

## ХИДРОЛИТИЧНАТА ЕНЗИМСКА АКТИВНОСТ И ЕТИОПАТОГЕНЕЗАТА НА ПРОГРЕСИВНАТА ПАРОДОНТОПАТИЈА

Николовска-Белазелкоска Златанка

Активноста на колагеназата, киселата фосфатаза, алкалната фосфатаза и ДНАзата е одредувана во гингивално ткиво, мешана плунка и крвен серум кај пациенти со прогресивна пародонтопатија и кај здрави лица. Активноста на ензимите е проследена во зависност од клиничкиот стадиум и присуството на денталниот плак, односно од индексот на денталниот плак.

Гингивалните и саливарните вредности на испитуваните ензими статистички се значајно ( $p < 0.001$ ) повисоки во споредба со вредностите од контролната група. Хиперензинемијата покажа зависност од присуството на денталниот плак и е сигнификантно повисока ( $p < 0.001$ ) кај лицата што имаат дентален плак, наспроти лицата кои немаат дентален плак.

Ензимската активност се зголемува паралелно со развојот на воспалително-деструктивните процеси во ткивата на пародонциумот и со зголемувањето на плаковиот индекс, највисока е при III кл стадиум, односно при ИДП 3.

Во крвниот серум не се регистрирани статистички значајни разлики помеѓу испитуваните групи.

Клучни зборови: пародонтални заболувања; забен плак; ензими; колаген; ДНА; кисела фосфатаза; алкална фосфатаза.

Прогресивната пародонтопатија е заболување на современото живеење, покажува перманентен подем не штедејќи ниту една раса, цивилизација, пол или возраст. Поради сложеноста на патолошките збиднувања и економско-социјалната важност буди посебен интерес за изучување. И покрај сознанието дека денталниот плак е водечкиот етиолошки фактор во настанувањето на прогресивната пародонтопатија, не е точно познат агенсот кој го започнува процесот на инфламацијата. Се претпоставува дека микроорганизмите имат видна партиципација поради комплексноста на нивното дејство и иницијацијата на мошне сложените биохемиски механизми.

Во текот на минатите две декади има рапиден прогрес во базичните испитувања кои носат нови информации, тие укажуваат и на фактот дека независно од факторот и начинот на неговото дејство, при прогресивната пародонтопатија секогаш доаѓа до нарушување на биохемиските механизми во пародонциумот, односно до нарушување на ензимската активност.

Повеќето од новите информации се добиени во ткивни култури. Само во ретки случаи биолошки активни супстанции или фактори се изолирани, идентифицирани и окарактеризирани биохемиски во *in vivo* услови. Освен тоа, активноста на тие различни супстанции, при акутните инфламаторни лезии, како и нивната партиципација во тие лезии не се добро проучени.



Структурниот интегритет на пародонталните ткива зависи од здравјето на фибрилариот колаген. Прогресивната пародонтопатија е придружена со деструкција на колагеновото ткиво.

За време на иницијалниот стадиум на пародонталната болест, резистентните фибробласти се алтерирани, што доведува до измени во сврзно-ткивните супстанции, односно до намалување на колагената содржина, доаѓа до континуирана загуба на ткивниот интегритет, како и до прогресија на заболувањето.

Се смета дека хидролитичните ензими, елаборирани од плаковните микроорганизми, се одговорни за зголемената деструкција на колагенот.

Загубата на сврзно-ткивните супстанции може да биде консеквенца и од депресијата на колагената продукција, како и од продукцијата на антипичен колаген.

Преку одредувањето на група хидролитични ензими (колагеназа, кисела фосфатаза, алкална фосфатаза и ДНаза) кај пациентите со прогресивна пародонтопатија, во гингивално ткиво, мешана плунка и крвен серум, во зависност од клиничкиот стадиум и индексот на денталниот плак, како и кај лицата кои ја сочинуваа контролната група, сметаме дека ќе дадеме мал придонес во големото стремење кон осветлувањето на проблемот на етиопатогенезата на прогресивната пародонтопатија, како и кон нејзиното лекување.

#### Материјал и метод

Пациентите кај кои е одредувана активноста на колагеназата, киселата фосфатаза, алкалната фосфатаза и ДНазата, добиени се со случаен избор на Клиниката за болести на устата, при што е водено сметка да не постои некое интеркурентно заболување.

Материјалот за испитување е земен наутро, на гладно со одвечер исчеткани заби. Плунката е собирана со просто извлекување, без стимулација, крвта е земена со венепункција од кубиталната вена, гингивалните исечоци се добиени по пат на биопсија и се ставени во Крепс-Рингеров раствор. Материјалот е замрзнуван и е изработуван на Институтот за биохемија.

Активноста на колагеназата е одредувана по методот на S. Moore, W. Stein (1948), киселата фосфатаза по Andersch-Fishman (1953), алкалната фосфатаза по Mc Comb, Bowers (1972) и ДНазата по D. Gillespie, S. Spiegelman (1965).

За секој параметар од контролната група и пациентите со прогресивна пародонтопатија, пресметувани се средните големини од добиените резултати, стандардните девијации, стандардните грешки, како и сигнификатноста на разликите.

#### Резултати и дискусија

Во табелите кои ќе следат се презентирани вредностите за активноста на испитуваните ензими, изразени во ИЕ/л за мешана плунка и крвен серум и ИЕ/г за гингивално ткиво.

Резултатите од нашите испитувања укажуваат на значително зголемена активност на испитуваните ензими во гингивалното ткиво и мешаната плунка кај пациентите со прогресивна пародонтопатија, наспроти лицата кои ја сочинуваа контролната група, додека во крвниот серум не се забележуваат побитни промени.

Ензимската активност расте паралелно со развојот на воспалително-деструктивните процеси во ткивата на пародонциумот, највисока е во III кл. стадиум.

Со цел да го појасниме потеклото на саливарната и ткивната хиперензимемија, ние ја проследивме активноста и во зависност од присуството на денталниот плак, при што најдовме значително повисока активност кај лицата кои имаа дентален плак, наспроти оние што го немаа.

Ензимската активност во зависност од индексот на денталниот плак покажа прогресивен пораст напоредо со зголемувањето на плаковиот индекс; највисока е при индекс 3 на дентален плак.



ТАБЕЛА 1

ЕНЗИМ (МЕ/ГР/Л)		ГИНГИВАЛНО ТКИВО		МЕШАНА	ПЛУНКА	КРВЕН	СЕРУМ
		КОНТРОЛА	ПРОГРЕС. ПАРОДОНТ.	КОНТРОЛА	ПРОГРЕС. ПАРОДОНТ.	КОНТРОЛА	ПРОГРЕС. ПАРОДОНТ.
КОЛАГЕНАЗА	СВ	2.37	7.60	0.24	0.83	3.69	3.79
	ū		0.001		0.001		0.50
КИСЕЛА ФОСФАТАЗА	СВ	0.36	1.22	2.22	20.61	4.77	4.94
	ū		0.001		0.001		0.80
ДНАЗА	СВ	0.13	0.34	1.37	2.99	50.95	52.84
	ū		0.001		0.001		0.90
АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА	СВ	5.47	12.65	18.55	52.15	93.86	81.83
	ū		0.001		0.001		0.20

ТАБЕЛА 2

ЕНЗИМ (МЕ/ГР/Л)		ГИНГИВАЛНО ТКИВО				МЕШАНА ПЛУНКА				КРВЕН СЕРУМ			
		К	ПРОГРЕС.ПАРОДОНТ.			К	ПРОГРЕС.ПАРОДОНТ.			К	ПРОГРЕС.ПАРОДОНТ.		
			I	II	III		I	II	III		I	II	III
КОЛАГЕНАЗА	СВ	2.37	4.25	6.21	12.34	0.24	0.57	0.79	1.19	3.69	3.90	3.38	4.09
	ū		0.001	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.70	0.25	0.40
КИСЕЛА ФОСФАТАЗА	СВ	0.36	0.92	1.43	1.47	2.22	6.31	15.81	39.72	4.77	4.59	4.71	5.51
	ū		0.001	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.80	0.90	0.40
ДНАЗА	СВ	0.13	0.29	0.35	0.37	1.37	2.43	2.73	3.82	50.95	53.16	53.73	51.63
	ū		0.001	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.60	0.60	0.80
АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА	СВ	5.47	8.63	14.64	14.68	18.55	24.53	54.99	76.93	93.86	75.63	81.69	88.16
	ū		0.005	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.20	0.40	0.70

ТАБЕЛА 3

ЕНЗИМ (МЕ/ГР/Л)		ГИНГИВАЛНО ТКИВО		МЕШАНА	ПЛУНКА	КРВЕН	СЕРУМ
		БЕЗ ДЕНТ. ПЛАК	СО ДЕНТ. ПЛАК	БЕЗ ДЕНТ. ПЛАК	СО ДЕНТ. ПЛАК	БЕЗ ДЕНТ. ПЛАК	СО ДЕНТ. ПЛАК
КОЛАГЕНАЗА	СВ	2.40	7.83	0.24	0.85	4.41	3.51
	ū		0.001		0.001		0.10
КИСЕЛА ФОСФАТАЗА	СВ	0.30	1.60	3.09	19.81	5.04	5.13
	ū		0.001		0.001		0.90
ДНАЗА	СВ	0.12	0.33	1.30	3.29	50.80	49.85
	ū		0.001		0.001		0.90
АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА	СВ	5.61	13.39	16.12	51.12	80.85	78.56
	ū		0.001		0.001		0.90



ТАБЕЛА 4

ЕНЗИМ (ИЕ/ГР/Л)		ДЕНТАЛЕН ПЛАК											
		ГИНГИВАЛНО ТКИВО				МЕШАНА ПЛУНКА				КРВЕН СЕРУМ			
		И0	И1	И2	И3	И0	И1	И2	И3	И0	И1	И2	И3
КОЛАГЕНАЗА	СВ	2.40	444	654	1253	0.24	058	078	119	441	369	304	380
	ū		0.001	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.10	0.05	0.30
КИСЕЛА ФОСФАТАЗА	СВ	0.30	081	150	250	3.09	1078	1549	3816	5.04	4.99	4.79	5.66
	ū		0.025	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.90	0.40	0.90
ДН азз	СВ	0.12	0.22	0.35	0.44	1.30	2.80	3.03	4.04	5.080	5.081	5.015	5.300
	ū		0.005	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.40	0.60	0.70
АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА	СВ	5.61	8.24	14.64	17.30	16.12	26.15	47.64	79.80	80.85	87.56	74.00	96.30
	ū		0.01	0.001	0.001		0.001	0.001	0.001		0.70	0.70	0.40

Нашите наоди говорат дека индексот на денталниот плак, клиничкиот стадиум на заболувањето и ензимската активност меѓусебно се условуваат.

Согласно со констатациите на досегашните известувања и резултатите од нашите испитувања, сметаме дека зголемената ензимска активност во мешаната плунка и гингивалното ткиво во почетниот стадиум резултира од микробиолошката активност на денталниот плак (3, 5, 8, 12).

Во понатамошниот развој на болеста, микроорганизмите го изразуваат своето патолошко дејство преку нивните токсини, особено ендотоксинот (1, 2, 4, 7, 10, 13), кој се вбројува во главните лабилізатори на мембраните, особено лизозомалната, при што доаѓа до ослободување на лизозомални ензими.

Изворот на зголемената ензимска активност го гледаме во: неутрофилните гранулоцити, плазма-клетките, мастоцитите, епителијалните клетки, Т и Б-лимфоцитите (6, 9, 11).

Научните известувања и аспекти за хроничната пародонтална болест денес се богати со можни механизми и патишта во патогенезата и даваат одредена концепција за загубата и алтерацијата на ткивата, а со тоа и реална можност за понатамошни согледувања и изнаоѓања на нови решенија со кои тие патишта ќе можат да бидат модифицирани.

Ако го следиме патот на патогенезата на прогресивната пародонтопатија преку ензимското движење, процесот го започнува НА како сприндинг фактор I. Бактеријалната колагеназа, а подоцна и ткивната како сприндинг фактор II го изразува колагенолитичното дејство врз молекулата на колагенот на местото на трикратниот хеликс. КФ дејствува врз незаштитените интермолекуларни врски и го деградира на пептиди и слободни аминокиселини, при што колагените влакна ја губат својата функција, па со право можеме да ги наречеме сприндинг фактор III. Своето патолошко дејство ДНазата го изразува на тој начин што по преминувањето од лизозомите во цитоплазмата, се пробива во јадрото како место на дејствување и доведува до крш во хромозомите кој тешко се репарира и може да доведе до мутации и трансформации, односно ДНазата дејствува врз ДНК, на тој начин ја оневозможува синтезата на РНК, а со тоа и биосинтезата на протеините. Нарушената синтеза на протеините е основа за дезинтеграција на ткивата, со што силно се депримираат репараторно-регенераторните способности на заболениот пародонтален комплекс. Зголемената алкално-фосфатазна активност го фаворизира создавањето на забниот камен и субгингивалните конкременти кои се однесуваат како пропагатори на воспалително-деструктивните процеси во длабочина и ја влошуваат и онака лошата состојба на заболениот збонопотпорен комплекс.



Испитуваните ензими, преку своето дејствување доведуваат до фрагментирање, кинење и дезорганизирање на колагените влакна, при што се губи потпората на епителот, потоа следи резградување на колагените влакна во периодонциумот, како и разградбата на коскениот ткиво. Сево ова доведува до формирање на пародонтални џебови, како и до редукција на забната потпора, до нивна елиминација.

### Заклучок

1. Зголемени се саливарните и гингивалните вредности за активноста на испитуваните ензими (колагеназа, кисела фосфатаза, алкална фосфатаза и ДНаза) кај пациентите со прогресивна пародонтопатија и постои значајна разлика наспроти контролната група. Ензимската активност е во зависност од воспалително-деструктивните процеси во ткивата на пародонциумот, односно највисока е во III кл. стадиум.

2. Ензимската активност кај пациентите со дентален плак, во гингивалното ткиво и мешаната плунка е забележително повисока во споредба со активноста кај лицата кои немаа дентален плак. Хиперензимемијата покажа зависност од индексот на денталниот плак, таа е највисока при ИДП 3.

3. Наодите од нашите испитувања ни дозволуваат да заклучиме дека клиничкиот стадиум, индексот на денталниот плак и активноста на испитуваните ензими меѓусебно се условуваат.

4. Своето патолошко дејствување, надвор од за нив предодредените средини, го изразуваат преку колагенолитичното дејствување врз молекулата на колагенот, преку разградбата на нуклеинските киселини условуваат намалена протеинска синтеза и редукција на репараторните способности на пародонциумот, како и фаворизирање на создавањето на забниот камен и субгингивалните конкременти.

5. Вредностите за активноста на испитуваните ензими во крвниот серум не покажаа никаква зависност и законитост во смисла на зголемување или намалување, наспроти контролната група и условеност од клиничкиот стадиум.

6. Расчекорот помеѓу активноста на ензимите во саливата и гингивалното ткиво, од една страна и серумот, од друга, е релевантна потврда за локалната причина на нивната биохемиска активност.

### HYDROLITIC ENZYME ACTIVITY RELATED TO PROGRESSIVE PERIODONTAL DISEASES PATHOGENESIS

Nikolovska-Belazelkoska Zlatanka

### Summary

Collagenase, acid and alkaline phosphatase and DNase activity was assessed in gingival tissue, mixed saliva and blood serum from patients suffering from progressive periodontal disease and healthy persons. Enzyme activity was followed according to clinical stage of disease and dental plaque index.

Gingival and salivary enzyme values were found to be with statistically significant difference ( $p=0,001$ ), compared to those from the controls. Hyperenzymemia suggest to relation to dental plaque and is significantly higher ( $p=0,001$ ) in persons with dental plaque compared to persons without.

Enzyme activity is enhanced paralelly to inflammatory destructive periodontal tissue processes and plaque index degree, being highest in stage 3.

Blood serum analysis did not show any significant difference between the groups.

**Key words:** periodontal disease; dental plaque; enzymes; collagen; DNA; acid phosphatase; alkaline phosphatase;

## Литература

1. Aleo J, De Renize F, Forber A. In vitro Attachment of human gingival fibroblast to root surfaces. J Periodontol 1974; 46:639-643.
2. Aleo J, De Reneze F, Forber A. The presence and biologic activity of cementbound endotoxin. J Periodontol 1975; 46:672-681.
3. Combe r, Tatevasion A, Wimpenny T. An in vitro model for dental plaque. Dent Res 1982; 47:347-349.
4. David J. Collagen and Periodontal Disease. J Am Dent Assoc 1974; 4:88-91.
5. Dabous M, Jurand J, Hammauda O, Collagenolytic Enzymes Periodontal Disease, Dent Res 1981; 60:345-349.
6. Debski B. Neutrophil Lysosomal Secretion and chemotaxis Dysfunction in Juvenile Periodontitis. J Dent Res 1981; 60:304-309.
7. Frank A, De Renize A. Endotoxin inactivating Potency of Molecular Oxygen Effect on cell Growth. J Dent Res. 1980; 59:1934-1936.
8. Gimasoni G. Mechanisms of Soft Tissue Destruction in Periodontal Disease, J Clin Periodontol 1980; 7:332-333.
9. John W, Simpson B, Mackler R. Identification of Collagenase in Cultured blood Mononuclear Cells. J Dent Res 1984; 59:2-10.
10. Kantturi V, Narhi M. Effects of Endotoxin Irritation or Rubber Band traction on Aminopeptidase Activities in Periodontal Tissue Fluid. J Dent Res 1981; 60:341-347.
11. Nicoll G, Ramamurthy M. The Effect of Diabetes on Collagenase and Neutral Protease Activity in Rat Leucocytes. J Dent Res 1981; 60:344-349.
12. Ursu I, Zelić O. Biohemiska ispitivanja obolelog parodontijuma. Stomatol Gl Srb 1986; 1:13-20.
13. William A, Timothy O. The Effectiveness of in Vivo Root Planing in Removing Bacterial Endotoxin from the Roots of Periodontology Involved Teeth. J Periodontol 1978; 49:337-342.