису азоальбуміну дещо знизився, однак перевищував рівень тварин без змодельованої патології на 45,5%. Показники ж лізису азоказеїну та азоколу продовжували зростати і на 7-му добу від моменту моделювання патологічного процесу склали відповідно 221,9 та 229,3% від показників тварин, яким пародонтит не моделювали. До 14-ої доби показники лізису азоальбуміну, азоказеїну та азоколу суттєво знижувались, однак все ж перевищували рівень тварин без змодельованої патології відповідно на 55,8 та 54,9%. На 21-шу добу спостереження ми зафіксували подальше зниження показників, що характеризують активність процесу протеолізу сироватки крові, проте і в цей період вони були достовірно вищими від норми. Так, лізис азоальбуміну склав 113,4%, азоказеїну – 142%, азоколу – 137,8% від аналогічних показників тварин без змодельованої патології.

Застосування МСК спричинилося до зменшення активності протеаз сироватки крові. Лізис азоальбуміну на 1-шу добу від моменту моделювання пародонтиту у тварин цієї групи перевищував рівень тварин без змодельованої патології в 1,4 раза, однак був на 11,4% меншим, ніж у тварин, яким моделювали пародонтит, але корекції не проводили. Лізис азоказеїну також перевищував рівень здорових тварин в 1,9 раза, однак був на 15% меншим, ніж у тварин без корекції. Аналогічну спрямованість мав також лізис азоколу – показник був у 1,7раза вищим, ніж в нормі, проте меншим від рівня тварин без змодельованої патології на 26,8%.

Таблиця 1 – Динаміка показників протеолітичної активності сироватки крові щурів з гострим пародонтитом та корекцією МСК (M±m)

Показник/ Група тварин		Лізис азоальбуміну, Од/млх год	Лізис азоказеїну, Од/млх год	Лізис азоколу, Од/млх год
Без патології, n=12		2,53±0,12	2,24±0,13	0,82±0,10
Пародонтит	1-ша доба, n=10	3,81±0,07*	4,86±0,11*	1,75±0,09*
	7-ма доба, n=10	3,68±0,09*	4,97±0,14*	1,88±0,07*
	14-та доба, n=10	3,22±0,11*	3,49±0,09*	1,27±0,09*
	21-ша доба, n=10	2,87±0,14	3,18±0,10*	1,13±0,12*
Пародонтит + корекція МСК	1-ша доба, n=10	3,42±0,12**	4,22±0,12**	1,38±0,11**
	7-ма доба, n=10	3,24±0,10**	4,44±0,12**	1,27±0,13**
	14-та доба, n=10	3,17±0,13*	3,94±0,10**	1,19±0,12*
	21-ша доба, n=10	3,18±0,28*	3,56±0,16**	1,11±0,18

Примітки: тут і у табл. 2
 1.* – зміни показників достовірні відносно інтактних (p<0,05);
 2.# – зміни показників тварин з корекцією достовірні відносно показників без корекції на відповідні доби дослідження (p<0,05).

На 7-му добу спостереження активність протеолітичних процесів зменшувалась відносно попереднього терміну спостереження. Так, лізис азоальбуміну на 28,1% перевищував показник тварин без змодельованої патології, лізис азоказеїну – на 98,2%, азоколу – на 54,9%. Порівняно з показниками тварин, яким корекції не проводили, лізис азоальбуміну був меншим на 13,6%, лізис азоказеїну – на 11,9%, азоколу – на 48%. Виразне зниження протеолітичної активності ми встановили на 14-ту добу спостереження. Лізис азоальбуміну у цей термін спостереження перевищував рівень тварин без змодельованої патології на 25,3% і достовірно не відрізнявся від показника тварин без корекції. Лізис азоказеїну був дещо вищим – перевищення стосовно здорових тварин склало 75,9%, що на 12,9% більше, ніж у тварин без корекції. Лізис азоколу склав 145% від показника тварин без змодельованої патології і був на 6,7% меншим, ніж у тварин, яким корекція не проводилась. До 21-ої доби активність протеолітичних процесів перебувала на попередньому рівні крім показника лізису азоказеїну, який був меншим, ніж на 14-ту добу спостереження і склав 158,9% від рівня тварин без патології, що на 10,8% більше, ніж у тварин без корекції.

Таблиця 2 – Динаміка показників інгібіторів протеаз сироватки крові щурів з гострим пародонтитом і корекцією МСК (M±m)

Показник/ Група тварин		α_1 -ІП, мкмоль/л	α_2 -МГ, г/л	Індекс протеолізу
Інтактні, n=12		42,45±1,06	2,72±0,12	0,124±0,006
Пародонтит	1-ша доба, n=10	46,27±1,62	4,25±0,09*	0,206±0,011*
	7-ма доба, n=10	48,64±1,17*	3,32±0,14*	0,202±0,014*
	14-та доба, n=10	35,33±1,11*	2,38±0,11*	0,212±0,012*
	21-ша доба, n=10	41,22±1,13	2,47±0,08*	0,164±0,009*
Пародонтит + корекція МСК	1-ша доба, n=10	58,47±1,37**	3,42±0,07**	0,145±0,011**
	7-ма доба, n=10	46,67±1,16*	3,35±0,08*	0,219±0,014*
	14-та доба, n=10	38,25±1,09	2,54±0,07	0,203±0,012*
	21-ша доба, n=10	49,18±1,02**	2,98±0,08#	0,150±0,011**

Вміст білкових інгібіторів плазми крові також зазнавав виражених змін (табл. 2). На першу добу спостереження встановлено достовірне зростання інгібіторного потенціалу крові тварин, яким моделювали гострий пародонтит. Зокрема, концентрація α_2 -МГ, збільшувалась на 74,9% від норми. Щодо α_1 -ІП, то його концентрація теж зростала, однак значно менше – на 9,1% порівняно з тваринами без змодельованої патології. Менш виразне зростання інгібіторного потенціалу, поряд із суттєвим зростанням протеолітичної активності, відобразилося на значенні індексу протеолізу – він зріс на 66,1%. На 7-му добу концентрація α_1 -ІП суттєво знижувалась, порівняно з попереднім терміном спостереження, однак перевищувала рівень тварин без патології на 14,6%, а α_2 -МГ – на 22,1%. Однак, зважаючи на зростання у цей період протеолітичної активності крові, індекс протеолізу був вищим на 62,9% від показника інтактних тварин. На 14-ту добу від моменту моделювання патологічного процесу вміст білкових інгібіторів у сироватці крові й надалі зменшувався. Концентрація α_1 -ІП склала 83,3% відносно тварин без патології, а α_2 -МГ – 86,8%, що вказує на виснаження антипротеазних резервів крові. Це є одним з чинників, що не дозволяють нормалізувати активність процесів протеолізу на тлі високої активності протеолітичних ензимів, на що вказує достовірне зростання ІП – у 1,7 раза. До 21-ої доби показники інгібіторів протеаз дещо зростали і суттєво не відрізнялись від показників тварин без змодельованої патології. Концентрація α_1 -ІП склала 97,1%, а α_2 -МГ – 88,9% від рівня тварин без патології. Однак нормалізація активності антипротеаз не корелювала з активністю протеолітичних ензимів, тому індекс протеолізу все ж був достовірно вищим, ніж у нормі і склав 132,3%.

Застосування коригуючого чинника супроводжувалось суттєвим зсувом співвідношення протеази/інгібітори протеаз у бік переважання процесів

інгібування протеолізу. На 1-шу добу спостереження концентрація α_1 -ІП була на 37,7%, а α_2 -МГ – на 25,7% вищою, ніж у здорових тварин, однак меншою від аналогічних показників тварин без корекції на 27,1 та 24,3% відповідно. Однак, на тлі зростання протеолітичних процесів у цей термін спостерігалось зростання індексу протеолізу на 16,9% порівняно з інтактними тваринами, що, проте, було на 42,1% менше, ніж у тваринами без корекції. На 7-му добу ми відмітили нормалізацію інгібіторної активності сироватки крові. Концентрація α_1 -ІП склала 109,5%, а α_2 -МГ – 123,2% від рівня тварин без змодельованої патології, суттєво не відрізняючись від показників тварин без корекції. Однак індекс протеолізу був меншим, ніж у групі тварин без корекції на 8,4%, хоча в 1,8 раза перевищував рівень інтактних тварин. До 14-тої доби показники антипротеазної системи крові фактично нормалізувались – α_1 -ІП склав 110,9%. α_2 -МГ – 107,1% від норми, достовірно не відрізняючись від аналогічних показників тварин без корекції. Індекс протеолізу хоча і перевищував аналогічний показник інтактних тварин у 1,6 раза, проте був меншим від показника тварин без корекції. На 21-шу добу експерименту концентрація α_1 -ІП незначно перевищувала рівень інтактних тварин і склала 115,9%, а α_2 -МГ – 109,6%. При цьому індекс протеолізу також суттєво знизився і склав 120,9% відносно інтактних тварин, що на 9,3% менше, ніж у групі, якій корекцію не проводили.

Висновки. Отже, застосування стовбурових клітин сповільнює активність процесів протеолізу, що може мати суттєве значення для пришвидшення процесів регенерації тканин пародонта, ушкоджених внаслідок моделювання патологічного процесу.

Перспективи подальших досліджень. У подальшому планується дослідження щодо впливу стовбурових клітин на показники специфічної та неспецифічної резистентності організму у тварин з гострим експериментальним пародонтитом.

Література

1. Thumbigere Math V, Michalowicz BS, Hodges JS, Tsai ML, Swenson KK, Rockwell L, et al. Periodontal disease as a risk factor for bisphosphonate related osteonecrosis of the jaw. *Journal of periodontology*. 2014 Feb;85(2):226-33.
2. Melnychuk GM, Politun AM, Kovalchuk LE, Erstenyuk GM. Alhorytm vynyknennya u rozvytku heneralizovanoho parodontytu ta parodontozu schema kompleksnoho likuvannya heneralizovanoho parodontytu. *Sovremennaya stomatolohyya*. 2013;1:35-40. [in Ukrainian].
3. Danylevskyy NF, Borysenko AV. Zabolevaniya parodonta. K.: Zdorov'ya; 2008. 464 s.
4. Veremeenko KN, Holoborod'ko OP, Kyzym AY. Proteolyz v norme u pry patolohyyi. K.: Zdorov'ya; 1988. 200 s.
5. Kresyun VY, Sementsiv NH, Reheda MS. Osoblyvosti zrushen' stanu proteyinazno inhibitorynoy systemy za umov rozvytku eksperymental'noho alerhichnoho al'veolitu i shlyakhy yoho korektsiyi. *Odes. med. zhurn*. 2009;3(113):35-7.
6. Krynyts'ka IYA. Stan proteyinazno-inhibitorynoy systemy krovi ta bronkhoal'veolyarnoho zmyvu u shchuriv z model'ovanyim hepatopul'monal'nym syndromom. *Zah. patolohiya ta patolohichna fiziolohiya*. 2012;7(4):92-7. [in Ukrainian].
7. Shvets' VI, Kisilyuk VL, Shkrobanets' ID. Zminy tkanynnoho proteolizu pry intoksykatsiyi bilykh shchuriv malymy dozamy vazhkykh metaliv. *Klinich. ta eksperym. patolohiya*. 2009;8(4):87-9. [in Ukrainian].
8. Dedul' MY, Radetskaya LE, Kyrpychenok LN. Systema proteolyza v syvorotke krovy u perytoneal'noy zhydkosty pry khyrurhycheskom lechenyy bol'nykh endometriozom. *Novosti khyrurhyy*. 2006;14(3):74-80.
9. Zolotukhyna EL. Stvolovyekletky u perspektyvy ykh pryvnyennya v stomatolohyyi u chelyustno-lytsevoy khyrurhyy. *Molodyy vchenyy*. 2014;6:145-7.
10. Malanchuk VA, Astakhova VS, Tsylenko OL. Osteohennyye kletky – predshestvennyky kostnogo mozha cheloveka v rekonstruktyvno-vosstanovyitel'noy khyrurhyy. *Zhurn. AMN Ukrayny*. 2009;2:276-88.
11. Malanchuk VO. Rekonstruktyvno-vidnovleni operatsiyi na nyzhniy shchelepi (kliniko-laboratorne doslidzhennya) [avtoreferat]. Kyiv; 1994. 47 s. [in Ukrainian].
12. Khisham A. Pul'pit: osoblyvosti rozvytku ta vybir metodu likuvannya [avtoreferat]. Kyiv; 1993. [in Ukrainian].
13. Saber SE. Tissue engineering in endodontics. *Journal of Oral Science*. 2009;51(4):495-507.
14. Tsilenko OL, Sosidko AV. Sravnitel'naya kharakteristika tipov koloniy KOYe - f pul'py zuba I stvolovykh stromal'nykh kletok kostnogo mozga cheloveka v usloviyakh in vitro. *Sovremennaya ortodontiya*. 2015;3:57-60.
15. Gerashchenko SB, Chaikovs'kiy YUB, Del'tsova OI. Stovburovi klitini zuba. *Galits'kiy likars'kiy visnik*. 2011;18(4):5-8. [in Ukrainian].
16. Zorin NA, Zorina VN, Zorina RM, Levchenko VG. Universal'nyy regulyator – a2 -makroglobulin. *Klinich. lab. diagnostika*. 2004;11:18-21.
17. Karyagina IYU, Zaremskiy RA, Balyabina MD. Ispol'zovaniye metoda kompleksnogo opredeleniya aktivnosti tripsinopodobnykh proteinaz, a1 -antitripsinai a2 -makroglobulina v gastroenterologicheskoy klinike. *Lab. delo*. 1990;2:10-3.

ПОКАЗНИКИ СИСТЕМИ ПРОТЕЇНАЗИ/ІНГІБІТОРИ ПРОТЕЇНАЗ ПРИ ГОСТРОМУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ ТА ПІСЛЯ ПРОВЕДЕНОЇ КОРЕКЦІЇ СТОВБУРОВИМИ КЛІТИНАМИ

Бігуляк Г. Т., Кліщ І. М.

Резюме. Метою нашого дослідження було дослідження впливу стовбурових клітин на активність процесів протеолізу щурів з гострим пародонтитом та за корекції стовбуровими клітинами. Проаналізовано результати дослідження системи протеїнази/інгібітори протеїназ у тварин з гострим експериментальним пародонтитом, який коригували за допомогою мезенхімальних стовбурових клітин людини. Залежно від лікування піддослідних тварин було поділено на такі групи: 1 група – тварини без патології (інтактні); 2-га – тварини з модельованим гострим пародонтитом; 3-я – тварини з пародонтитом, коригованим мезенхімальними стовбуровими клітинами. Терміни спостереження встановили на 1-шу, 7-му, 14-ту та 21-шу доби після виведення тварин з експерименту. Визначали показники, що характеризують активність процесів протеолізу (за лізисом азоальбуміну, азоказеїну й азоколу, використовуючи набір реактивів “SimkoLtd” (Україна) та інгібіторів протеолізу (α 2-МГ, α 1 –ІП), а також розраховували індекс протеолізу. За результатами дослідження встановлено, що при експериментальному моделюванні гострого пародонтиту відбувалась виражена активація протеолізу з максимумом на 1-шу добу спостереження та незначне зростання рівня інгібіторів протеаз. Менш виразне зростання інгібіторного потенціалу, поряд із суттєвим зростанням протеолітичної активності, відобразилося на достовірному зростанні значення індексу протеолізу.

Застосування мезенхімальних стовбурових клітин зменшує дисбаланс системи протеази/антипротеази, що супроводжується зниженням індексу протеолізу особливо у більш пізні терміни після нанесення травми.

Ключові слова: гострий експериментальний пародонтит, корекція, стовбурові клітини, протеоліз, протеази, інгібітори протеаз.

INDICATORS OF THE PROTEINASE SYSTEM/PROTEINASE INHIBITORS IN ACUTE EXPERIMENTAL PERIODONTITIS AND AFTER CORRECTION BY STEM CELLS

Bigulyak G. T., Klishch I. M.

Abstract. The purpose of the study was to investigate the effect of stem cells on the activity of proteolysis processes in rats with periodontitis, corrected by stem cells. The results of the study of the proteinase system/proteinase inhibitors in animals with acute experimental periodontitis, which was corrected with the help of human mesenchymal stem cells, were analyzed. Depending on the treatment, the animals were divided into several groups: 1st group – animals without pathology (intact); 2nd – animals with simulated acute periodontitis; 3rd – animals with periodontitis corrected by mesenchymal stem cells. The observation dates were set on the 1st, 7th, 14th, and 21st days after the animals were removed from the experiment. Indicators characterizing the activity of proteolysis processes were determined (by lysis of azoalbumin, azocasein, and azocol, using a set of “SimkoLtd” (Ukraine) reagents and proteolysis inhibitors (α 2-MG, α 1-IP), and the proteolysis index was also calculated. According to the results of the study, it was established that during the experimental modeling of acute periodontitis, there was a pronounced activation of proteolysis with a maximum on the 1st day of observation and a slight increase in the level of protease inhibitors. A less pronounced increase in inhibitory potential, along with a significant increase in proteolytic activity, was reflected in a significant increase in the value of the proteolysis index.

The use of MSCs reduces the imbalance of the protease/antiprotease system, which is accompanied by a decrease in the proteolysis index, especially in the later periods after injury.

Key words: acute experimental periodontitis, correction, stem cells, proteolysis, proteases, protease inhibitors.

ORCID кожного автора та їх внесок до статті:

Bigulyak H. T.: 0000-0002-2137-4859 ^{BCDE}

Klishch I. M.: 0000-0001-6226-4296 ^{AF}

Конфлікт інтересів:

Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Адреса для кореспонденції

Бігуляк Галина Теодорівна

Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України

Адреса: Україна, 46001, м. Тернопіль, вул. Майдан Волі 1

Тел.: 0987515333

E-mail: bigulyak@tdmu.edu.ua

A – концепція роботи та дизайн, **B** – збір та аналіз даних, **C** – відповідальність за статичний аналіз, **D** – написання статті, **E** – критичний огляд, **F** – остаточне затвердження статті.

Стаття надійшла 17.03.2022 року
Стаття прийнята до друку 26.08.2022 року