

УДК 612.015.31+577.156+616.314/716.1

Р. Д. Барабаш, В. Ф. Постольский, С. В. Вовчук

## ВЛИЯНИЕ КАЛЛИКРЕИНА СЛЮНЫ НА МИНЕРАЛЬНЫЙ ОБМЕН В ТКАНЯХ ЗУБО-ЧЕЛЮСТНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС

Среди многообразных физиологических и биохимических эффектов калликреина в основном изучаются механизмы его влияния на ткани сердечно-сосудистой системы [7, 9, 17]. В частности, детально изучено влияние очищенных калликреинов слюны на микроциркуляцию крови в тканях ротовой полости [1, 2]. Результаты этих работ, а также данные о прямом стимулирующем влиянии кининов на рост фибробластов [11] позволяют предполагать важную роль калликреина слюны и в регуляции процессов обмена в тканях ротовой полости.

Мы изучали физиологическую роль калликреина слюны в регуляции процессов обезвреживания твердых тканей зубо-челюстной системы.

### Методика исследований

Опыты проведены на 122 крысях линии Вистар. Из них 108 крыс в возрасте 2,5 мес использованы в краткосрочных экспериментах по изучению минерального обмена в тканях зубо-челюстной системы с помощью четырех меченых соединений, включающих в кристаллы оксиапатита [8]. По виду вводимого изотопа животные были разделены на три серии по 36 животных в каждой: I — одновременное введение 833 Бк/г двузамещенного фосфата натрия ( $\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$ ) и хлористого кальция ( $^{45}\text{CaCl}_2$ ) на 1 ч; II — введение 833 Бк/г углекислого натрия ( $\text{Na}_2^{14}\text{CO}_3$ ) на 20 мин; III — введение 833 Бк/г лимонной кислоты, меченной по  $^{14}\text{C}$  на 1 ч. Кроме того, была проведена IV серия на 14 крысях, которым на протяжении 45 сут ежедневно, начиная с возраста 1,5 мес, производили окрошение десен обеих челюстей 0,150 Е калликреина в объеме 0,5 мл. В свою очередь, по характеру экспериментального воздействия каждая из первых трех серий была подразделена на три группы по 12 животных в каждой: A — пятикратное внутримышечное введение; B — пятикратное субмукозное введение; C — пятикратные аппликации на десны обеих челюстей с 12 ч интервалом 0,750 Е калликреина в объеме 0,5 мл. В каждой из этих групп половина животных служила контролем — им так же вместо калликреина применяли изотонический раствор хлористого натрия. Субмукозно калликреин вводили в переходную складку десны в области моляров верхней и нижней челюсти. Для аппликации из стальной проволоки были сконструированы аппликаторы, соответствующие по форме и размерам альвеолярным отросткам челюстей в области моляров у крыс.

Через 10 мин после последнего экспериментального воздействия вводили изотопы. По истечении срока, оптимального для конкретного изотопа, животных забивали кровопусканием под наркозом. Определяли процент поступления изотопов в сыворотку, жевательную мышцу, десну, пульпу зуба, моляры, кости альвеолярного отростка, эпифиз бедра, почечную ткань. Подсчет препаратов производили на радиометре Б-4 со счетчиком СБТ-13 и сменяемой пластинкой из алюминиевой фольги. При одновременном введении радиоактивного фосфора и кальция, их индивидуальную активность определяли на основании различия в энергии их  $\beta$ -частиц [4]. Для каждого изотопа по показателям радиоактивности препаратов вычисляли процент включения, представляющий собой одну из форм относительной специфической активности [4]. При этом за 100 % принимали гипотетическую величину включения изотопа в стандартную навеску ткани при равномерном распределении в организме всей введенной дозы. Через 45 сут после хронического опыта крыс забивали и на скелетированных челюстях определяли атрофию кости альвеолярного отростка по проценту обнажения корней моляров [6].

Выделение и очистка калликреина последовательно включали: центрифugирование слюны, гель-фильтрацию на сефадексе G-100, ионообменную хроматографию на ДЭАЭ-целлюлозе, рехроматографию на КМ-целлюлозе и заключительную гель-фильтрацию на сефадексе G-100. Активность препарата определяли по гидролизу *N*-а-бензоил-*l*-аргинин-паранитроанилида в 0,1 М глициновом буфере pH 9,3 [3].

### Результаты исследований и их обсуждение

В результате проведенных экспериментов обнаружено, что калликреин при всех видах воздействия, как общих, так и местных, вызывает усиление поступления кальция из крови в ткани (см. таблицу). Об этом

свидетельствует увеличение в тканях кальция. Изучение увеличения сыворотки кальция в тканях, вергается, вательно, реализация связана, в решетке как известно, отмечается циевая соль, как тормозящее, существенно кристалла.

### Влияние

Радиоактивные ионы

Кальций Опыт

Фосфат Опыт

Карбонат Опыт

Цитрат Опыт

Кальций Опыт

Фосфат Опыт

Карбонат Опыт

Цитрат Опыт

Примечание: верно ( $p > 0,05$ )

Следует отметить, что полученные данные указывают также на свойственный калликреину выраженный общерезорбтивный эффект не только при парентеральном (см. таблицу), но и при местном применении, причем результаты введения калликреина субмукозно и путем аппликаций на десну были принципиально однозначными. Действительно, во всех сериях опытов (см. таблицу) калликреин одинаково влиял на минеральный обмен как в тканях зубо-челюстной системы, так и в трубчатых костях скелета. Во-вторых, обращает на себя внимание мощное гипокальциемическое и гипофосфатемическое действие калликреина, подобное таковому кальцитонина [17], что позволяет также по фармакологическому эффекту отнести калликреин к группе остеотропных гормонов. В-третьих, этот эффект проявляется также в увеличении включения меченого фосфата и резком торможении включения цитрата и карбона-



Влияние длительного местного применения калликреина на степень атрофии альвеолярного отростка у крыс.  
Заштрихованные столбики — опыты с применением калликреина, белые столбики — контрольные опыты. I — процент обнажения корней моляров нижней челюсти; II — верхней челюсти.

га в попечную ткань. Поскольку включение этих изотопов в почку было прямо противоположным направленности изменения их включения в костную ткань, можно предполагать, что генерализованный эффект калликреина на минеральный обмен костной ткани опосредуется его прямым воздействием на выведение указанных анионов почками. Подтверждением такой точки зрения могут служить литературные данные об антидиуретическом эффекте калликреина [16].

Для исследования медико-биологического значения сдвигов в минеральном обмене кости, возникающих под влиянием калликреина, были проведены опыты по изучению длительного его применения на течение возрастной атрофии кости альвеолярного отростка у крыс. Это явление в настоящее время широко используется в качестве модели пародонтоза [10, 12].

Установлено, что при ежедневном орошении ткани десны калликреин оказывает выраженный лечебный эффект, состоящий в достоверном уменьшении процента обнажения корней моляров (см. рисунок). С другой стороны, ранее нами было показано [2], что увеличение в тех же условиях опыта числа ежедневных орошений и суммарной суточной дозы калликреина в 20 раз, наоборот, усугубляет течение возрастной атрофии кости альвеолярного отростка у крыс. Вместе с этим данные подтверждают высказанную нами гипотезу [2] о детерминировании защитного или повреждающего действия калликреина слюны на ткани пародонта дозой фермента.

Литературные, а также собственные данные позволяют также высказать вполне определенное предположение о клеточном механизме прямого влияния калликреина на минеральный обмен в костной ткани. Известно, что состояние белковой матрицы и минерального компонента кости в процессе ее аппозиции или резорбции осуществляется остеобластами и остеокластами [8]. В то же время доказано, что калликреин и кинины способны прямо или опосредованно влиять на функциональную активность этих клеток. Так, в культуре ткани кинины интенсивно стимулируют рост фибробластов — клеток соединительной ткани, идентичных остеобластам, причем промежуточным медиатором этого эффекта являются простагландины, образующиеся в ткани под влиянием кининов [11, 15]. В то же время простагландины  $E_1$  и  $E_2$  являются наиболее сильными среди известных стимуляторов деятельности

остеокластов [18], чебного или по более низким остеокластами, под воздействием

Таким образом, была обнаружена минеральный с нейшего изучен

R. D.  
INFLUENCE  
OF KALLIKREIN  
ON MINERAL  
METABOLISM

In experiments treatment with purified calcium in a form usually the radiolabel significantly decreases kallikrein solutions the mechanisms of kallikrein

Laboratory of Pathology Institute of Stomatology

1. Барабаш Р. Д., Абрамова Е. А. Микрососуды защищают кости и медицинские технологии. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
2. Барабаш Р. Д., Вовчук С. В., Постольский В. Ф. Оценка патогенеза пародонтоза у крыс. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
3. Вовчук С. В., Постольский В. Ф., Барабаш Р. Д. Оценка патогенеза пародонтоза у крыс. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
4. Иванов И. И., Борисов А. А. Кинины в медицине и биологии. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
5. Монцевичите-Энгельберт Г. А. Кининовая система. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
6. Николаева А. А. Кинин и кинин-рецепторы пародонта при различных заболеваниях. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
7. Пасхина Т. С. Кинин-рецепторы и кининовая система. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
8. Торбенко В. П. Кининовая система. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
9. Чернух А. М. Кининовая система. — Кандидатская диссертация. Одесса, 1988.
10. Belting C. M., Hwang S. J. Kinins and their receptors in tissues of the rat. — *Am. J. Physiol.*, 1978, 235, 144.
11. Boucek R. J., Lohr J. W. Fibroblast growth factor and its receptors. — *Am. J. Physiol.*, 1973, 224, 144.
12. Demetriou M., Lohr J. W. Fibroblast growth factor and periodontium. — *Am. J. Physiol.*, 1973, 224, 144.
13. Dietrich J. W., Lohr J. W. Fibroblast growth factor and prostaglandins. — *Am. J. Physiol.*, 1973, 224, 144.
14. Gomes B. C., Lohr J. W. Fibroblast growth factor and prostaglandins. — *Am. J. Physiol.*, 1973, 224, 144.
15. Hong Su-Chen, Chang Y. C. Kinins and prostaglandins. — *Am. J. Physiol.*, 1976, 231, N 18, 144.
16. Rocha e Silva M., Lohr J. W. Fibroblast growth factor and prostaglandins. — *Am. J. Physiol.*, 1976, 231, N 18, 144.
17. Schachter M. K. Fibroblast growth factor and prostaglandins. — *Am. J. Physiol.*, 1976, 231, N 18, 144.
18. Лаборатория патологии пародонта Одесского института стоматологии.

зывают также на тивный эффект не в местном приме- бмукозно и путем зчными. Действие калликреин одинаково властной системы, шает на себя вни- мическое действие кальцитонина [17], кологическому эф- фуле остеотропных проявляется так- ченого фосфата и цитрата и карбона-

ния калликреина на  
ростка у крыс.  
иением калликреина, белые  
обнажения корней моля-  
ней челюсти.

олов в почку было  
их включения в  
зованный эффект  
и опосредуется его  
нов почками. Под-  
тературные данные

ния сдвигов в ми-  
м калликреина, бы-  
применения на тече-  
ка у крыс. Это яв-  
ществе модели па-

кани десны калли-  
тоящий в достовер-  
ров (см. рисунок).  
то увеличение в тех  
суммарной суточной  
течение возрастной  
все с этим данные  
терминировании за-  
на слюны на ткани

зволяют также вы-  
сточном механизме  
ен в костной ткани.  
рального компонен-  
существляется осте-  
зано, что калликре-  
злиять на функцио-  
кани кинины интен-  
единительной ткани,  
медиатором этого  
в ткани под влия-  
ции  $E_1$  и  $E_2$  явля-  
еторов деятельности

остеокластов [13, 14]. Учитывая эти данные, зависимость от дозы лечебного или повреждающего эффекта калликреина можно объяснить более низким порогом чувствительности остеобластов, по сравнению с остеокластами, к кининам и простагландинам, образующимся в тканях под воздействием калликреина.

Таким образом, в результате проведенных исследований впервые была обнаружена выраженная способность калликреина регулировать минеральный обмен костной ткани, что диктует необходимость дальнейшего изучения механизмов этого эффекта.

R. D. Barabash, V. F. Postolsky, S. V. Vovchuk

### INFLUENCE OF SALIVARY KALLIKREIN ON THE MINERAL METABOLISM IN DENTO-MANDIBULAR TISSUES OF RATS

#### Summary

In experiments with radiolabelled compounds on 122 rats the local and general treatment with purified salivary kallikrein was found to stimulate the incorporation of calcium in a form of carbonates and citrates into dento-mandibular tissues. Simultaneously the radiolabelled phosphate anion incorporation into teeth and alveolar bone significantly decreases. After a long-term every-day rinsing of the oral cavity with kallikrein solutions the rate of age periodontal atrophy considerably decreases. The mechanisms of kallikrein influence upon the mineral metabolism are discussed.

Laboratory of Pathophysiology,  
Institute of Stomatology, Odessa

#### Список литературы

- Барабаш Р. Д., Александров П. Н., Вовчук С. В. Влияние калликреинов слюны на микрососуды защечного мешка хомяков и брыжейки крыс.—Бюл. эксперим. биологии и медицины, 1976, 82, № 7, с. 782—785.
- Барабаш Р. Д., Левицкий А. П., Логинова Н. К. и др. Роль калликреина слюны в патогенезе пародонтоза.—Вопр. мед. химии, 1976, 22, № 3, с. 318—325.
- Вовчук С. В. Гипотензивные ферменты слюнных желез: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Одесса, 1975. 22 с.
- Иванов И. И., Модестов В. К., Штуккенберг Ю. М. и др. Радиоактивные изотопы в медицине и биологии. М.: Медицина, 1955. 232 с.
- Монцевичюте-Эрингене Е. В. Упрощенные математико-статистические методы в медицинской исследовательской работе.—Патол. физиология, 1964, № 4, с. 71—78.
- Николаева А. В. Влияние некоторых нейротропных средств на состояние тканей пародонта при раздражении верхнего шейного симпатического узла: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Харьков, 1967. 25 с.
- Пасхина Т. С. Биохимические основы патологии сердечно-сосудистой системы (механизм образования, обмен и роль при сосудистых патологиях кининов плазмы крови).—В кн.: Молекулярные основы патологии. М., 1966, гл. IV, с. 123—178.
- Торбенко В. П., Касавина Б. С. Функциональная биохимия костной ткани. М.: Медицина, 1977. 272 с.
- Чернух А. М., Гомазков О. А. О регуляторной и патогенетической роли калликреин-кининовой системы в организме.—Патол. физиология, 1976, № 1, с. 5—16.
- Beltig C. M., Sghour J., Weinmann J. P. et al. Age changes in the periodontal tissues of the rat molar.—J. Dent. Res., 1953, 32, N 3, p. 332—353.
- Boucek R. J., Noble N. L. Histamine, norepinephrine and bradykinin stimulation of fibroblast growth and modification of serotonin response.—Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 1973, 144, N 3, p. 929—933.
- Demetriou M., Bazopoulou-Kirkamidou E., Sotiriou B. Changes in the interradicular periodontium of rats correlated with age.—J. Dent. Res., 1972, 51, N 8, p. 1404—1406.
- Dietrich J. W., Goodson J. M., Raisz L. G. Stimulation of bone resorption by various prostaglandins in organ culture.—Prostaglandins, 1975, 10, N 2, p. 231—240.
- Gomes B. C., Housmann E., Weinfield H. et al. Prostaglandins: bone resorption stimulating factors released from monkey gingiva.—Calcified Tissue Res., 1976, 19, N 4, p. 285—293.
- Hong Su-Chen L., Levine L. Stimulation of prostaglandin synthesis by bradykinin and thrombin and their mechanism of action on MC-5 fibroblasts.—J. Biol. Chem., 1976, 251, N 18, p. 5814—5816.
- Rocha e Silva M. Kinin hormones. Springfield: Charles C. Thomas, 1970. 317 p.
- Schachter M. Kallikreins and kinins.—Physiol. Rev., 1969, 49, N 3, p. 509—547.

Лаборатория патофизиологии  
Одесского института стоматологии

Поступила в редакцию  
21.I 1980 г.