

УДК 616.314.17+611.018.2:599.323.4

Єлінська А.М., Костенко В.О.

МЕХАНІЗМИ ДЕОРГАНІЗАЦІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ ПАРОДОНТА ЩУРІВ ЗА УМОВ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ

ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

Метою роботи було з'ясування механізмів дезорганізації сполучної тканини пародонта щурів за умов експериментального системного запалення (СЗ). Дослідження проведено на 20 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, розподілених на 2 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – після відтворення СЗ шляхом внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду *Salmonella typhi* («Пірогенал») у дозі, яка сприяла у щурів підвищенню температури на 1,5 °С, за схемою: протягом першого тижня вводили по 4 мінімальні пірогенні дози (МПД), що складає 0,4 мкг, на 1 кг маси щура 3 рази на тиждень. Протягом наступних семи тижнів експерименту щурам вводили по 4 МПД/кг маси 1 раз на тиждень. Тварин декапітували під ефірним наркозом. Об'єктами дослідження були м'які тканини пародонта (ясна, періодонтальна зв'язка) та кісткова тканина альвеолярних відростків щелеп. Виявлено, що моделювання СЗ призводило до змін біохімічних компонентів сполучної тканини: колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів як у м'яких тканинах пародонта (підвищувався вміст їхніх мономерів – вільного оксипроліну на 66.2%, $p < 0.01$, глікозаміногліканів – на 66.8%, $p < 0.05$, N-ацетилнейрамінової кислоти – на 62.9%, $p < 0.001$), так і у кістковій тканині альвеолярного відростку (концентрація вільного оксипроліну збільшувалася – на 69.9%, $p < 0.001$, глікозаміногліканів – на 72.4%, $p < 0.02$, N-ацетилнейрамінової кислоти – у 2.2 рази, $p < 0.01$). Розрахунок коефіцієнту оголення коренів молярів свідчить про підвищення резорбції альвеолярного відростка за умов СЗ.

Ключові слова: системне запалення, сполучна тканина, колагеноліз, протеоглікани, сіалоглікопротеїни, пародонт.

Розвиток запальних захворювань пародонта пов'язаний з дією місцевих і загальних факторів. До місцевих належать біологічні (мікроорганізми та продукти обміну), механічні, фізичні та хімічні чинники ушкодження. Нерідко в літературних джерелах переоцінюється роль місцевих чинників у розвитку патології цього органу [9]. Проте такі впливи відбуваються за умов порушення трофіки і резистентності тканин, які виникають при наявності загальних порушень у організмі: нейрогенних, кардіоваскулярних, ендокринних, метаболічних (ожиріння, метаболічний синдром). Так, до порушень структури та функції пародонта призводить низка соматичних захворювань, розвиток яких включає системне запалення (СЗ) як ланку патогенезу [10, 11].

Таким чином, розвиток тяжких запальних захворювань пародонта пов'язаний не тільки з безпосереднім пошкодженням його тканин патогенним агентом, але і в результаті дизрегуляторного впливу з боку інших змінених інтегративних систем, зокрема, асоційованих з розвитком СЗ. Припускається, що головною ланкою патогенезу цього процесу є перманентна активація певних факторів транскрипції (зокрема, ядерного фактора κB – NF- κB [8]. Наслідком цього є експресія генів запальних цитокінів, індукцибельної NO-синтази (NOS), металопротеїназ, молекул клітинної адгезії, циклооксигенази-2 та ін., здатних індукувати окисно-нітрозативний стрес [13]. Останній здатний викликати дезорганізацію сполучної тканини, зокрема, кісток щелепи [1].

Раніше нами повідомлялося, що відтворення СЗ супроводжується збільшенням продукції супероксидного аніон-радикала у тканинах пародонта мітохондріальним і NADPH-залежними електронно-транспортними ланцюгами мікросом і NO-синтази, а також NADPH-оксидазою лейко-

цитів [15]. При цьому було виявлено порушення механізму авторегуляції фізіологічної концентрації NO у тканинах пародонта, що призводить до одночасного збільшення утворення NO через NO-синтазний та нітрат- / нітрит-редуктазний механізм, наслідком чого є розвиток окисно-нітрозативного стресу зі збільшенням концентрації пероксинітриду. Відтворення СЗ супроводжується розвитком декомпенсованого ПОЛ у м'яких тканинах пародонта, зниженням у них антиоксидантного потенціалу, активності супероксиддисмутази та каталази [14].

Проте залишаються недостатньо з'ясованими механізми розвитку розладів сполучної тканини пародонта за умов СЗ. Розв'язання цього питання дозволить розширити засоби попередження та лікування запально-дистрофічних захворювань цих органів при розвитку СЗ.

Метою роботи було з'ясування механізмів дезорганізації сполучної тканини пародонта щурів за умов експериментального СЗ.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на 20 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, розподілених на 2 групи: 1-ша – інтактні тварини, 2-га – після відтворення СЗ.

СЗ моделювали шляхом внутрішньоочеревинного введення ліпополісахариду (LPS) *Salmonella typhi* (препарат «Пірогенал», фірма «Медгамал», Росія) у дозі, яка сприяла у щурів підвищенню температури на 1,5 °С, за схемою [15]: протягом першого тижня вводили по 4 мінімальні пірогенні дози (МПД), що складає 0,4 мкг, на 1 кг маси щура 3 рази на тиждень. Протягом наступних семи тижнів експерименту щурам вводили по 4 МПД/кг маси 1 раз на тиждень.

При проведенні дослідження керувалися принципами біомедичної етики. Тварин декапі-

тували під ефірним наркозом. Об'єктами дослідження були м'які тканини пародонта (ясна, періодонтальна зв'язка) та кісткова тканина альвеолярних відростків щелеп.

Рівень колагенолізу визначали за вмістом вільного оксипроліну [5]. Рівень деполімеризації протеогліканів та сіалоглікопротеїнів оцінювали шляхом визначення їх мономерів – глікозаміногліканів [11] та N-ацетилнейрамінової кислоти [4] відповідно.

За допомогою світлового мікроскопу з використанням окуляр-мікрометра оцінювали відстань від краю зубної альвеоли до нижнього краю коронки третього моляру (L_0) і відстань від краю альвеоли до верхнього краю зубної коронки (L_1) з подальшим розрахунком коефіцієнту оголення коренів молярів (K) за формулою: $K = L_0 / L_1$.

Отримані результати статистично обробляли. Для перевірки розподілу на нормальність було застосовано розрахунок критерію Шапіро-Уїлка.

Якщо вони відповідали нормальному розподілу, то для їх порівняння використовували критерій t Стьюдента для незалежних вибірок. У разі, коли ряди результатів не підлягали нормальному розподілу, статистичну обробку здійснювали, використовуючи непараметричний метод – тест Мана-Вітні. Статистичні розрахунки проводили з використанням програми "StatisticSoft 6.0".

Результати дослідження та їх обговорення
 Моделювання СЗ призводило до змін компонентів сполучної тканини: колагену, протеогліканів та сіалоглікопротеїнів у м'яких тканинах пародонта (табл. 1). Так, вміст вільного оксипроліну підвищувався на 66.2% ($p < 0.01$), глікозаміногліканів – на 66.8% ($p < 0.05$), N-ацетилнейрамінової кислоти – на 62.9% ($p < 0.001$).

Таблиця 1
 Показники дезорганізації сполучної

тканини ясен і періодонтальної зв'язки за умов СЗ ($M \pm t$, $n=20$)

Групи дослідів	Вільний оксипролін, мкмоль/г	Глікозаміноглікани, мкмоль/г	N-ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г
Інтактні тварини	4.08±0.48	1.93±0.34	4.56±0.17
Відтворення СЗ	6.78±0.35 *	3.22±0.34 *	7.43±0.33 *

Примітка (у табл. 1-2): * – $p < 0,05$ порівняно з результатами 1-ї групи.

Таблиця 2
 Показники дезорганізації кісткової тканини пародонта за умов СЗ ($M \pm t$, $n=20$)

Групи дослідів	Вільний оксипролін, мкмоль/г	Глікозаміноглікани, мкмоль/г	N-ацетилнейрамінова кислота, мкмоль/г	Коефіцієнт оголення коренів молярів
Інтактні тварини	3.06±0.28	1.70±0.30	2.01±0.35	25.0±1.4
Відтворення СЗ	5.20±0.19 *	2.93±0.22 *	4.33±0.37 *	37.5±2.2 *

Концентрація цих сполук у кістковій тканині альвеолярного відростку щелеп (табл. 2) також збільшувалася: вільного оксипроліну – на 69.9% ($p < 0.001$), глікозаміногліканів – на 72.4% ($p < 0.02$), N-ацетилнейрамінової кислоти – у 2.2 рази ($p < 0.01$).

Ці результати свідчать про активацію за умов відтворення СЗ процесів колагенолізу та деполімеризації протеогліканів та сіалоглікопротеїнів як у м'яких, так і кальційованих тканинах пародонта.

Дезорганізація сполучної тканини вважається важливим механізмом ушкодження пародонта при дії загальних (емоційний і больовий стрес) [12] та місцевих чинників пародонтиту [10], ускладнює заходи регенеративної терапії пародонта [7].

Розвиток деструктивних змін в кістковій тканині пародонта підтверджується зміною коефіцієнту оголення коренів на рівні третього моляру (див. табл. 2), який характеризує ступінь резорбції альвеолярного відростка. У щурів за умов СЗ цей коефіцієнт підвищується в 1.5 рази ($p < 0.01$).

Раніше було показано, що активація NF-κB та індукція ізоформи NO-синтази є важливими ланками патогенезу окисно-нітрозативного стресу у м'яких і твердих тканинах пародонта, колагенолізу та деполімеризації протеогліканів у

них. Така закономірність простежувалася при хронічній інтоксикації нітратами [1], експериментальному метаболічному синдромі [2, 3].

Таким чином, дезорганізація сполучної тканини пародонта (ясен, періодонтальної зв'язки, альвеолярних відростків щелеп) при експериментальному СЗ пов'язана з процесами деполімеризації таких її складових, як колаген, протеоглікани і сіалоглікопротеїни.

Отримані результати обґрунтовують доцільність розробки нових пародонтотекторів, спрямованих на корекцію NF-κB- та NO-залежних системних метаболічних розладів сполучної тканини, пов'язаних з ініціацією окисно-нітрозативного стресу.

Література

1. Должкова К. П. Вплив пригнічення та індукції NO-синтаз на біохімічний склад кісткової тканини нижньої щелепи при відтворенні її перелому на тлі хронічної інтоксикації нітратом натрію / К.П. Должкова, В.О. Костенко // Пробл. екол. та мед. – 2010. – Т. 14, № 1-2. – С. 35-38.
2. Ляшенко Л.І. Роль NF-κB-опосередкованої дії NO-синтаз у дезорганізації сполучної тканини пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, В.О. Костенко // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2013. – Т. 8, №3. – С. 53-57.
3. Ляшенко Л.І. Роль транскрипційного ядерного фактора κB у механізмах порушень вільнорадикальних процесів і дезорганізації сполучної тканини пародонта за умов експериментального метаболічного синдрому / Л.І. Ляшенко, С.В. Денисенко, В.О. Костенко // Актуальні проблеми сучасної медицини: Вісн. Української мед. стоматол. академії. – 2014. – Т. 14, №1. – С. 97–100.

4. Методи клінічних та експериментальних досліджень в медицині / [Л.В.Беркало, О.В.Бобович, Н.О.Боброва та ін.]; за ред. І.П. Кайдашева. – Полтава, 2003. – 320 с.
5. Тетянец С.С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови / С.С. Тетянец // Лабор. дело. – 1985. – №1. – С. 61-62.
6. Шараев П.Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях / П.Н. Шараев // Лабор. дело. – 1987. – № 5. – С. 530-532.
7. Chen F.M. Periodontal tissue engineering and regeneration: current approaches and expanding opportunities / F.M. Chen, Y. Jin // Tissue Eng Part B Rev. – 2010. – V.6, №2. – P. 219-255.
8. Kaidashev I.P. IKK-IKB-NF-kB gene manipulations and polymorphisms in relation to susceptibility to different diseases / I.P. Kaidashev // Problemy ekologii ta medytsyny. – 2014. – V. 18, № 3-4. – P. 3-18.
9. Oral Pathology: Clinical Pathologic Correlations / J.A. Regezi, J.J. Sciubba, R.C.K. Jordan. – Elsevier Health Sciences, 2016. – 496 p.
10. Pathogenesis of Periodontal Diseases: Biological Concepts for Clinicians / Nagihan Bostanci, Georgios N. Belibasakis (Eds). – Springer Int Publ AG, 2018. – 114 p.
11. Silva N. Host response mechanisms in periodontal diseases: review / N. Silva, L. Abusleme, D. Bravo [et al.] // J Appl Oral Sci. – 2015. – V.23, №3. – P. 329-355.
12. Tarasenko L.M. Stress-protective effect of glutapyrone belonging to a new type of amino acid-containing 1, 4-dihydropyridines on periodontal tissues and stomach in rats with different resistance to stress / L.M. Tarasenko, K.S. Neporada, V. Klusha // Bull Exp Biol Med. – 2002. – V.133, №4. – P. 369-371.
13. Tornatore L. The nuclear factor kappa B signaling pathway: integrating metabolism with inflammation / L. Tornatore, A.K. Thotakura, J. Bennett [et al.] // Trends Cell Biol. – 2012. – V. 22, № 11. – P. 557-566.
14. Yelins'ka A.M. Lipid peroxidation and antioxidant protection in periodontal tissues under the action of local pathogenic factor on gums in rats exposed to modeled systemic inflammatory response/ A.M. Yelins'ka, V.O. Kostenko // Problemy ekologii ta medytsyny. – 2017. – V. 21, №5-6. – P. 62-64.
15. Yelins'ka A.M. Sources of production of reactive oxygen and nitrogen species in tissues of periodontium and salivary glands of rats under modeled systemic inflammation / A.M. Yelins'ka, O.O. Shvaykovs'ka, V.O. Kostenko // Problemy ekologii ta medytsyny. – 2017. – V. 21, № 3-4. – P. 51-54.

Реферат

МЕХАНИЗМЫ ДЕЗОРГАНИЗАЦИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПАРОДОНТА КРЫС В УСЛОВИЯХ СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Елинская А.Н., Костенко В.А.

Ключевые слова: системное воспаление, соединительная ткань, коллагенолиз, протеогликаны, сиалогликопротеины, пародонт.

Целью работы было выяснение механизмов дезорганизации соединительной ткани пародонта крыс в условиях экспериментального системного воспаления (СВ). Исследование проведено на 20 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-220 г, разделенных на 2 группы: 1-я – интактные животные, 2-я – после воспроизведения СВ путем внутрибрюшинного введения липополисахарида *Salmonella typhi* («Пирогенал») в дозе, которая способствовала у крыс повышению температуры на 1,5 °С, по схеме: в течение первой недели вводили по 4 минимальные пирогенные дозы (МПД), что составляет 0,4 мкг на 1 кг массы крысы 3 раза в неделю. В течение следующих семи недель эксперимента крысам вводили по 4 МПД/кг 1 раз в неделю. Животных декапитировали под эфирным наркозом. Объектами исследования были мягкие ткани пародонта (десна, периодонтальная связка) и костная ткань альвеолярных отростков челюстей. Выявлено, что моделирование СВ приводило к изменениям биохимических компонентов соединительной ткани: коллагена, протеогликанов и сиалогликопротеинов как в мягких тканях пародонта (повышалось содержание их мономеров – свободного оксипролина – на 66.2%, $p < 0.01$, гликозаминогликанов – на 66.8%, $p < 0.05$, N-ацетилнейраминовой кислоты – на 62.9%, $p < 0.001$), так и в костной ткани альвеолярного отростка (концентрация свободного оксипролина увеличивалась – на 69.9%, $p < 0.001$, гликозаминогликанов – на 72.4%, $p < 0.02$, N-ацетилнейраминовой кислоты – в 2.2 раза, $p < 0.01$). Расчет коэффициента обнажения корней моляров свидетельствует о повышении резорбции альвеолярного отростка в условиях СВ.

Summary

MECHANISMS OF CONNECTIVE TISSUE DISRUPTION IN PERIODONTIUM RATS DURING SYSTEMIC INFLAMMATION

Yelins'ka A.M., Kostenko V.O.

Key words: systemic inflammation, connective tissue, collagenolysis, proteoglycans, sialoglycoproteins, periodontium.

The purpose of the work was to reveal the mechanisms of connective tissue disruption in periodontium of rats under modeled systemic inflammation (SI). The study was carried out on 20 Wistar white male rats weighing 180-220 g, divided into 2 groups: the 1st group included intact animals, the 2nd group was made up of the animals with SI induced by intraperitoneal administration of *Salmonella typhi* lipopolysaccharide (Pyrogenalum) in a dose that stimulated rise in temperature by 1.5 °C according to the scheme: during the first week, 4 minimum pyrogenic doses (MPD) of 0.4 µg/kg of rat mass were administered 3 times a week. During the following seven weeks of the experiment, rats were given 4 MPD/kg of body weight once a week. The animals were decapitated with ethereal anesthesia. Soft tissues of periodontium (gum, periodontal ligament) and bone tissue of the alveolar processes of the jaws were the objects of the study. It has been found out the SI modeling led to the changes in the biochemical components of the connective tissue such as collagen, proteoglycans and sialoglycoproteins both in soft periodontal tissues (the content of their monomers were observed to grow up – free hydroxyproline increased by 66.2%, $p < 0.01$, glycosaminoglycans increased by 66.8%, $p < 0.05$, N-acetylneuraminic acid increased by 62.9%, $p < 0.001$), and in the bone tissue of the alveolar process (free hydroxyproline concentration increased by 69.9%, $p < 0.001$, glycosaminoglycans grew up by 72.4%, $p < 0.02$, N-acetylneuraminic acid doubled, $p < 0.01$). The calculation of the molar root exposure index indicates an increase in the resorption of the alveolar process during the SI condition.