

УДК 65.012.1+616.314.17-008.1+599.323.4

А. В. Николаева,**О. А. Макаренко**

Государственное учреждение "Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной Академии Медицинских Наук Украины", г. Одесса

ИЗУЧЕНИЕ СТЕПЕНИ ДЕСТРУКТИВНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ТКАНЯХ ПАРОДОНТА ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПАРОДОНТИТА У БЕЛЫХ КРЫС - САМОК РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ПЕРИОДОВ

Ключевые слова: крысы-самки, репродуктивный возраст, модель пародонтита, деструктивные изменения.

Резюме. Изучение деструктивных изменений в пародонте проводили у белых крыс - самок 3-х возрастных групп - 1,5, 6 и 14 месяцев. Для моделирования пародонтита была выбрана перекисная модель, которую воспроизводили путём добавления в корм перекисленного соевого масла из расчёта 1 мл на 1 животное в сутки. По окончании эксперимента у животных изучали степень атрофии альвеолярной кости и биохимические показатели состояния слизистой оболочки десны и альвеолярной кости. Длительное поступление с пищей перекисей липидов провоцировало нарушение белкового и минерального обмена в костной ткани, способствовало развитию воспаления в десне на фоне активизации перекисного окисления липидов с одновременным снижением антиоксидантной и антимикробной защиты в тканях пародонта крыс как молодого, так зрелого возраста, что привело к усилению резорбтивных процессов в альвеолярной кости. Наиболее выраженное агрессивное действие избыток перекисей липидов оказал на пародонт крыс-самок активного репродуктивного возраста.

Введение

Исходя из современных представлений пародонтит это хроническое деструктивное воспалительное заболевание пародонтальных тканей, являющееся ответной реакцией на длительное присутствие инфекции, преимущественно анаэробной грамотрицательной. При этом деструктивные изменения пародонта имеют более широкий генез и обусловлены целым рядом взаимосвязанных факторов [3].

Известно, что у женщин с наступлением физиологической менопаузы, характеризующейся снижением или прекращением секреции половых гормонов, происходят значительные изменения в тканях пародонта [9, 12].

В рассматриваемой же нами проблеме наибольший интерес представляет аспект развития пародонтита у женщин репродуктивного периода жизни.

Одним из важных моментов доказательной медицины являются экспериментальные исследования на животных. С помощью экспериментальных исследований возможна оценка роли различных механизмов в патогенезе заболеваний, действие лекарственных препаратов при этом и др.

Как известно, лабораторные крысы в среднем живут до 2-х -2,5 лет. Предельно старческим является возраст от 36 месяцев (доживают не бо-

лее 1 % крыс). После 15 месяцев жизни крыс репродуктивная способность снижается и к 18 месяцам крыса неспособна воспроизводить потомство [5].

Цель исследования

Провести изучение степени деструктивных изменений в пародонте белых крыс - самок разного возраста при активизации процессов перекисидации липидов и с помощью биохимических методов выявить ключевые звенья механизма развития пародонтита.

Материалы и методы

В работе было использовано 60 самок крыс линии Вистар стадного разведения 3-х возрастных групп 1,5, 6 и 14 месяцев соответственно по 20 животных в каждой возрастной группе. Крысы каждого возраста, в свою очередь, были разделены на 2 группы: 1 - интактная; 2 - модель пародонтита. В эксперименте животные находились 1,5 месяца. Изучение всех параметров состояния пародонта проходило по окончании исследования, то есть возраст крыс увеличился на 1,5 месяц.

Принимая во внимание важную роль процессов перекисидации липидов в патогенезе пародонтита, для моделирования этой патологии была выбрана перекисная модель. Эта модель в наибольшей степени соответствует реальным усло-

© А. В. Николаева, О. А. Макаренко, 2016

виям образа жизни и питания современного человека. Экспериментальную патологию пародонтита воспроизводили путём добавления в корм перекисленного соевого масла из расчёта 1 мл на 1 животное в сутки [6].

Крыс выводили из эксперимента через 6 недель под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путём кровопускания из сердца. Выделяли челюсти для подсчета атрофии альвеолярного отростка и десну. В гомогенатах десны и альвеолярного отростка исследовали активность ферментов каталазы [2], эластазы [7], уреазы [1], лизоцима [8], кислой (КФ) и щелочной (ЩФ) фосфатаз, общую протеолитическую активность (ОПА) [10], а также содержание малонового диальдегида (МДА) [11]. Степень атрофии альвеолярного отростка изучали по методу Николаевой Е.П. [4].

Полученные данные были обработаны статистически с помощью t-критерия Стьюдента с вычислением средних величин (М) и отклонений (m). Изменения считались достоверно значимыми при $p < 0,05$. Расчёты проводились с помо-

щью электронных таблиц Excel для Microsoft Office.

Обсуждение результатов исследований

Результаты исследований представлены в табл. 1-4

Исследования показали, что при моделировании "перекисного пародонтита" степень резорбции альвеолярного отростка нижней челюсти по сравнению с интактными крысами увеличилась у молодых крыс на 27,2 %, в зрелом возрасте - на 17,7 %. Это свидетельствует о том, что длительный алиментарный избыток перекисей липидов является прямым патогенетическим фактором, запускающим механизм деструкции в костной ткани челюстей экспериментальных животных. Следует отметить, что в возрасте 15 месяцев атрофия альвеолярного отростка высокая в обеих группах, что указывает на влияние и других негативных факторов, таких, например, как снижение секреции половых гормонов (табл. 1).

В табл. 2-4 приведены результаты исследова-

Таблица 1

Степень резорбции альвеолярного отростка у крыс-самок разного возраста под влиянием перекисленного масла

№	Группы крыс	Степень резорбции альвеолярного отростка, %		
		2,5 месяца	7 месяцев	15 месяцев
1	Интактная	21,9 ± 1,3	29,8 ± 1,5	48,2 ± 3,7
2	Модель пародонтита	30,1 ± 1,9 $p < 0,002$	36,2 ± 1,9 $p < 0,02$	50,2 ± 4,3 $p > 0,05$

Примечание: показатель достоверности отличий – p - рассчитан по отношению к интактной группе животных

ния некоторых биохимических параметров - маркеров воспаления и деструкции - в десне и альвеолярной кости крыс. При этом в каждой возрастной группе были выбраны объекты исследования, адаптированные к возрастному эволюционному изменению ферментативного спектра. Так, в молодом возрасте патологические процессы могут развиваться в большей степени с участием провоспалительных ферментов, которые под влиянием повышения интенсивности свободно-радикального окисления и протеазопозитивной и уреазопозитивной микрофлоры увеличивают свою активность. В зрелом возрасте большее значение также имеет состояние остеорезорбтивных процессов в кости, которое можно оценить с помощью ферментов - маркеров функционального состояния остеобластов и остеокластов.

Результаты исследования показали, что моделирование пародонтита у молодых крыс (2,5 месяца) приводит к нарушениям метаболических

процессов в ткани десны: увеличение уровня МДА на 26,6 %, снижение активности каталазы на 14,1 %, увеличение активности эластазы на 39,2 %, повышение активности уреазы на 82,9 %, уменьшение активности лизоцима на 46,5 %. Полученные данные свидетельствуют о том, что алиментарный избыток перекисей липидов вызывает в тканях десны интенсификацию метаболизма перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижение активности антиоксидантной защиты, развитие воспаления, увеличении активности уреазы - показателя интенсификации агрессивной микрофлоры на фоне снижения неспецифического иммунитета (табл. 2).

Исследование маркеров воспаления, антиоксидантной защиты и антимикробного фактора в десне 7-ми месячных крыс показало, что избыток перекисленного масла привел к повышению уровня МДА на 67,8 %, активности эластазы на 65,3 %, активности уреазы - в 3,4 раза на фоне

Таблица 2

Изменение биохимических показателей десны крыс 2,5 месячного возраста под влиянием перекисленного масла

Показатели	Группы крыс	
	Интактная	Модель пародонтита
Активность каталазы, мкат/кг	14,01 ± 0,53	12,04 ± 0,21 p < 0,002
Содержание МДА, ммоль/кг	8,63 ± 0,75	10,89 ± 0,85 p < 0,05
Активность эластазы, мк-кат/кг	41,75 ± 2,57	58,10 ± 3,86 p < 0,002
Активность уреазы, мк-кат/кг	1,29 ± 0,15	2,36 ± 0,31 p < 0,01
Активность лизоцима, ед/кг	385 ± 45	206 ± 31 p < 0,01

Примечание: показатель достоверности отличий – p - рассчитан по отношению к интактной группе животных.

снижения активности лизоцима в 1,5 раза и активности каталазы на 23,9 %.

Полученные результаты свидетельствуют об интенсификации ПОЛ, воспаления, чрезмерном росте условно-патогенной и патогенной микрофлоры, а также снижении неспецифической антимикробной и антиоксидантной защиты в десне крыс (табл. 3).

Биохимический анализ подтвердил и интенсификацию процессов резорбции костной ткани челюстей у 7-ти месячных крыс. Так, установлено достоверное снижение активности маркера остеобластов - ЩФ на 33,3 % и одновременное повышение маркера остеокластов - активности кислой КФ на 79,3 %. Эти результаты характеризуют метаболические нарушения, а именно, угнетение образования новой костной ткани челюстей и активацию процессов резорбции её минерального

компонента.

Помимо этого алиментарное поступление перекисей липидов приводит к усиленной деградацией белковой матрицы костной ткани челюстей экспериментальных животных. Об этом судили по результатам исследования активности протеолитических ферментов в костной ткани челюстей, которые свидетельствуют о росте ОПА на 59,4 % и повышении на 104,1 % активности самого деструктивного протеолитического фермента - эластазы.

В таблице 4 представлены результаты исследования биохимических параметров десны крыс-самок 15-ти месячного возраста. Как видно, моделирование "перекисного" пародонтита у этих крыс привело к негативным изменениям в десне. Уровни всех исследуемых маркеров воспаления достоверно выросли: значения ПОЛ (содержание

Таблица 3

Изменение биохимических показателей десны крыс 7-ми месячного возраста под влиянием перекисленного масла

Показатели	Группы крыс	
	Интактная	Модель пародонтита
Десна		
Содержание МДА, ммоль/кг	12,1 ± 0,9	20,3 ± 1,9 p < 0,001
Активность эластазы, мк-кат/кг	36,4 ± 3,5	60,2 ± 4,8 p < 0,001
Активность уреазы, мк-кат/кг	0,67 ± 0,08	2,31 ± 0,18 p < 0,001
Активность лизоцима, ед/кг	309 ± 25	201 ± 18 p < 0,002
Активность каталазы, мкат/кг	6,58 ± 0,34	5,01 ± 0,29 p < 0,002
Альвеолярная кость		
Активность ЩФ, мк-кат/г	62,7 ± 5,8	40,5 ± 3,9 p < 0,01
Активность КФ, мк-кат/г	4,05 ± 0,31	7,26 ± 0,65 p < 0,001
ОПА, нкат/кг	37,2 ± 4,5	59,3 ± 4,8 p < 0,01
Активность эластазы, мк-кат/г	2,96 ± 0,41	6,04 ± 0,61 p < 0,001

Примечание: показатель достоверности отличий - p - рассчитан по отношению к интактной группе животных

Таблица 4

Изменение биохимических показателей десны крыс 15-ти месячного возраста под влиянием перекисленного масла

Показатели	Группы крыс	
	Интактная	Модель пародонтита
Десна		
Содержание МДА, ммоль/кг	13,1 ± 1,4	27,5 ± 3,1 p < 0,001
Активность эластазы, мк-кат/кг	29,2 ± 2,5	85,4 ± 6,3 p < 0,001
Активность уреазы, мк-кат/кг	0,70 ± 0,08	2,93 ± 0,21 p < 0,001
Активность лизоцима, ед/кг	279 ± 24	162 ± 17 p < 0,001
Активность каталазы, мкат/кг	5,83 ± 0,32	4,17 ± 0,26 p < 0,001
Альвеолярная кость		
Активность ЩФ, мк-кат/г	49,2 ± 4,5	65,8 ± 4,9 p < 0,02
Активность КФ, мк-кат/г	3,74 ± 0,41	8,02 ± 0,73 p < 0,001
ОПА, нкат/кг	33,5 ± 4,1	60,7 ± 5,2 p < 0,001
Активность эластазы, мк-кат/г	3,84 ± 0,45	7,16 ± 0,63 p < 0,001

Примечание: показатель достоверности отличий - p - рассчитан по отношению к интактной группе животных

МДА) - в 2,1 раза, показатель деструктивного протеолиза ткани (активность эластазы) - почти в 3 раза, показатель микробного обсеменения (активность уреазы) - более чем в 4 раза. На этом фоне одновременно зафиксировано снижение антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует снижению активности каталазы на 39,9 %, и неспецифического иммунитета - активности лизоцима на 72,2 %.

Воспроизведение "перекисного пародонтита" у 15 месячных крыс привело к достоверному росту ЩФ, активность которой увеличилась более чем в 1,4 раза. Поскольку этот фермент является маркером функционального состояния остеобластов, то повышение её активности при экспериментальном пародонтите можно объяснить компенсаторной реакцией костной ткани на усилившиеся процессы резорбции. В подтверждение уровень маркера остеокластов КФ, обеспечивающего резорбцию костной ткани, увеличивается в костной ткани челюстей крыс 2-ой группы более чем в 2 раза. Эти результаты подтверждают интенсификацию процессов резорбции костной ткани челюстей крыс, длительно получавших избыток перекисей липидов с пищей.

Таким образом, результаты экспериментального исследования подтвердили негативное влияние избытка алиментарных перекисей липидов на ткани пародонта крыс-самок репродуктивного возраста.

Выводы

1. Длительное поступление с пищей перекисей липидов провоцировало нарушение белкового и минерального обмена в костной ткани, способствовало развитию воспаления в десне на фоне

активизации перекисного окисления липидов с одновременным снижением антиоксидантной и антимикробной защиты в тканях пародонта крыс как молодого, так зрелого возраста, что привело к усилению резорбтивных процессов в альвеолярной кости.

2. Наиболее выраженное агрессивное действие избыток перекисей липидов оказал на пародонт крыс-самок активного репродуктивного возраста (7 месяцев).

Перспективы дальнейших исследований

Разработка новых экспериментальных моделей пародонтита, учитывающих влияние сопутствующей соматической патологии, влияния экотоксикантов и др., для возможности адекватного воспроизведения деструктивных изменений в пародонте в разные возрастные периоды жизни

Литература. 1. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой и одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. - 1996. - Спец. выпуск. - С. 49 - 50. 2. Гирин С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // Лабораторная диагностика. - 1999. - № 4. - С. 45 - 46. 3. Грудянов А. И. Заболевания пародонта / Грудянов А. И. М.: Издательство "Медицинское информационное агентство", 2009. - 336 с. 4. Експериментальне вивчення токсичної дії та специфічної ефективності засобів для догляду за порожниною рота / [Терешина Т. П., Косенко К. М., Левицький А. П. і др.] - К., 2003. - 42 с. 5. Лабораторные животные: разведение, содержание, использование в эксперименте / Западнюк И. П., Западнюк В. И., Захария Е. А., Западнюк Б. В. Киев: Вища школа, 1983. - 383 с. 6. Левицкий А. П. Перекисная модель стоматита / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, В. Н. Почтарь, В. Е. Завадский // Вісник стоматології. - 2005. - № 4. - С. 7-10. 7. Левицкий А. П. Метод определения активности эластазы и ее ингибиторов / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. - К.: ГФЦ, 2002. - 15 с. 8. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. - Одесса: "КП ОГТ", 2005. - С. 55 - 56. 9. Ли С. С. Изменения свойств смешанной слюны и показателей стоматологическо-

го статусу у женщин с выраженной гипострогией / С. С. Ли, О. В. Орешака // Российский стоматологический журнал. 2015. № 5. С. 28-31. 10. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. - М.: Медицина, 1977. - С. 66 - 68. 11. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза / Методические рекомендации / [Левицкий А. П., Макаренко О. А., Деньга О. В. и др.] - К.: ГФЦ МЗ Украины, 2005. - 36 с. 12. Association among menopause, hormone replacement therapy, and periodontal attachment loss in southern Brazilian women / A. N. Haas, C. K. Rosing, R. V. Oppermann [et al.] // J. Periodontol. 2009. Vol. 80. P. 1380-1387.

ВИВЧЕННЯ МІРИ ДЕСТРУКТИВНИХ ЗМІН У ТКАНИНАХ ПАРОДОНТУ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ПАРОДОНТИТА В БІЛИХ ЩУРІВ - САМИЦЬ РЕПРОДУКТИВНОГО ВІКУ

Г. В. Ніколаєва, О. А. Макаренко

Резюме. Вивчення деструктивних змін у пародонті проводили в білих щурів - самиць 3-х вікових груп - 1,5, 6 і 14 місяців. Для моделювання пародонтита була вибрана перекисна модель, яку відтворювали шляхом додавання в корм перекисленої соєвої олії з розрахунку 1 мл на 1 тварину в добу. Після закінчення експерименту у тварин вивчали міру атрофії альвеолярної кістки і біохімічні показники стану слизової оболонки ясен і альвеолярної кістки. Тривалий вступ з їжею перекисів ліпідів провокував порушення білкового і мінерального обміну в кістковій тканині, сприяв розвитку запалення в яснах на тлі активізації перекисного окислення ліпідів з одночасним зниженням антиоксидантного і антимікробного захисту в тканинах пародонту щурів як молодого, так зрілого віку, що привело до посилення резорбтивних процесів в альвеолярній кістці. Найбільш виражену агресивну дію надлишок перекисів ліпідів зробив на пародонт щурів-самиць активного репродуктивного віку.

Ключові слова: щури-самиці, репродуктивний вік, модель пародонтита, деструктивні зміни.

STUDYING OF EXTENT OF DESTRUCTIVE CHANGES IN PERIODONT FABRICS WHEN MODELLING THE PERIODONTAL DISEASE AT WHITE RATS - FEMALES OF REPRODUCTIVE AGE

A.V. Nikolaeva, O. A. Makarenko

Abstract. Studying of destructive changes in a periodont was carried out at white rats - females of 3 age groups-1,5, 6 and 14 of months. For modeling of a periodontal disease the model which was reproduced by addition in a forage of the oxidized soy oil at the rate of 1 ml on 1 animal a day has been chosen. Upon termination of experiment at animals studied degree of an atrophy of an alveolar bone and biochemical indicators of a condition of a mucous membrane of a gum and alveolar bone. Long receipt with food of peroxides of lipids provoked disorder of a protein and mineral metabolism in a bone tissue, promoted development of an inflammation in a gum against oxidization of lipids with simultaneous decrease in antioxidant and antimicrobial protection in fabrics of a periodont of rats as young, so mature age that has led to strengthening the resorting of processes in an alveolar bone. Excess of peroxides of lipids has had the most expressed aggressive effect on a periodont rats females of active reproductive age.

Key words: rats females, reproductive age, periodontal disease model, destructive changes.

**State Establishment "The Institute of Stomatology and
Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical
Science of Ukraine"**

Clin. and experim. pathol. - 2016.- Vol.15, №4 (58).-P.74-78.

Надійшла до редакції 10.11.2016

Рецензент – доц. Н.Б. Кузник

© А. В. Николаева, О. А. Макаренко, 2016