

В.М. Зубачик, Л.Ю. Мінько, І.П. Патерега \*

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ЗАХОДІВ ПРИ ПАРОДОНТИТІ НА ТЛІ ГІПЕРПАРАТИРЕОЗУ

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького,

\* Державний науково-дослідний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів

Лікування генералізованого пародонтиту складне, з індивідуальним та комплексним підходом, особливо у хворих із супутньою соматичною патологією, яка часто формує тло, на якому виявляються клінічні ознаки патологічного процесу в навколорічкових тканинах [1]. Первинний гіперпаратиреоз (ПГПТ) – хвороба, в основі якої лежить гіперпродукція паратиреоїдного гормону, патохімічною основою якого є вимивання кальцію та фосфору з кісток, що призводить до остеопору, кісточної перебудови кісток, заміщення кісткової тканини на фіброзну. Перебіг хвороби в основному безсимптомний і за частотою вияву серед хвороб ендокринної системи знаходиться на третьому місці після цукрового діабету та гіпертиреозу, може розвиватися в будь-якому віці, хоча здебільшого хворіють люди після 40-50 років, причому жінки у 2-3 рази частіше чоловіків [2].

Зважаючи на фактор системного остеопору в організмі, метою нашого дослідження було виявити особливості виникнення, перебігу, лікування та профілактики пародонтиту на тлі ПГПТ у експерименті.

**Матеріали і методи.** Дослідження проведено на 45 білих щурах лінії Вістар віком 8-9 тижнів, масою 170-200 г. Інтактні тварини (5 особин) склали групу порівняння (контроль). Моделювання патологічного процесу проведено на 40 щурах, яких було поділено на 2 дослідні групи:

1 група (20 особин) – тварини, в яких моделювали ПГПТ шляхом трансплантації щурям додаткових пар щитоподібних залоз (ПЩЗ), отриманих від щурів-донорів [3], і після загоєння рани на 10 добу експерименту відтворювали модель пародонтиту, що ґрунтувалася на активуванні ПОЛ у тканинах пародонта шляхом щоденних аплікацій на ясна перекисленої олії [4];

2 група (20 особин) – тварини, в яких відтворювали пародонтит на тлі ПГПТ, і з моменту його формування для запобігання резорбуванню кісткової тканини їм внутрішньо вводили:

1) мінерально-вітамінний комплекс «Кальцемін» („Health Life“, США) 2 рази за добу (таблетку подрібнювали і додавали тваринам у їжу в такій кількості, щоб добова доза препарату в перерахунку на величину активних речовин містила 2,41 мг цитрату кальцію; 0,58 мг карбонату кальцію; 0,14 МО холекальциферолу; 0,0014 мг міді; 0,14 мг бору; 0,014 мг марганцю);

2) «Ралоксифен» („Health Lie“, США) всередину по 0,17 мг за добу;

3) «Деносуаб» („Health Lie“, США) підшкірно 0,1 мг 1 раз за 3 місяці.

Місцево застосовували у вигляді аплікацій розроблений нами лікувально-профілактичний гель [5] із оптимальним співвідношенням інгредієнтів, мас. %: ліофілізований фітоекстракт коренів живокосту лікарського 1,5; кальцію лактат 2,0; вітамін D3 (водний

розчин) 1,4; рутин 0,5; кислота аскорбінова 0,5; мірамістин 0,5; олія м'яти перцевої 0,1; пропіленгліколь 10,0; метилцелюлоза 4,0; вода очищена до 100,0.

Стан тканин пародонта щурів оцінювали за результатами візуально-інструментального та рентгенологічного обстеження, біохімічних досліджень. Тривалість експерименту становила 4 та 7 тижнів. Ступінь атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи тварин визначали біометричним методом А.В. Николаевой і соавт. [6], а також оцінювали механічну стійкість колагену сухожилля хвоста щура на розрив [7]. В яснах визначали вміст водорозчинного білка [8], загальну протеолітичну активність (ЗПА) [9], концентрацію малонового діальдегіду (МДА) [10], активність каталази [11]. У кістковій тканині визначали вміст лужної фосфатази (ЛФ) та кислої фосфатази (КФ) [12], активність еластази [13], а в сироватці крові тварин – вміст інтактного паратгормону (ПТГ) (intact PTH, Rat Bioactive, ELISA „ALPCOTM“) [14], рівень загального кальцію та неорганічного фосфору [15].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Уміст паратгормону в сироватці крові на 4 тижень експерименту в щурів-реципієнтів із трансплантованими ПЩЗ був у 1,9 разу більшим у порівнянні з показниками в інтактних тварин ( $p < 0,001$ ) і становив  $32,6 \pm 2,1$  нг/л та  $63,2 \pm 4,9$  нг/л відповідно, що свідчить про збереженість

функціональної активності пересаджених органів.

Моделювання пародонтиту за допомогою місцеводіючих чинників на тлі ПГПТ спричинило у тварин зміни в тканинах пародонта, які виявлялися вже в кінці першого тижня експерименту в 4 із 20 щурів, а на 12 добу у всіх тварин діагностували кровотоковність, гіперемію, набряк слизової оболонки ясен, у кількох із них – тяжкий ступінь патології. На другий тиждень у 100% тварин реєстрували стан пародонта як такий, що подібний до перебігу пародонтиту в людини: гіперемія слизової оболонки з ціанотичним відтінком, збільшення сосочків і маргінальної частини ясен, руйнування колової зв'язки зубів, наявність пародонтальних кишень. Надалі тяжкість пародонтологічних змін наростала і набула максимуму на сьомий тиждень експерименту, зокрема збільшувалася глибина зубо-ясенних патологічних утворів, з яких при пальпації виявляли серозно-гнійні виділення, а в одного щура (5%) діагностували пародонтальний абсцес; нерідко виявляли рухомість окремих кутніх зубів.

Відповідно до клінічної картини спостерігали рентгенологічні зміни в кістковій тканині альвеолярних відростків (рис. 1): резорбція міжзубних перегородок більше 1/2 їхньої величини, вогнища остеопору та остеолізу, нечіткість рисунку кістки. Поєднана дія місцевих і загальних чинників на організм тварин прискорює катаболітичні процеси в кістковій тканині пародонта, що діагностували також збільшенням оголення коренів молярів на очищених нижньощелепних блоках, яке в щурів із моделлю „гіперпаратиреоз + пародонтит” становило  $31,9 \pm 0,7\%$ , що на 30% було більше, ніж у тварин контрольної

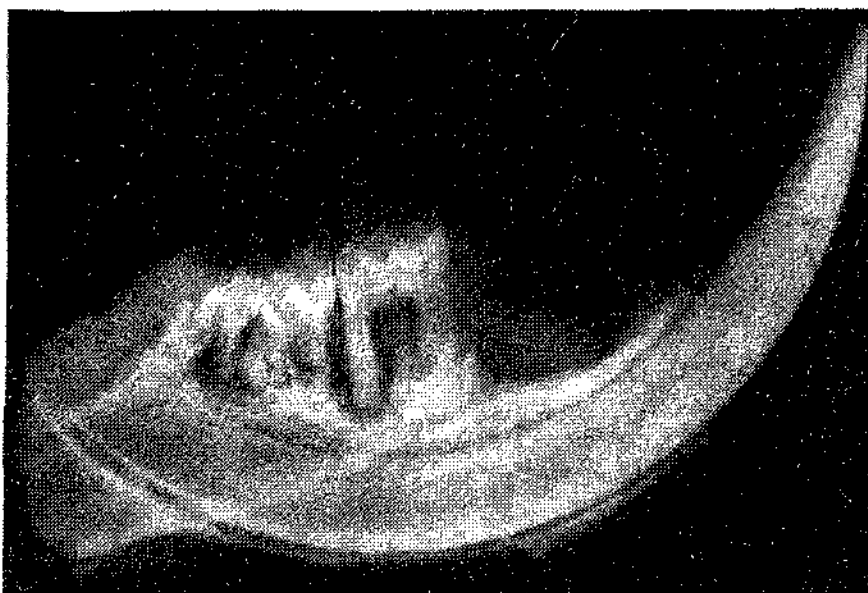


Рис. 1. Рентгенограма альвеолярного відростка нижньої щелепи щура групи „гіперпаратиреоз + пародонтит” на 7 тиждень дослідження. 36.: 5

групи, –  $24,5 \pm 0,7\%$  ( $p < 0,001$ ), хоча в інтактних щурів за час тривалого перебування в умовах віварію атрофується альвеолярний відросток щелепи і зменшується їхня кісткова маса.

Біохімічні маркери утворення і резорбції кістки засвідчили, що активність кісткової ЛФ наростає більш ніж удвічі – з  $211,7 \pm 19,3$  мккат/кг у здорових тварин до  $417,3 \pm 39,0$  мккат/кг ( $p < 0,001$ ) на 7 тиждень експерименту. Спостерігається лише тенденція до зменшення кісткової КФ з  $37,6 \pm 3,7$  мккат/кг до  $35,7 \pm 2,6$  мккат/кг ( $p > 0,5$ ) відповідно. Підвищення активності ЛФ свідчить про інтенсифікацію функціональної активності остеобластів, а зниження активності КФ у кістковій тканині можна трактувати як зниження активності остеокластів, що пояснюється компенсаторною реакцією організму, яка спрямована на збереження функціональної та структурної організації кісткової тканини під дією патогенних чинників на час експерименту.

Гіперактивація гормонів ПЩЗ у тварин 2 групи сприяє виділенню остеокластами білокде-

структивних протеаз, зокрема кісткової еластази, що спричиняє руйнування органічного матриксу кісткової тканини: на 4 тиждень моделювання пародонтиту на тлі ПГПТ – у 1,7 разу, а через 7 тижнів – у 2 рази ( $p < 0,01$ ) (вихідний рівень у інтактних тварин –  $3,86 \pm 0,29$  мккат/кг, при патології –  $7,62 \pm 0,69$  мккат/кг). На підставі відносного узагальнення будови колагенових структур сухожилля, періодонту та міжхребцевих дисків нами встановлено, що наслідком руйнування білкових структур організму під дією різних чинників у тварин із пародонтитом значно знижувалася механічна міцність колагенових волокон сухожиль хвоста – навантаження, що призводило до їх розриву, зменшилося на кінець експерименту до  $379 \pm 32$  г проти  $615 \pm 56$  г в інтактних тварин ( $p < 0,01$ ).

Порушення процесу мінерального обміну в кістковій тканині щелепи знаходить свій прояв і у втраті її основних мінеральних компонентів – кальцію і фосфору. У клінічно здорових щурів уміст кальцію в сироватці крові становить  $2,72 \pm 0,04$  ммоль/л, фосфо-

ру -  $1,03 \pm 0,03$  ммоль/л. Розвиток пародонтиту з гіперативацією паратгормону супроводжується перевагою на 7 тиждень експерименту збільшенням кількості кальцію на 19,1% ( $3,24 \pm 0,12$  ммоль/л,  $p < 0,01$ ) і зменшенням фосфору на 31,1% ( $0,71 \pm 0,07$  ммоль/л,  $p < 0,01$ ) у порівнянні з нормою.

Формування пародонтиту в щурів 1 групи призводить до наростання в пародонті локального протеолізу: в 1,7 разу вища ЗПА ( $182 \pm 18,9$  нкат/кг) у порівнянні з показниками в інтактних тварин ( $105 \pm 12,0$  нкат/кг,  $p < 0,001$ ), а також зростає концентрація білка в 1,4 разу - від  $39,0 \pm 1,4$  г/кг до  $53,6 \pm 2,9$  г/кг відповідно ( $p < 0,001$ ).

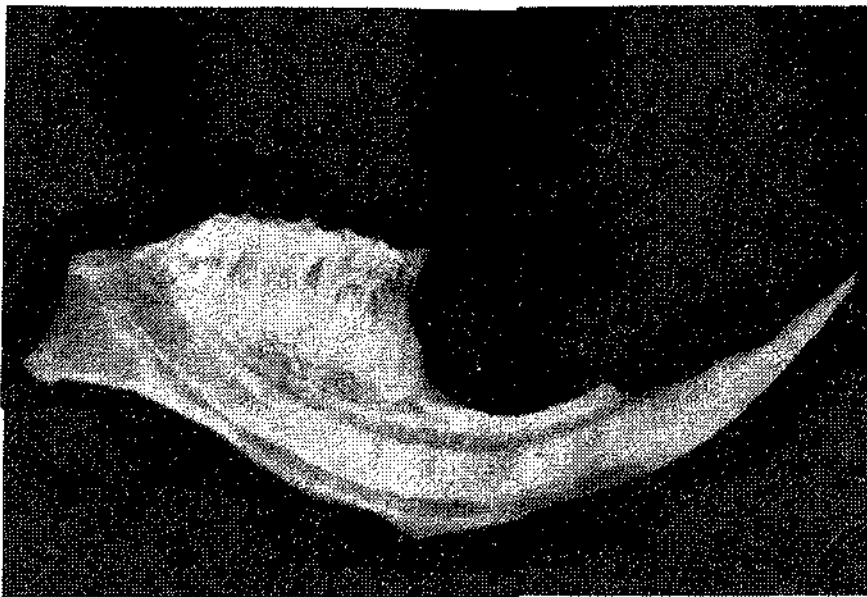
У групі тварин із моделлю „гіперпаратиреоз + пародонтит” спостерігали також розбалансування фізіологічної антиоксидантної системи, що виявляли в порівнянні з показниками у тварин групи контролю на 32,3% збільшенням продуктів пероксидації – МДА ( $39,6 \pm 3,4$  ммоль/кг і  $26,8 \pm 3,0$  ммоль/кг відповідно,  $p < 0,02$ ) і зниженням на 28,9% активності каталази (від  $7,6 \pm 0,4$  мкат/кг до  $5,4 \pm 0,3$  мкат/кг,  $p < 0,002$ ).

Отже, на тлі ПГПТ моделювання пародонтиту відбувається швидко і перебіг його тяжкий, із вираженим остеопорозом та вогнищами лізису кісткової тканини, рухомістю зубів, спричиненою руйнуванням як мінерального остова, так і сполучної тканини кісткового матриксу пародонта. Підґрунтям клінічно-рентгенологічного виявлення патологічного процесу були суттєва активація кісткової ЛФ та еластази, тенденційне зниження КФ. У крові діагностували вірогідне підвищення вмісту кальцію і зниження фосфору, в яснах – підвищення протеолізу і розбалансування антиоксидантно-прооксидантного захисту.

Лікування та профілактика пародонтиту потребує усунення шкідливої дії ендогенного чинника на виникнення та перебіг патологічного процесу в тканинах пародонта. Єдиним відносно безпечним і ефективним методом лікування ПГПТ є видалення ПЩЗ, які продукують надмірну кількість паратгормону, і за вдалого хірургічного втручання рівень кальцію сироватки зазвичай повертається до норми через 48 год. Радикальне лікування призводить до зворотного розвитку клінічних ознак ПГПТ [16]. Вивчення віддалених результатів оперативного лікування ПГПТ показано, що в більшості пацієнтів не відбувається повного поновлення кісткової щільності, через це для мінімізації незворотної втрати кісткової маси використовували препарат «Кальцемін», який містить дві форми іонізованого кальцію – карбонат і цитрат. Цитрат кальцію гальмує секрецію паратгормону, а отже, підвищує антирезорбційний потенціал. Вітамін D3 покращує всмоктування кальцію в кишках і у фізіологічних дозах створює гальмівний ефект на процесі кісткової резорбції. Мікроелементи покращують метаболізм кісткової тканини [17]. «Ралоксифен» – селективний модулятор естрогенних рецепторів біомембран, нормалізуючи процеси кісткової резорбції та збільшуючи кісткову масу, знижує втрати кальцію через сечовидільну систему [18]. «Деносумаб» є принципово новим антирезорбтивним лікувальним засобом, який прямо діє на ключову систему RANK/RANKL/OPG, що регулює остеокластогенез і відповідно кісткову резорбцію. «Деносумаб» – це повністю людське моноклональне антитіло (ізопозимуніглобуліну IgG) до RANKL, механізм дії якого – це зв'язування RANKL і запобігання взаємодії RANK/RANKL [19].

Результати спостереження впливу місцевих та загальних лікувально-профілактичних заходів на організм тварин засвідчили, що у тварин суттєво гальмується розвиток запально-деструктивних змін у тканинах пародонта. Насамперед це стосується первинних симптомів прояву запального процесу в маргінальній частині ясен, яке діагностували майже в 1,5 разу пізніше, ніж у групі тварин із моделлю „гіперпаратиреоз + пародонтит”. Почервоніння ясен було незначне і локалізувалося лише в призубній ділянці впродовж усього експерименту, в деяких тварин гіперемія ясен мала спорадичний характер. Руйнування зубо-ясенного прикріплення при зондуванні діагностували у 8 щурів (42%) наприкінці третього тижня, до семи тижнів кількість тварин із пародонтальною кишенею збільшилася до 50%, однак глибина занурення інструмента була незначною. Рухомість зубів І ступеня, зокрема молярів, виявили тільки в одного щура (5%).

Рентгенологічно спостерігали (рис. 2) зменшення висоти міжзубних перегородок до 1/4, кісткова тканина щільна, незначне розширення періодонтальних щілин. Візуально-інструментальне та рентгенологічне обстеження свідчить про високий лікувально-профілактичний ефект поєднаного місцевого і загального лікування. Проте застосування медикаментів не усувало повністю шкідливу дію етіологічних чинників патологічного процесу в пародонтальних тканинах. Лікувально-профілактичні заходи в 2 групі запобігали виникненню у тварин пародонтиту, що не відрізняло показники стану кістки в цій групі на 4 тиждень експерименту ( $25,4 \pm 0,7\%$ ;  $p > 0,05$ ) зі здоровими тваринами і не приводило до сут-



**Рис. 2.** Рентгенограма альвеолярного відростка нижньої щелепи щури групи „гіперпаратиреоз + пародонтит“ після лікувально-профілактичних заходів на 7 тиждень досліджу. Зб.: 5

тевих змін у кістковій тканині на 7 тиждень дослідження ( $26,8 \pm 0,8\%$ ;  $p > 0,05$ ).

Лікування тварин суттєво вплинуло не тільки на причинний фактор, але й істотно зменшило його шкідливу дію на білковий обмін, що сприяло підвищенню стійкості сухожиль на розрив: показники становили в середньому  $580 \pm 53$  г і наближалися до аналогічних показників у здорових тварин ( $p > 0,5$ ). Це зумовлено загалом незначною активністю еластази, яка суттєво не виходила за показники норми ( $p > 0,5$ ), а підвищення показників місцевого протеолізу ймовірно має як захисний, так компенсаційний характер. Отже, лікувально-профілактичне застосування медикаментів місцевої та загальної дії сприяє одужанню організму, має пародонтопротекторний ефект.

Для уточнення механізмів фармакологічного ефекту і запобігання розвитку патологічного процесу в пародонті оцінювали фосфорно-кальцієвий баланс на тлі підвищеної активності паратгормону. Так, у тварин із моделлю групи „гіперпаратиреоз + пародонтит + лікування“ відсутня гіперкальціємія ( $2,71 \pm 0,04$  ммоль/л) та гіпофосфатемія ( $0,93 \pm 0,06$  ммоль/л), показники мінеральних речовин яких наближаються до умовної норми ( $p > 0,1-0,5$ ).

Поєднане внутрішнє і місцеве застосування лікарських засобів у тварин нормалізує ЗПА, яка на 7 тиждень експерименту становить  $110 \pm 9,7$  нкат/кг ( $p > 0,5$ ) і не призводить до накопичення в яснах продуктів розпаду білків і їх комплексів ( $43,4 \pm 1,8$ ;  $p > 0,05$ ). Медикаментна корекція запального процесу в щурів запобігала виникненню синдрому пероксидації, що свідчить про здатність терапевтичних засобів викликати індукцію захисних антиоксидантних систем і забезпечує певною мірою резистентність тканин пародонта до ушкоджувальної дії вільних радикалів та перекисів.

Лікувально-профілактичні заходи знижували ризик виникнення запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта, на що вказують біохімічні та морфометричні показники, які перебували в межах норми, або їх відхилення не мали вірогідної статистичної оцінки.

Лікувально-профілактичні заходи знижували ризик виникнення запально-деструктивного процесу в тканинах пародонта, на що вказують біохімічні та морфометричні показники, які перебували в межах норми, або їх відхилення не мали вірогідної статистичної оцінки.

## Висновки

1. Поєднане моделювання пародонтиту і ПГПТ призводить до порушення загального мінерального та білкового обміну в організмі тварин. Це виявляється змінами органічно-мінерального матриксу кісткової тканини і супроводжується остеопорозом, остеопенією, резорбцією кістки, підвищенням у ній протеолізом, гіперкальціємією та гіпофосфатемією. Місцево для запалення ясен також характерний підвищений протеоліз, порушення ПОЛ і зниження активності антиоксидантної системи.

2. При формуванні пародонтиту на тлі ПГПТ важливими є зміни як місцевого, так і загального характеру, які доповнюють одна одну в шкідливій дії на організм тварини. При цьому ПГПТ може слугувати підґрунтям формування основних симптомів пародонтиту, сприяти його розвитку і тяжкості перебігу патологічного процесу. Провідними в моделюванні пародонтиту в експерименті є місцеводіючі чинники.

3. Лікувально-профілактичне застосування композиції медикаментів місцевої дії на основі живокосту лікарського, кальцію лактату, вітаміну D3, рутину, кислоти аскорбінової, мірамістину, м'яти перцевої та спільної дії мінерально-вітамінного комплексу «Кальцемін», селективного модулятора екстрогенних рецепторів біомембран «Ралоксифен», регулятора остеокластогенезу «Деносумаб» запобігає вимиванню мінеральних компонентів із кісткової тканини, локальному протеолізу, що знижує ризик виникнення остеопорозу, резорбції кістки, зберігає її масу, регулює антиоксидантно-прооксидантний та протеоліз-інгібіторний баланс. Це усуває клінічні прояви гіперпаратиреозу та пародонтиту в організмі тварин, має профілактичний ефект.

## Література

1. Вишняк Г.Н. Генерализованные заболевания пародонта (пародонтоз, пародонтит) / Г.Н. Вишняк. - К., 1999. - 216 с.
2. Zahraní A. Primary hyperparathyroidism / A. Zahraní, M. Levine // Lancet. - 1997. - Vol. 349. - P. 1233-1238.
3. Пат. 42620, МПК А61В 17/00. Спосіб трансплантації паращитоподібних залоз / В.Б. Добродний, В.В. Коптюх, А.В. Добродний і співавт. - № 200902014; заявл. 06.03.09; опубл. 10.07.09, Бюл. № 13.
4. Козлянина Н.П. Физиологическая антиоксидантная система десны и кости альвеолярного отростка в норме и при патологии: автореф. дис. на соискание уч. степени канд. биол. наук / Н.П. Козлянина. - К., 1990. - 17 с.
5. Пат. 59748, МПК А61К 6/00, А61Р 37/00. Лікувально-профілактичний гель для місцевої терапії генералізованого пародонтиту / Р.М. Федін, Л.Ю. Мінько. - № 201014105; заявл. 26.11.10; опубл. 25.05.11, Бюл. № 10.
6. Николаева А.В. Экспериментальные дистрофии тканей пародонта / А.В. Николаева, Е.С. Розовская // БЭБИМ. - 1965. - Т. 60, № 7. - С. 46-49.
7. Никитин В.Н. Возрастная и эволюционная биохимия коллагеновых структур / В.Н. Никитин, Е.Э. Перский, Л.А. Утевская. - К.: Наукова думка, 1977. - 279 с.
8. Protein measurement with Folinphenol reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr [et al.] // J. Biol. Chem. - 1951. - Vol. 193. - P. 265-275.
9. Барабаш Р.Д. Казеинолитическая и БАЭЭ-эстеразная активность слюны и слюнных желез крыс в постнатальном онтогенезе / Р.Д. Барабаш, А.П. Левицкий // БЭБИМ. - 1973. - № 8. - С. 65-67.
10. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. - М.: Медицина, 1977. - С. 66-68.
11. Гирин С.В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С.В. Гирин // Лабораторная диагностика. - 1999. - № 4. - С. 45-46.
12. Левицкий А.П. Сравнительная характеристика трех методов определения фосфатаз слюны человека / А.П. Левицкий, А.И. Марченко, Т.Л. Рыбак // Лабораторное дело. - 1973. - № 10. - С. 624-625.
13. Visser L. The use of p-nitrophenyl-N-testbutyloxycarbonyl-L-alaninate as substrate for elastase / L. Visser, E. R. Blouf // Biochem. of Biophys. Acta. - 1972. - Vol. 268, № 1. - P. 275-280.
14. Determination of bioactive rat parathyroid hormone (PTH) concentrations in vivo and in vitro by a 2-site homologous immuno-radiometric assay / V.L. Schultz, S.C. Gamer, J.R. Lavigne, [et al.] // Bone and Mineral. - 1994. - Vol. 27. - P. 121-132.
15. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делеторская, Р.П. Золотницкая [и др.]; под ред. В.В. Меньшикова. - М.: Медицина, 1987. - 368 с.
16. Рибаків С.І. Синдромні характеристики первинного гіперпаратиреозу / С.І. Рибаків, І.В. Комісаренко, А.М. Кваченко // Ендокринологія. - 2002. - Т. 7, № 1. - С. 62-65.
17. Мазур І.П. „Кальцеємін” в комплексному ліченні генералізованого пародонтиту / І.П. Мазур, В.В. Поворознюк // Современная стоматология. - № 1 (25) - 2004. - С. 64-68.
18. Zanchetta J.R. Raloxifene reverses bone loss in postmenopausal women with mild asymptomatic primary hyperparathyroidism / Zanchetta J.R., Bogado C.E. // J. Bone Miner. Res. - 2001. - Vol. 16. - P. 189-190.
19. Bone H. G. Effects of Denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women / H. G. Bone, M. A. Bolognese, C. K. Yuen // J. Clin. Endocrinol. Metab. - 2008. - Vol. 93 (6). - P. 2149-2157.

Стаття надійшла  
16.09.2011 р.



