

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ЯИЧНОГО ФОСФАТИДИЛХОЛИНА, МОДИФИЦИРОВАННОГО МЕТОДОМ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ТЕХНОЛОГИИ, НА МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА ПРИ ЭНДОТОКСИН-ИНДУЦИРОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ

Бабай О.Н.

Харьковский национальный медицинский университет

Определение морфологических изменений в тканях пародонта при экспериментальном эндотоксин-индуцированном пародонтите является обоснованием этиопатогенетической тактики пародонтальной терапии. Полученные данные указывают, что наряду с деструктивными процессами, в пародонте крыс, ярко выражен воспалительный процесс. Явно выражена гиперплазия и дисдифференцировка эпителиального пласта десны, резорбция альвеолярного гребня. При использовании, с целью коррекции, липосомального препарата на основе природного лецитина («Липин») установлено снижение темпов клеточной реакции и уменьшение периваскулярного отека. Применение яичного фосфатидилхолина (препарата «Липин») привело к нормализации морфометрических показателей тканей пародонта подопытных животных.

Ключевые слова: пародонтит, крысы, яичный фосфатидилхолин, бактериальный эндотоксин.

Вступление. Дегенеративно-воспалительные изменения тканей пародонта до сих пор являются нерешенной проблемой практической стоматологии [1; 2]. Сложность решения такого рода задачи, во многом, определяется недостаточной изученностью связи между этиологией и патогенезом болезней пародонта, а также трудностью определения гистологических основ этой связи [3; 4]. Наиболее достоверно данные аспекты изучают у крыс на экспериментальных моделях [5]. Примером таких моделей могут служить – нейродистрофии пародонта, связанные с воздействием на центральную нервную систему, путем длительного травмирования нервной системы электрическими и звуковыми раздражителями [6; 7]; наложение лигатуры вокруг шейки зуба [8]; состояние Е-гиповитаминоза и нарушение гормонального баланса (удаление надпочечников) [9]; снижение жевательной функции [10]; активация перекисного окисления липидов [11], введение бактериальных эндотоксинов [12] и др. [13].

При выборе модели экспериментального пародонтита необходимо учитывать, что вышеперечисленные модельные патологии неравнозначны и основаны на использовании различных факторов, как самостоятельно воспроизводящих данную патологию, так и лишь способствующие ее возникновению, либо ухудшению ее течения. Учитывая этот факт, избрана модель, воспроизводящая в качестве ведущих этиологические и патогенетические факторы развития пародонтопатии – модель эндотоксин-индуцированного пародонтита [14]. Поэтому в качестве фактора, самостоятельно воспроизводящего характерные для человеческого пародонтита изменения, использованы липосахариды, играющие ключевую роль в эволюции патологического процесса в пародонте, вызывая множественное повреждение клеток и тканей. Совершенно очевидна необходимость поиска лекарственных средств, способных воздействовать на структуру тканей, и в частности клеток, более того, легко транспортируемых через барьер биологических мембран. Поэтому целью нашего исследования является изучение влияния мембранопротекторного препарата «Липин», на воспалительно-дистрофически измененные ткани пародонта в условиях экспериментального пародонтита [15].

Цель и задачи исследования – изучить в условиях эксперимента влияние яичного фосфатидилхолина, модифицированного методом липосомаль-

ной технологии (Липин), на морфологию тканей пародонта у крыс при эндотоксин-индуцированном пародонтите.

Материалы и методы. Опыты проведены на 40 нелинейных белых половозрелых крысах линии WAG (Wistar Albino Glaxo) обоюбого пола в возрасте 5 месяцев с массой тела 215–250 г. Воспаление мягких тканей пародонта моделировали путем 4-х кратного введения бактериального липополисахарида (ЛПС) в ткани десны и зубо-десневого соединения (50 мкрл ЛПС *Escherichia coli*; 1 мг/мл) в область первого маляра нижней челюсти, каждые 48 часов, в течение двух недель [16]. Все животные были разделены на три группы: первая – контроль интактный (КИ) – 12 крыс, вторая – группа сравнения (ГС) – 14 крыс с экспериментальным пародонтитом, третья – основная группа (ОГ) – 14 крыс с экспериментальным пародонтитом. Животным ОГ на фоне патологии в лечебно-профилактических целях проводили инъекции в слизистую оболочку преддверия полости рта 10% водной эмульсии яичного фосфатидил-холина в дозе 22,5 мг/кг (по лецитину), объемом 0,01 мл, а животным ГС – проводили инъекции в слизистую оболочку преддверия полости рта 0,9% изотонического раствора натрия хлорида в том же объеме. Ежедневно, перед проведением манипуляций, животных обследовали.

Состояние тканей пародонта определяли по результатам визуально-инструментального исследования. Выведение крыс из эксперимента проведено на 15 сутки путем щадящей декапитации, с помощью тиопенталового наркоза, в соответствии с положениями Европейской конвенции по защите прав позвоночных животных, используемых для исследований и других научных целей [17]. После чего проводили морфологическое исследование тканей десны и кусочков челюстей с зубами. Материал фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, декальцинировали в 5% растворе 1н муравьиной кислоты. Контроль длительности выдержки суставов в декальцинирующей жидкости проводили путем прокальвания кости препаровальной иглой. После декальцинации образцы проводили по спиртам восходящей концентрации, заливали в целлодин-парафин. Срезы толщиной 6–8 мк окрашивали гематоксилином и эозином. Для более объективной оценки гистологической картины с помощью окуляра- и объект-микрометра на микропрепаратах проводили морфометрические измерения [5]. Ста-

тистическую обработку полученных цифровых данных проводили с помощью пакета статистического анализа электронных таблиц Excel. Достоверность определяли с применением непараметрических методов (Mann-Whitney U Test) [18].

Результаты исследования, их обсуждение. Морфологические изменения, отмеченные в пародонте крыс, на 15-й день, после первого введения им бактериального ЛПС в ткани десны и зубо-десневого соединения, по сравнению с неизмененными тканями пародонта контрольных животных, были выявлены как в мягких, так и твердых тканях. Значительными были изменения, затрагивающие костную ткань. Отмечена резорбция не только компактной пластинки, но и всего альвеолярного гребня. Его вершины теряли конусовидную форму, высота ощутимо снижалась, происходило вакантное замещение образующихся неровностей поверхности разросшейся соединительной тканью. В 2 раза по сравнению с контролем увеличилось и расстояние от точки бифуркации до гребня межкорневой перегородки, что указывает на значительную атрофию альвеолярного гребня. Отмечены единичные

случаи полного рассасывания межзубных перегородок, корни зубов при этом практически обнажены (таблица 1).

В эпителии десны отмечались воспалительные (клеточная инфильтрация субэпителиальной ткани) и дистрофические явления (в клетках шиповатого слоя определялись перинуклеарные отеки, кариопикноз, смазанность клеточных границ). Отмечена очень активная пролиферация эпителиального пласта вглубь фиброзной основы десны и по перидементу (Рисунок 1а). Ни в одном из наблюдений десневой эпителий не крепился выше уровня эмалево-цементной границы (в контроле этот показатель составлял 75%), в 44,4% уровень эпителиального прикрепления совпадал с уровнем эмалево-цементной границы (в контроле таких случаев только 25%), а в 55,5% опускался ниже (в контроле такого не происходит). Величина деструкции (расстояние от эмалево-цементной границы до дна основания пародонтального кармана) варьировала от 40 до 1000 мк. В среднем по группе уровень эпителиального прикрепления был на 13,2 мк ниже эмалево-цементной границы. Во многих микропре-

Таблица 1

Показатели морфометрических исследований тканей пародонта крыс

Показатели	Группы		
	Интактный контроль	Нелеченый контроль	Фосфатидил-холин
Высота десневого сосочка, мк	238,56 ± 22,8	262,0 ± 52,38	217,6 ± 30,0
Расстояние от точки бифуркации до гребня межкорневой перегородки, мк	72,0 ± 10,28	130,0 ± 33,71	94,0 ± 19,48
Фармакологический эффект			62%
Расстояние от эмалево-цементной границы до межзубной перегородки, мк	291,08 ± 30,9	650,0 ± 111,71	514,0 ± 55,71
Фармакологический эффект			37,8%
Число зубов с обнажением корня зуба, (%)	0	55,5	13,63
Фармакологический эффект			75%
Глубина зубо-десневого кармана, мк	166,5 ± 30,3	475,6 ± 142,8 ¹	223,5 ± 30,0 ²
Фармакологический эффект			81%

Примечание: 1 – различия достоверны относительно интактного контроля

2 – различия достоверны относительно нелеченого контроля

Рисунок 1а

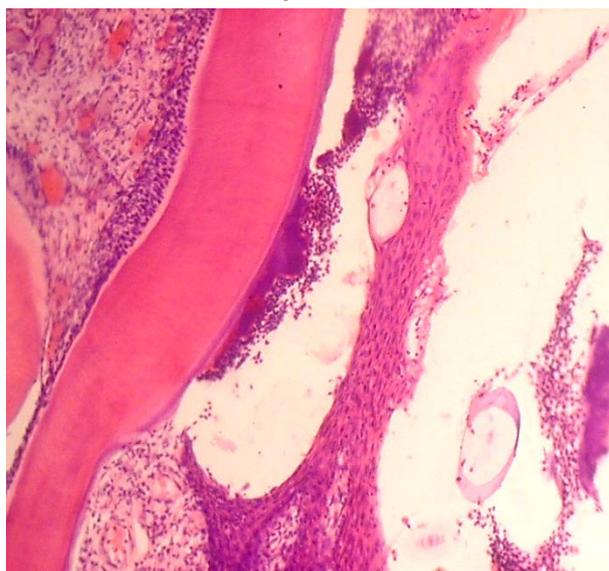


Рисунок 1б

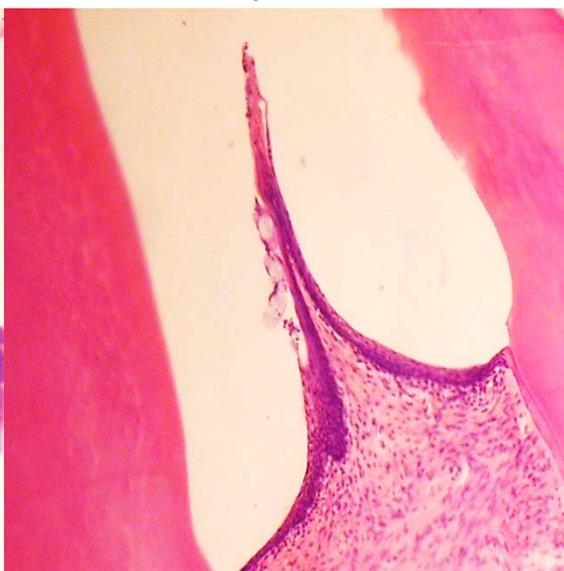


Рис. 1. (а) Пародонт крысы из группы сравнения. Пародонтальный карман, эпителиальный пласт крепится значительно ниже уровня эмалево-цементной границы (обозначена стрелкой), в кармане видны лейкоцитарные массы;

(б) Пародонт крысы из основной группы. Эпителиальный пласт плотно крепится к зубу на уровне эмалево-цементной границы. Гематоксилин и эозин x 150

паратах определялись пародонтальные карманы, в которых эпителиальный пласт доходил до нижней трети корня зуба. При этом эпителий в области пародонтального кармана был утолщен, дисдифференцирован, густо инфильтрован лейкоцитами и прорастал глубоко в ткань перидонтия, образуя колбообразные вздутия. Сосуды микроциркуляторного русла (чаще всего в пульпе) были расширены и содержали в просвете форменные элементы крови.

На фоне лечебно-профилактического введения яичного фосфатидил-холина выраженность патологических процессов в тканях пародонта, спровоцированных введением эндотоксинов, существенно снижалась. Эпителий десны сохраняет относительно нормальное строение, существенного развития дистрофических процессов зафиксировано не было. В первую очередь препарат повлиял на течение воспалительно-дистрофических процессов в мягких тканях пародонта (рисунок 1б). Пародонтальные карманы (в случае, когда уровень эпителиального прикрепления располагался ниже уровня эмалево-цементной границы) отмечены лишь в 13,6% наблюдений, что в 4 раза ниже показателей контрольной патологии. В остальных 86,4% случаев десневой эпителий крепился выше или на уровне эмалево-цементной границы. Фармакологический эффект «Липина» в мягких тканях достигал 75-81%.

Выводы. Таким образом, морфология пародонта после введения эндотоксина и соответствующие морфометрические показатели наглядно свидетельствуют о развитии у крыс, уже на 15-й день экс-

перимента, пародонтита средней степени тяжести с генерализованным характером поражения. Наряду с тяжелыми деструктивными процессами – резорбция межзубных и межкорневых перегородок, в пародонте сильно выражен и воспалительный процесс. Эпителиальный пласт гиперплазирован, инфильтрован клеточными элементами, теряет характерное строение. Итогом нарастания таких воспалительно-дистрофических процессов является разрушение круговой связки и образование очень глубоких пародонтальных карманов. Яичный фосфатидил-холин (Липин) оказывает лечебное и профилактическое действие на все патогенетические звенья патологии пародонта, снижая темпы резорбтивных процессов практически предотвращая развитие воспалительно-дистрофических явлений в мягких тканях пародонта, а также снижает темпы резорбтивных процессов, тем самым замедляя липополисахарид-индуцированную резорбцию альвеолярного отростка.

Перспективы дальнейших исследований. Результаты изучения морфологических проявлений метаболических нарушений в тканях пародонта недостаточно систематизированы и, соответственно – не получили надлежащего клинического применения. Таким образом, для разработки патогенетично обоснованных схем лечения пародонтита необходимо углубленное изучение морфологических характеристик всех звеньев патогенеза, что и определяет перспективы дальнейших исследований.

Список литературы:

1. Машенко И.С. Болезни пародонта. – Дрогобич: Коло, 2003. – 272 с.
2. Герберт Ф. Вольф, Эдит М. Ратейцхак, Клаус Ратейцхак. Пародонтология. Под ред. Г.М. Барера. М: МЕДпресс-информ, – 2008. – 548 с.
3. Быков В.Л. Гистология и эмбриология органов полости рта человека / Быков В. Л. – СПб.: Специальная литература, 1996. – 162 с.
4. Быков В.Л. Функциональная морфология и гистогенез органов полости рта / Быков В.Л. – СПб.: Санкт-Петербург. гос. мед. ун-т, 1995. – 270 с.
5. Стефанова О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / О.В. Стефанова. – К.: Авіцена, 2001. – 528 с.
6. Сукманский О.И. Экспериментальная модель генерализованного пародонтита / О.И. Сукманский, О.А. Макаренко // Вісник стоматології. – 2006. – № 2. – С. 2-3.
7. Петрович Ю.А., Фрусова И.Ф., Оболеский Ю.А., Екимовский А.П. Протеиназы и белки эпителиальной и мезинхемальной тканей при нарушении иннервации // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1988. – № 1. – С. 20-22.
8. Скиба А.В. Метаболические изменения в динамике развития экспериментального сахарного диабета 2 типа у крыс / А.В. Скиба // Вісник стоматології. – 2012. – № 4. – С. 22-25.
9. Kindkova M. Age – depended change in the rat periodontium // J. Periodontal Res. – 1981. – V. 16. – P. 497-503.
10. Крылов А.А. Руководство для лаборантов клинико-диагностических лабораторий / А.А. Крылов, А.М. Канс. – Л.: Медицина, 1987. – 368 с.
11. Воскресенский О.Н., Ткаченко Е.Л. Роль перекисного окисления липидов в патогенезе пародонтита // Стоматология. – 1991. – № 4. – С. 5-10.
12. Цепов Л.М. Факторы агрессии и факторы защиты в патологии пародонта воспалительного характера / Л.М. Цепов, И.И. Николаев, Е.А. Михеева / Пародонтология. – 2004. – № 1(30). – С. 3-7.
13. Питер Феде, Артур Вернино, Джон Грей. Пародонтологическая Азбука. – М.: АЗБУКА, 2003. – 287 с.
14. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии: Практ. руководство. М.: Медицина, – 1971. – С. 539.
15. Дудниченко А.С., Краснопольский Ю.М., Швец В.И. Липосомальные лекарственные препараты в эксперименте и клинике. – Х., 2001. – 100 с.
16. Моисеева Е.Г. Метаболический гомеостаз и иммунная реактивность организма в динамике воспаления в тканях пародонта (экспериментальное исследование): автореферат дис. на соискание ученой степени д.мед.н. спец. 14.00.16 «Патологическая физиология» / Е.Г. Моисеева. – М., 2008. – С. 45.
17. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Strasbourg. Council. Treatu. Series. 1987; 123.52 p.
18. Лопач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лопач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.:Морион, 2000. – 320 с.

Бабай О.Н.

Харківський національний медичний університет

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ЯЄЧНОГО ФОСФАТИДИЛХОЛІНУ, МОДИФІКОВАНОГО МЕТОДОМ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ТЕХНОЛОГІЇ, НА МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ СТАНУ ТКАНИН ПАРОДОНТА ПРИ ЕНДОТОКСИН-ИНДУКОВАНОМУ ПАРОДОНТИТІ

Анотація

Визначення морфологічних змін в тканинах пародонта при експериментальному ендотоксин-індукованому пародонтиті є обґрунтуванням етіопатогенетичної тактики пародонтальної терапії. Отримані дані вказують, що поряд з деструктивними процесами, в пародонті щурів, яскраво виражений запальний процес. Явно виражена гіперплазія і дисдиференціація епітеліального пласта ясен, резорбція альвеолярного гребеня. При використанні, з метою корекції, ліпосомального препарату на основі природного лецитину («Ліпін») встановлено зниження темпів клітинної реакції та зменшення периваскулярного набряку. Застосування яєчного фосфатидилхоліну (препарату «Ліпін») привело до нормалізації морфометричних показників тканин пародонта піддослідних тварин.

Ключові слова: пародонтит, пацюки, яєчний фосфатидилхолін, бактеріальний ендотоксин.

Babay O.M.

Kharkiv National Medical University

EXPERIMENTAL STUDY OF EGG PHOSPHATIDYLCHOLINE EFFECT, MODIFIED BY METHOD OF LIPOSOME TECHNOLOGY, TO MORPHOMETRIC INDICATORS OF PERIODONTAL TISSUE DURING ENDOTOXIN-INDUCED PERIODONTITIS

Summary

Determination of morphological changes in the periodontal tissues at an experimental endotoxin-induced periodontitis is the rationale etiopathogenetic tactics in periodontal therapy. These data indicate that, along with the destructive processes in the periodontal tissues of rats is clearly expressed the inflammatory process. Clearly expressed hyperplasia and dysdifferentiation of gums epithelial layer, resorption of the alveolar ridge. Using for the purpose of correction of liposomal preparation based on natural lecithin («Liping») was established a slowdown of cell reaction and reduction of perivascular edema. Use of the egg phosphatidylcholine (drug «Lipin») resulted to normalization of morphometric parameters of periodontal tissues of experimental animals.

Keywords: periodontitis, rats, egg phosphatidylcholine, bacterial endotoxin.