

УДК 616.31-002:616.311.2-002:616.314.17-008.

Черемісіна В. Ф.

ЗМІНИ ЕНЕРГЕТИЧНОГО МЕТАБОЛІЗМУ МІТОХОНДРІЙ ПРИ ЗАХВОРЮВАННЯХ ПАРОДОНТУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ ТА ЇХ ЗНАЧЕННЯ В ПРОЦЕСАХ РЕЗОРБЦІЇ ТА РЕМОДЕЛЮВАННЯ

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

cheremishav@mail.ru

В роботі представлені результати вивчення енергетичного метаболізму аденілової системи мітохондрій при захворюваннях м'яких тканин пародонту в різні терміни спостереження. Встановлено, що захворювання м'яких тканин пародонту є енергозалежними процесами, що проявляється у вигляді зниження концентрації АТФ, на фоні підвищення АДФ та АМФ, відносно показників контрольної групи.

Одержані результати свідчать про те, що протягом 2-х тижнів захворювання в процеси резорбції тканин включаються процеси ремоделювання, найбільш виражені у щурів з пародонтитом.

Ключові слова: мітохондрії; пародонтит; альвеоліт; аденілова система; резорбція; ремоделювання.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана в рамках науково-дослідної програми НФаУ МОЗ України «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів», № держ. реєстрації 0114U000956. Автор є співвиконавцем фрагмента даної науково-дослідної теми.

Вступ. Аденолові нуклеотиди відносяться до числа найважливіших ефекторів. Аденозин-монофосфорна (АМФ) і аденозин-дифосфорна (АДФ) кислоти діють як позитивні ефектори, стимулюючи швидкість енергетичних процесів, і підвищують вихід аденозин-трифосфорної кислоти (АТФ). Енергетичний статус клітини має суттєве значення для підтримання таких життєво важливих функцій як: скоротлива, терморегуляторна, транспортна, обмінна. Зниження вмісту АТФ порушує, перш за все, енергозалежний процес фосфорилування – дефосфорилування мембранних білків і ліпідів, який забезпечує структурну цілісність мембран [2, 5, 6].

Основними функціями мітохондрій є синтез АТФ, перенос електронів з НАДН до кисню з утворенням H_2O , окиснення ацетил-КоА з утворенням двох молекул CO_2 та ін.

Зміни енергоутворюючої функції мітохондрій та їх значення в механізмах резорбції та ремоделювання м'яких тканин пародонту в доступній нам

літературі не обговорювались. Існує не так багато праць, які присвячені ремоделюванню міокарду та судин після реперфузії [1].

Мета роботи – вивчати зміни енергетичного метаболізму в мітохондріях при захворюваннях пародонту та їх значення механізмах резорбції та ремоделювання.

Об'єкт і методи дослідження. Експериментальні дослідження були проведені на 60 білих щурах масою 200,0–220,0 г, які були розподілені на 3 групи (по 20 тварин в кожній): перша група – інтактний контроль, друга – щури, яким була відтворена модель пародонтиту за методом Пешкової Л. В. [5], третя група – щури, яким була відтворена модель альвеоліту за методом Гаврилова В. О. [7].

При роботі з тваринами дотримувалися «Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються з експериментальними та іншими науковими цілями» (Страсбург, 1986) [4], «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених П'ятим національним конгресом з біоетики (Київ, 2013).

Концентрації аденолових нуклеотидів у рові (АТФ, АДФ, АМФ) визначали методом тонкошарової хроматографії на пластинках Silufol [6]. Показник енергетичного заряду еритрону (ЕЗЕ) підраховували як співвідношення: $ЕЗЕ = АТФ / (АДФ + АМФ)$ [2].

Достовірність відмінностей між групами визначали методами варіаційної статистики з використанням t-критерія Стьюдента і непараметричних T-критерія Вількоксона (для поєднаних сукупностей) і U-критерія Манна-Уїтні (для незалежних сукупностей). Достовірними вважали результати при $p < 0,05$ [3].

Результати досліджень та їх обговорення. Біохімічне дослідження у групі щурів інтактного контролю в порівнянні з групами тварин з пародонтитом і альвеолітом в першу добу експерименту встановлено однотипні зміни показників аденілової системи, які характеризувалися зниженням концентрації АТФ і компенсаторним підвищенням концентрації – АДФ і АМФ у гомогенаті еритроцитів (табл. 1).

Таблиця 1 – Рівень аденілових нуклеотидів у щурів з пародонтитом і альвеолітом в порівнянні з групою інтактного контролю ($X \pm S_x$) – перша доба експерименту

Показники	Інтактний контроль (норма)	Щури з пародонтитом (контрольна патологія)	Щури з альвеолітом (контрольна патологія)
АТФ, ммоль/л	632,7±15,2	391,2±15,2*	395,4±15,3*
АДФ, ммоль/л	232,1±6,2	372,1±13,7*	367,4±13,4*
АМФ, ммоль/л	53,5±2,6	98,7±9,3*	96,3±9,3*
ЕЗЕ	2,25±0,3	0,83±0,08*	0,85±0,09*

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно показників інтактної групи; $n=20$ тварин в кожній групі

Вміст АТФ в групі щурів з пародонтитом був, в середньому, в 1,61 рази нижчим за норму (632,7±15,2 ммоль/л) і складав 391,2±15,2 ммоль/л ($p < 0,05$); АДФ – в 1,59 рази вищим за норму (372,1±13,7 ммоль/л); АМФ також був підвищеним, в середньому, в 1,86 раз, у порівнянні з нормою (53,5±2,6 ммоль/л) і сягав 98,7±9,3 ммоль/л ($p < 0,05$). Показник ЕЗЕ в групі з пародонтитом становив 0,83±0,02 ($p < 0,05$), що, в середньому, в 2,59 рази нижче відповідного показника норми (2,25±0,3). В групі порівняння вміст АТФ в гомогенаті еритроцитів дорівнював 395,4±15,3 ммоль/л ($p < 0,05$) що було в 1,59 рази нижче за норму; АДФ був вище відповідного показника норми в 1,58 рази ($p < 0,05$) та складав 367,4±13,4 ммоль/л; АМФ сягав 96,3±9,3 ммоль/л, що, в середньому, в 1,83 рази вище за норму ($p < 0,05$). Показник ЕЗЕ в першу добу експерименту в групі тварин з альвеолітом становив 0,85±0,09, що, в середньому, було в 2,57 рази нижче відповідного показника норми ($p < 0,05$).

Отже, в обох групах тварин (як при пародонтиті, так і при альвеоліті) в першу добу експерименту були практично однакові порушення з боку показників аденілової системи ($p < 0,05$), що свідчить про однотипність в біохімічному плані.

Одержані дані свідчать про суттєве зниження рівня АТФ у гомогенаті еритроцитів на фоні значного підвищення концентрації АМФ та АДФ. Найбільш вірогідно, це пов'язано з підвищенням енергетичних потреб організму в головній енергетичній субстанції за рахунок посилення опору в кістковій системі пародонту, оскільки пародонтит та альвеоліт є енергозалежними процесами. З іншого боку, такі зміни можуть бути обумовлені порушенням

ресинтезу АТФ з ди- та монофосфатних форм в організмі щурів, внаслідок порушень енергетичного гомеостазу за рахунок гіпоксії, що розвивається, в м'яких тканинах пародонту.

На третій день експерименту динаміка усіх показників обміну аденілових нуклеотидів значно погіршилась. Однак на 7-й день експерименту ми констатували покращення клінічного стану тварин: вони стали більш активними, волоссяний покрив набував природного вигляду, з'явився апетит. Разом з тим, у деяких щурів ми відмічали випадіння частини зубів, особливо у тварин з пародонтитом. Біохімічні показники рівня аденілових нуклеотидів значно покращилися (**табл. 2**). Так, у щурів з пародонтитом вміст АТФ підвищувався, по відношенню до вихідного рівня, у середньому, в 1,43 рази і складав 559,4±16,5 ммоль/л ($p < 0,05$). Показник АДФ складав 247,7±12,3 ммоль/л, що було нижчим початкового показника в 1,46 рази та вірогідно не відрізнялась від інтактного контролю ($p < 0,05$). Вміст АМФ в гомогенаті еритроцитів по відношенню до вихідного показника знизився в 1,6 рази та складав 58,5±7,3 ммоль/л, що, практично, відповідало верхній межі норми ($p < 0,05$). Показник ЕЗЕ, в порівнянні з вихідним значенням, збільшився, в середньому, в 2,04 рази та досяг 1,69±0,08. В групі тварин з альвеолітом також була відмічена позитивна динаміка аденілових нуклеотидів, але менш виражена порівняно з групою щурів з пародонтитом. Рівень АТФ у щурів з альвеолітом підвищився, в середньому, в 1,2 рази по відношенню до інтактного контролю, але залишався в 1,37 рази нижче норми ($p < 0,05$) та в 1,2 рази відповідного показника тварин з пародонтитом ($p < 0,05$) і дорівнювала 469,8±14,5 ммоль/л ($p < 0,05$) (**табл. 2**).

Таблиця 2 – Рівень аденілових нуклеотидів у щурів на 7-й день експерименту ($X \pm S_x$)

Показники	Інтактний контроль (норма)	Щури з пародонтитом (контрольна патологія)	Щури з альвеолітом (контрольна патологія)
АТФ, ммоль/л	643,2±17,2	559,4±16,5*	469,8±14,5*
АДФ, ммоль/л	232,0±6,2	247,7±12,3*	311,3±12,2*
АМФ, ммоль/л	53,5±2,6	58,5±7,3*	82,7±8,4*
ЕЗЕ	2,23±0,11	1,69±0,08*	1,22±0,06*

Примітка: * – $p < 0,05$ відносно показників інтактної групи; $n=20$ тварин в кожній групі.

Рівень АДФ знижувався відповідно інтактного контролю в 1,18 рази і складав $311,3 \pm 12,2$ ммоль/л, але залишався вищим за норму, у середньому, в 1,31 рази ($p < 0,05$) та показника групи щурів з пародонтитом – в 1,2 рази ($p < 0,05$). Концентрація АМФ у групі щурів з альвеолітом складала $82,7 \pm 8,4$ ммоль/л, що було в 1,54 рази вищим за інтактний контроль ($p < 0,05$) та в 1,18 рази нижчим відповідного показника до інтактного контролю та даних першого дня експерименту, а також в 1,26 рази вищим показника щурів з пародонтитом.

Показник ЕЗЕ складав $1,22 \pm 0,06$ та, в середньому, був в 1,82 рази нижчим норми ($p < 0,05$) та в 1,38 рази нижчим показника щурів з пародонтитом, та в 1,43 рази вищим вихідного значення.

Одержані нами результати свідчать про те, що в природних умовах утримання віварію, на звичай-

ній для всіх тварин дієті, без лікування, в процесі резорбції тканин починають включатися процеси ремоделювання м'яких тканин пародонту.

Висновки.

1. Встановлено, що захворювання м'яких тканин пародонту є енергозалежними процесами, що проявляється у вигляді зниження концентрації АТФ, на фоні підвищення АДФ та АМФ, відносно показників контрольної групи.
2. Одержані результати свідчать про те, що протягом 2-х тижнів захворювання в процесі резорбції тканин включаються процеси ремоделювання, найбільш виражені у щурів з пародонтитом.

Перспективи подальших досліджень. В подальшому планується продовжити вивчення детальних механізмів патогенезу захворювань пародонту в експерименті.

Література

1. Динамика содержания гликозаминогликанов и активность церулоплазмينا у больных ишемической болезнью сердца в процессе раннего постинфарктного ремоделирования левого желудочка / [Л. Б. Тим, А. Н. Лайзин, Г. А. Березовская и др.] // Бюл. СОШ РАМН. – 2003. – № 3. – С. 24–28.
2. Комаров Ф. И. Биохимические исследования в клинике / Ф. И. Комаров. – М.: Медпресс-информ, 2003. – 168 с.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: МОРИОН, 2000. – 320 с.
4. Общие этические принципы экспериментов на животных: материалы I Национального конгресса по биоэтике, 2001. – К.: НАНУ. – 16 с.
5. Пешкова Л. В. Спонтанное поражение тканей пародонта у крыс в условиях вивария, как модель пародонтита / Л. В. Пешкова // Вісник стоматології. – 1997. – № 2. – С. 163–168.
6. Рубин В. И. Обмен адениловых нуклеотидов и методы его исследования: методическое пособие для врачей-лаборантов / В. И. Рубин, Н. Б. Захарова, Н. И. Целик. – Саратов, 1992. – 32 с.
7. Спосіб моделювання альвеоліту нижньої щелепи у лабораторних тварин (щурів): Патент на корисну модель України № 61486 21815А, МПК (2011.01) А61К6/00. В. О. Гаврилов, В. І. Лузін, Д. І. Гайдаш [та ін.] (Україна); ЛДМУ. – № u2010 14275; заявл. 29.11.10; опубл. 27.07.11. – Бюл. № 14. – 10 с.

References

1. Tim LB, Layzin AN, Berezovskaya GA, i dr. Dinamika sodержaniya glikozaminoglikanov i aktivnost' tseruloplazmina u bol'nykh ishemicheskoy boleznyu serdtsa v protsesse rannego postinfarktnogo remodelirovaniya levogo zheludochka. Byul. SOSH RAMN. 2003;3:24–8.
2. Komarov FI. Biokhimicheskiye issledovaniya v klinike. M.: Medpress-inform; 2003. 168 s.
3. Lapach SN, Chubenko AV, Babich PN. Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispol'zovaniyem Excel. K.: MORION; 2000. 320 s.
4. Obshchiye eticheskiye printsipy eksperimentov na zhivotnykh: materialy I Natsional'nogo kongressa po bioetike. K.: NANU; 2001. 16 s.
5. Peshkova LV. Spontannoye porazheniye tkaney parodonta u krysv v usloviyakh vivariya, kak model' parodontita. Visnik stomatologii. 1997;2:163–8.
6. Rubin VI, Zakharova NB, Tselik NI. Obmen adenilovykh nukleotidov i metody yego issledovaniya: metodicheskoye posobiye dlya vrachey-laborantov. Saratov; 1992. 32 s.
7. Sposib modelyuvannya al'veolitu nizhn'oi shchelepi u laboratornykh tvarin (shchuriv): Patent na korisnu model' Ukraïni № 61486 21815A, MPK (2011.01) A61K6/00. VO Gavrilov, VÍ Luzin, DÍ Gaydash [ta in.] (Ukraïna); LDMU. – № u2010 14275; zayavl. 29.11.10; opubl. 27.07.11. – Byul. № 14. – 10 s.

УДК 616.31-002:616.311.2-002:616.314.17-008.

ИЗМЕНЕНИЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКОГО МЕТАБОЛИЗМА МИТОХОНДРИЙ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ПАРОДОНТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ И ИХ ЗНАЧЕНИЕ В ПРОЦЕССАХ РЕЗОРБЦИИ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ

Черемисина В. Ф.

Резюме. В работе представлены результаты изучения энергетического метаболизма адениловой системы митохондрий при заболеваниях мягких тканей пародонта на разных сроках изучения. Установлено, что заболевания мягких тканей пародонта являются энергозависимыми процессами и проявляются в виде снижения концентрации АТФ, на фоне повышения АДФ и АМФ, относительно показательной контрольной группы.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в течение 2-х недель заболевания в процессы резорбции тканей включаются процессы ремоделирования, наиболее выражены у крыс с пародонтитом.

Ключевые слова: митохондрии; пародонтит; альвеолит; адениловая система; резорбция; ремоделирование.

UDC 616.31-002:616.311.2-002:616.314.17-008.

CHANGES OF ENERGY METABOLISM OF MITOCHONDRIA DURING PERIODONTAL DISEASES IN THE EXPERIMENT AND THEIR SIGNIFICANCE IN PROCESSES OF RESORPTION AND REMODELLING

Cheremisina V. F.

Abstract. Changes of energy functions of mitochondria and their significance in the mechanisms of resorption and remodelling of soft tissues of parodontium have not discussed yet.

The *aim* of the paper is to study changes of energy metabolism in mitochondria during periodontal diseases and their significance of resorption mechanisms and remodelling.

Object and methods of investigation. Experimental investigations were done on 60 white rats with body weight 200,0–220,0 g, which were divided into 3 groups (each group contained 20 animals): the first group contained intact control, the second one included rats, which received the model of periodontitis by L.V. Peshkova, the third group contained rats which received the model of dental alveolitis by V.O. Havrylova.

Results. Biochemical investigation in rats of intact control in comparison with animals with periodontitis and dental alveolitis, homogeneous changes of indices of adenylic system were established which were characterized by the decrease of ATP concentration and increase of ADP concentration and AMP concentration in homogenate of erythrocytes.

Both groups of animals (in the case of periodontitis and in the case of dental alveolitis) during the first day of the experiment there were the similar disturbances of indices of adenylic system ($p < 0,05$), that determines the uniformity in biochemical plan.

Received results demonstrate decrease of ATP level in homogenate of erythrocytes based on significant increase of ADP concentration and AMP concentration. It is possible associated with increase of energetic needs of an organism in main energetic substance in bony system of periodontitis, so periodontitis and dental alveolitis are energy-dependent processes. Otherwise, such changes can be caused by disturbances of ATP resynthesis with dy- and monophosphate forms of rat's organism as a consequence of energy homeostasis during hypoxia that develops in soft tissues of periodontitis.

Received results demonstrate that processes of remodelling of soft tissues of periodontitis are included into processes of tissues resorption in general natural conditions without treatment.

Conclusions. It was indicated that diseases of soft tissues of periodontitis are energy-dependent processes that determine the decrease of ATP concentration based on increase of ADP and AMP concentration correspondingly indices of control group. Received results demonstrate that during two weeks of disease processes of remodelling are included in processes of tissues of resorption (rats with periodontal disease). Further investigations will be concerned with study of mechanisms of pathogenesis of periodontal diseases.

Keywords: mitochondria; periodontal disease; dental alveolitis; resorption; remodelling.

Стаття надійшла 31.01.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування