МАКЕД. СТОМАТ. ПРЕГЛЕД VI, 2, 213–218, 1982

Клиника за болести на устата
Стоматолошки факултет – Скопје
Институт за МЕП физиологија – Скопје

ВГРАДУВАЊЕ L. PROLIN H^3 ВО ГИНГИВАЛНО ТКИВО ОД ПАЦИЕНТИ СО ПРОГРЕСИВНА ПАРОДОНТОПАТИЈА ПРЕД И ПО ПРИМЕНЕТАТА ТЕРАПИЈА (IN VITRO)

Накова М. , В. Ковачев, Б. Лазарева

Кај 59 пациенти со клинички и рендгенолошки верифицирана прогресивна пародонтопатија и 30 здрави лица без анамнестички податоци за некое интеркурентно заболување одредувано е вградувањето маркиран пролин. Вградувањето на оваа аминокиселина во гингивалното ткиво е одредувано во два наврата: пред и по применетата конзервативна, конзервативно-хируршка и физикална терапија.

Резултатите покажаа дека постои пропорционално опаѓање на инкорпорацијата на пролинот во зависност од клиничкиот стадиум на заболувањето. По применетата терапија доаѓа до сигнификантно зголемување на вградувањето на маркираниот пролин.

Непознатата за етиопатогенетскиот механизам на прогресивната пародонтопатија, и покрај широката плејада објавени публикации во литературата, сè уште не е наполно одгатната. Тргнувајќи од сознанието дека колагенот влегува во составот на сите пародонтани ткива и го овозможува нивниот физиолошко-функционален интегритет, во последните неколку десетлетија се пристапи кон проучување на неговиот метаболизам, користејќи најразновидни параметри.

Никуленкова[12] и Кулинова[11], за метаболните промени во гингивалното ткиво судат според излачувањето на оксипролинот во урината. Тие дошле до сознание дека при пациенти со прогресивна пародонтопатија излачувањето на оксипролинот во урината е зголемено како резултат на забрзаното разградување на колагенот. Меѓутоа, Prockop[14] смета дека при одредувањето на хидроксипролинот во урината не секогаш може да се добие јасна претстава за метаболизмот на колагенот затоа што само 80% од хидроксипролинот е слободен, а 20%, е врзан за пептидите, па фактички тој не може да се одреди.

Cuningham[4] и Kakimoto[7], како поосетлив параметар за процена на состојбата на колагенот го земат излачувањето на хидроксилизинот преку урината, а Krane[10], процена на метаболизмот на колагенот во кое и да било ткиво од организмот врши преку одредување на гликозидите и галактозидите од урината.

Други автори, пак направиле обид да ја проучат синтезата на колагенот во пародонталните ткива. Carneiro[2], Crumley[3], Simson[15] и Anderson[1], ја проучуват синтезата на колагенот кај експериментални животни во здрав пародонциум, гингива и интактни заби, преку инкорпорација на маркиран пролин. Резултатите покажале дека постои сигнификантна разлика во инкорпорацијата на пролинот помеѓу испитуваните ткива.

Kameyama[8] во 1972 година, со методата на авторадиографија, ја проучува инкорпорацијата на пролин во пародонциумот и гингивата од скотни стаорци. Вградувањето на пролинот кај нив опаѓал во однос на контролната група, а разликата помеѓу вредностите од двете испитувани групи била статистички значајна. Подоцна, во 1975 год.Kameyama[9] вршел компаративни испитувања за вградувањето на пролинот во периодонциумот, гингивата и пулпата. Нивото на вградувањето на пролинот во периодонциумот било повисоко за 2.8 пати во однос на гингивата и 5 пати повисоко во однос на пулпата.

Simson[15], Paunio[13] Hara[6], Darius[5], преку одредување на хидроксипролинот во гингивалниот ексудат и алвеолата, дошле до сознание дека не постои само редукција на тоталната количина на колагенот, туку дека постои и редукција на ацидосолубилниот колаген.

Од објавените литературни податоци се гледа дека поголем број автори вршат индиректна процена на метаболизмот на колагенот во пародонталните ткива, преку одредување на најразновидни параметри. Меѓутоа, не постојат податоци за директна процена на метаболизмот на колагенот во пародонталните ткива од пациенти со прогресивна пародонтопатија и здрави луѓе, што ја наметна и целта на овој труд: да се проучи метаболизмот во гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија, дистрибуирани по клинички стадиум на заболувањето, преку вградување маркиран пролин, како да се направат истите испитувања по спроведената конзервативна, конзервативно-хируршка и физикална терапија.

Материјал и метод на работа

На Клиниката за болести на устата при Стоматолошкиот факултет во Скопје, по методата на случаен избор се опсервирани 59 пациенти со клинички и рендгенолошки верифицирана прогресивна пародонтопатија и дистрибуирани по клинички стадиум на заболувањето. Како контролна група ни послужија 30 здрави лица без промени на оралната лигавица и пародонтот, како и без анамнестички податоци за некое интеркурентно заболување.

Како материјал за предвидените испитувања е користено гингивално ткиво, земено по пат на биопсија и директно ставано во Кребс-Рингеров бикаробнатен пуфер. Ткивото добро се испитува, се суши со мери и се става во пластични шишенца, во кои претходно има додадено 2 мл Кребс-Рингеров бикарбонатен пуфер и 1 микрокири маркиран пролин. Потоа ткивото е инкубирано во период од 180 мин на 37,5^{0}C, во водена бања, со матење.

По инкубацијата ткивото се промива со дестилирана вода, се хомогенизира во присуство на 10 мл сцинтилациона течност (2 мл толуол, 1 л тритон X 100 и 16.5 г пермабленд), и се брои во V-сци бројач 2425. Добиените резултати (радиоактивност) се пресметуваат и се изразуваат во DPM/г ткиво.

По спроведената конзервативна, конзервативно-хируршка и физикална терапија, повторно се зема материјал и пак се одредува инкорпорацијата на пролин, на ист начин и во исти услови. Добиените резултати статистички се обработуваат преку одредување на средната вредност, стандардната грешка, а сигнификантноста на разликата помеѓу двете испитувани групи се изразува со p.

Резултати и дискусија

Во табелата бр 1 е прикажано вградувањето на L-prolin H^3 во гингивалното ткиво од контролната група и пациентите со прогресивна пародонтопатија, дистрибуирани по клинички стадиум на заболувањето.

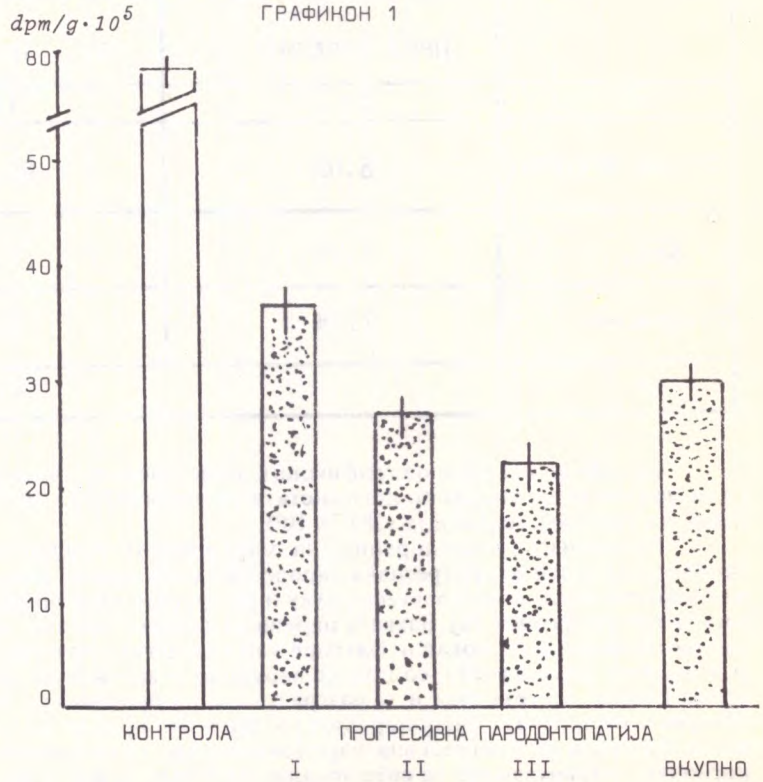
ВГРАДУВАЊЕ МАРКИРАН ПРОЛИН ВО ГИНГИВАЛНО ТКИВО ОД ЛУЃЕ, IN VITRO

ТАБЕЛА 1

DPM/G·10^5

	КОНТРОЛА	ПРОГРЕСИВНА ПАРОДОНТОПАТИЈА			
		ПО СТАДИУМИ			ВКУПНО
		I	II	III	
n	*30*	*21*	*25*	*13*	*59*
Ср.ВДНОСТ	76,91	37,35	26,84	21,85	29,29
Ст.ДЕВ.	2,05	6,18	5,61	5,25	6,46
Ст.ГРЕШКА	0,37	1,34	1,12	1,45	0,84
p		*0,001*	*0,001*	*0,001*	*0,001*

ГРАФИКОН 1



Од табелата се гледа дека постои високо статистичко намалување на инкорпорацијата на маркиран пролин во гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија во однос на контролната група. Вградувањето на L-prolin H^3 во гингивалното ткиво од контролната група изнесува 76.91 x 10 DPM/г ткиво, а кај пациентите со прогресивна пародонтопатија 29.29 $x10^5$ DPM/г ткиво.

Исто така паѓа во очи и пропорционалното намалување на вградувањето на маркираниот пролин во гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија во зависност од клиничкиот стадиум на заболувањето. Од истата табела се гледа дека најмало е вградувањето во гингивалното ткиво земено од пациенти со III клинички стадиум на пародонталната болест. Истите овие резултати се и графички прикажани на графикон 1.

Во табелата бр. 2 и на граф. 2 се прикажани резултатите од инкорпорацијата на L-prolin H^3 во гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија пред и по применетата терапија.

ВГРАДУВАЊЕ МАРКИРАН ПРОЛИН ВО ГИНГИВАЛНО ТКИВО

ОД ПАЦИЕНТИ СО ПРОГРЕСИВНА ПАРОДОНТОПАТИЈА

(DPM/G·10^5)

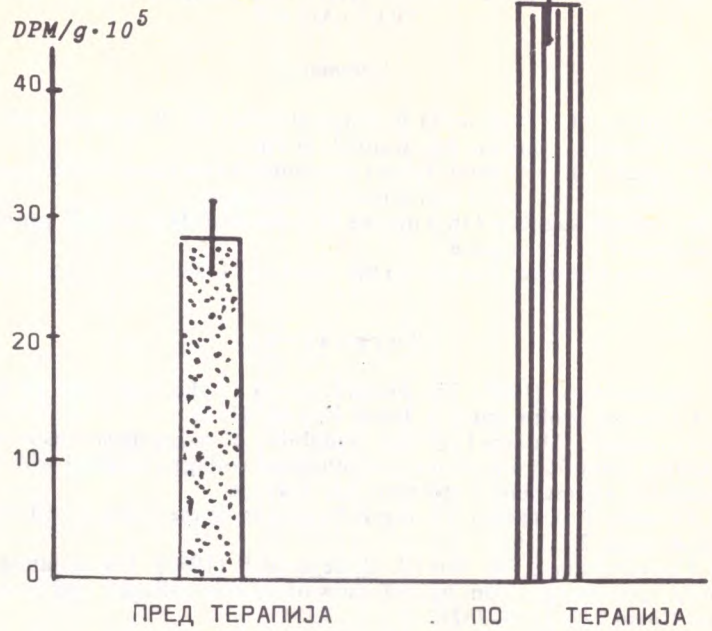
ТАБЕЛА II IN VITRO

	ПРЕД ТЕРАПИЈА	ПО ТЕРАПИЈА
n	*10*	*10*
СРЕДНА ВРЕДНОСТ	28,07	47,70
Ст.Дев.	7,18	7,00
Ст.Грешка	2,16	2,13
p		*0.001*

Од табелата, како и од графиконот, многу јасно се гледа дека вградувањето на пролин се зголемува по применетата терапија (47.70 x 10^5 DPM/г ткиво) во однос на тоа пред терапијата (28.07x 10^5).

Намалената инкорпорација на маркираниот пролин во гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија наедно укажува и на намалената синтеза не само на колагенот туку и на другите протеински фракции во чиј состав влегува самиот тој. Ваквата нарушена синтеза сметаме дека е условена од дејството на бројните локални фактори кои доведуваат до намалена оксигенација и исхрана на гингивата, со што се нарушува и активноста на ензимите одговорни како за синтеза така и за разградување на протеините. Во прилог на тоа зборува и зголемената инкорпорација на маркиран пролин во гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија по променетата терапија, односно по отстранувањето на сите локални иритативни фактори. Вредностите до-

ГРАФИКОН 2



биени за инкорпорацијата на маркиран пролин по применетата терапија се многу слични со вредностите добиени од пациенти со I клинички стадиум на заболувањето. Овие резултати не наведуваат на заклучок дека сè уште не настанала целосна регенерација и реституација на гингивалното ткиво.

Заклучок

Резултатите добиени од испитувањата направени за вградувањето на маркиран пролин во гингивалното ткиво од контролната група и од пациенти со прогресивна пародонтопатија дистрибуирани по клинички стадиум на заболувањето, пред и по применетата терапија, ги наметнуват следниве заклучоци:

1. постои намалено вградување на маркиран пролин во гингивалното ткиво добиено од пациенти со прогресивна пародонтопатија во однос на контролната група. Намаленото инкорпорирање на пролинот во гингивалното ткиво од пациенти со прогресивна пародонтопатија во однос на контролната група сугерира постоење на промени претежно во молекулот на колагенот, но не ја исклучува и можноста за промени во другите протеини од гингивалното ткиво;

2. вградувањето на маркираниот пролин е пропорционално со клиничкиот стадиум на заболувањето. Најмала инкорпорацијата во гингивалното ткиво добиено од пациенти со III клинички стадиум на болеста;

3. по спроведената терапија, вградувањето на пролинот се зголемува, споредено со вградувањето пред третманот на заболувањето, кај пациенти со II и III клинички стадиум. Постои сооднос помеѓу клиничкото подобрување на заболувањето и зголемената инкорпорација на пролинот во гингивалното ткиво.

THE UPTAKE OF LABELED L-PROLINE-^{3}H IN GINGIVAL TISSUE OF PATIENTS WITH PROGRESSIVE PERIODONTAL DISEAE BEFORE AND AFTER TRETAMENT

Summary

The uptake of L-Proline-^{3}H in gingival tissue of 59 patients with periodontal disease and 30 healthy persons was studied, in vitro.

The uptake of L-Proline-^{3}H was determined two times: before and after conservative, conservative-surgical and physical treatment.

The findings suggested that uptake of L-Proline-^{3}H decreases proportionally to the clinical degree of the disease.

There was significat increase in the uptake of L-Proline-^{3}H after treatment.

Литература

1. Anderson A. (1967) The protein matrix of the teeth and periodontium in hamster. A tritiated prolin stydy. J. Dent. Res 46, 67–68
2. Carneiro J., Moares F. (1964): Suitability of collagenase treatment for the radioautographic identification of newly synthesised collagen labelled with H = 3-glicine or H-3 proline J. Histochem. Cytochem, 14, 334–336
3. Crymley P. J. (1964): Collagen formation in the normal and stressed periodont. Periodontosc 2, 53–61
4. Cunningham L. W.. Ford J. D, Segered P. (1967): The isolation of identical hydroxylisine grucosidase from hydrolysates of soluble collagen and from human urina. J. Biol. Chem 242, 2570–2571.
5. Darius K. (1972): Changes in collagen of the allveolar processes in patients with periodontosis. Pol. Med. J. 11, 2, 415–421
6. Hara K., Loe H. (1975): Hydroxiproline content in gingival exudate bifore and after periodontal surgery. J. Period. Res 10 (5), 270–274
7. Kakimoto Y. (1970): Isolation and identification of N-6dymetil arginin and N-6 mono, di and trimethlysine from human urine J. Biol. Chem. 245, 5751–5758
8. Kameyama Y. (1972): Rate of H-3 prolin incorporation into the rate periodonat membrane during pregnancy J. Per. Res 7, 226–229
9. Kameyama Y. (1975): An autoradiographic investigation of the developing rats periodontal membrane. J. Period Res 10, 98–102
10. Krane S., Burne M., Pinnel S., Frederick F. (1978): Urinary excretion of hydroxylisine and its glycosidase as a index of collagen degradation. J. Clin. Invest. 59, 819–827
11. Kulinova T. B., Nikitina T. B. (1975): Obmena oksiprolina pri parodontose Stomatologija 5, 2–6
12. Nikulenkova T. S. (1975): Osobenosti obmena kolagena u bolnih s patologei parodonta, Stomatologija 6, 18–20
13. Paunio K (1969): Periodontal connectiv tissue. Biochemical study of disease inman. Suom Haamaslaak „Toim" 65, 249–290
14. Prockop J. (1962): Studies of the intercellular localisation of collagen synthesis in the intacts chik embryo. J. Biol. Chem 5 (237), 1581–1583
15. Simmson S., Avery J. K., Slamberg G. (1979): Periodontal collagen formation in jiglling beagle dog teeth. J. Dent. Res., vol. 58, Special Issue, A. p. 174
16. Stern B. D. (1967): Collagen solubility of normal and inflamed human gingiva, Periodontics, 5, 167–173.