

ПАТОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ПАРОДОНТИТУ НА ФОНІ ХРОНІЧНОГО ГЕПАТИТУ

Метою роботи було дослідити, як супутнє ураження печінки впливає на перебіг ліпополісахаридного запалення тканин пародонта. Дослідження проведено на білих щурах, яким у тканини пародонта вводили бактеріальний ліпополісахарид. Гепатит викликали шляхом введення тваринам алілового спирту протягом місяця. Ліпополісахаридне запалення пародонта супроводжувалося активацією окиснювальних процесів (у тканинах пародонта і крові зростає вміст ТБК-активних продуктів та окисномодифікованих білків, знижувалася активність супероксиддисмутази, зменшувався рівень церулоплазміну і відновленого глутатіону, мала виражену тенденцію до зниження загальна антиоксидантна активність крові) й нітрооксидативним стресом (у крові й тканинах пародонта збільшувався вміст NO_x). У тварин з пародонтитом, що розвивався на фоні гепатиту, явища оксидативного та нітрооксидативного стресу були значно вираженішими, ніж у щурів, яким аліловий спирт не вводили. Також при поєднаній патології достовірно сильніше пригнічувалися показники антиоксидантної системи.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: пародонтит, хронічний гепатит, оксидативний та нітрооксидативний стрес.

ВСТУП. Захворювання пародонта широко розповсюджені й можуть уражати до 90 % населення. Етіологічним фактором пародонтиту є патогенні мікроорганізми. Відомо, що захворювання пародонта можуть бути пов'язані із серцево-судинними і легеневиими хворобами, діабетом, патологією шлунково-кишкового тракту, але причинно-наслідкові зв'язки не встановлені [9, 16–18, 20]. Важливе місце в патології людини за своїм соціальним і медичним значенням займає хронічний гепатит, що характеризується тенденцією до зростання захворюваності, тяжкістю лікування і серйозним прогнозом. Існують дані, які підтверджують, що захворювання печінки є фактором ризику запальних захворювань ротової порожнини [12, 15, 19, 21]. Механізми, що лежать в основі впливу хвороб печінки на патогенез пародонтиту, особливості перебігу поєднаної патології, можливості корекції порушень метаболізму при пародонтиті, поєднаному з гепатитом, на сьогодні все ще потребують детальнішого вивчення. Усе вищенаведене визначає актуальність дослідження патогенетичних аспектів розвитку запальних захворювань пародонта, асоційованих із хронічним гепатитом.

Метою даної роботи було дослідити в експерименті біохімічні механізми розвитку ліпополісахаридного запалення тканин пародонта на фоні хронічного токсичного гепатиту.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Досліди виконано на 40 безпородних щурах-самцях масою 150–

© В. В. Щерба, М. М. Корда, 2012.

180 г, яких утримували на стандартній дієті. Усіх тварин поділили на 4 групи: 1-ша – контроль (інтактні щури); 2-га – щури, в яких викликали гепатит шляхом внутрішньочеревного введення алілового спирту в дозі 10 мг/кг протягом 2-х тижнів; 3-тя – тварини, в яких викликали запалення пародонта (протягом 2-х тижнів через день вводили в тканини ясен по 40 мікролітрів (1 мг/мл) ліпополісахариду *E. Coli* (ЛПС)); 4-та – щури, яким після закінчення курсу введення алілового спирту вводили ліпополісахарид протягом 2-х тижнів у вищезазначених дозах. Для підтвердження гепатиту на 15-й день експерименту в сироватці крові щурів 2-ї групи визначали активність АлАТ і АсАТ за загальноприйнятою методикою, використовуючи комерційний комплект реактивів. Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом. У гомогенаті тканин пародонта та крові визначали рівень нітратів і нітритів (NO_x) [10], ТБК-активних продуктів (ТБК-АП) [1], окисномодифікованих білків (ОМБ) [5], активність супероксиддисмутази (СОД) [8], каталази (КТ) [4] та вміст відновленого глутатіону (ГSH) [13]. У плазмі крові також визначали вміст церулоплазміну (ЦП) [2] і загальну антиоксидантну активність (ЗАА) [11].

Результати виражали як середнє±SEM з 10 експериментів. Зміни $p < 0,05$ розглядалися як статистично достовірні. Статистичний аналіз виконували, використовуючи стандартні статистичні програми і t-критерій Стюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Перебіг будь-яких запальних захворювань, у тому чис-

лі тканин пародонта, тісно пов'язаний із порушеннями захисних систем організму, зокрема системи антиоксидного захисту, а також з розвитком оксидативного та нітрооксидативного стресу. Тому оцінка стану антиоксидної системи, процесів вільнорадикального окиснення і системи оксиду азоту набуває важливого значення як у вивченні механізмів формування, так і в розробці методів лікування пародонтиту.

Про інтенсивність процесів ліпопероксидації ми судили за вмістом у сироватці крові й пародонті ТБК-АП. Надмірне утворення вільних радикалів призводить також до окисної модифікації білків. Інтенсивність даного процесу оцінювали за вмістом у тканинах альдегідо- і кетоніохідних, що утворюються при дії активних радикалів на амінокислотні залишки в молекулах білків. З даних, наведених у таблиці, видно, що введення в тканини ясен ЛПС призводило до достовірного (в 1,4 раза) збільшення вмісту ТБК-АП як у плазмі крові, так і в пародонті. Моделювання гепатиту також призводило до різкого зростання рівня ТБК-активних продуктів в плазмі крові. Введення тваринам ЛПС викликало окисну модифікацію як нейтральних, так і лужних амінокислот. Вміст у тканинах пародонта 2,4-динітрофенілгідразонів, що визначалися при 310 нм (відображає концентрацію альдегідо- і кетоніохідних нейтрального характеру), підвищився в 1,6 раза порівняно зі здоровими тваринами, а таких, що визначалися при 430 нм (альдегідо- і кетоніохідні основного характеру), зріс у 2,0

рази. У плазмі крові обидва показники також достовірно збільшувались. У щурів з гепатитом інтенсивність окисної модифікації білків була особливо виражена в плазмі крові (вміст $ОМБ_{310}$ і $ОМБ_{430}$ зростав, відповідно, у 2,2 і 2,5 раза), а в тканинах пародонта ці зміни виявилися недостовірними. Найбільшою мірою явища оксидативного стресу проявилися в щурів, у яких моделювали ліпополісахаридне запалення пародонта на фоні гепатиту. В цієї групи тварин, порівняно з інтактними щурами, активність процесів ліпопероксидації зростала у 2,3 раза в крові та в 1,7 раза у тканинах пародонта. Концентрація модифікованих вільними радикалами білків під впливом ЛПС і алілового спирту підвищувалася в 2,7 раза в крові й більше ніж у 3 рази в яснах щурів.

Отже, можемо стверджувати, що оксидативний стрес є одним з тих фундаментальних механізмів, що відіграють важливу роль у патогенезі запалення ясен, викликаного токсинами грамнегативної мікрофлори. Особливо активізуються вільнорадикальні процеси в тканинах пародонта за умов, коли токсична дія ліпополісахариду проявляється на тлі гепатиту, викликаного некрозогенною отрутою – аліловим спиртом.

Відомо, що в патогенезі багатьох запальних захворювань важливу роль відіграє оксид азоту. В роботі [7] було показано, що при пародонтиті в тканинах ясен активність індукбельної NO-синтази різко зростає. Як свідчать результати, наведені в таблиці, введення в

Таблиця – Показники інтенсивності оксидативного і нітрооксидативного стресу в плазмі крові й тканині пародонта щурів з ліпосахаридним запаленням пародонта на фоні гепатиту

Показник	Група тварин			
	контроль	аліловий спирт	ЛПС	ЛПС+аліловий спирт
Плазма крові				
NO_x , ммоль/л	2,75±0,15	4,80±0,25*	3,85±0,18*	6,30±0,46*#
ТБК-АП, мкмоль/л	42,60±3,04	84,70±6,32*	58,60±3,40*	98,30±5,45*#
$ОМБ_{310}$, мкмоль/мг білка	0,94±0,07	2,05±0,20*	1,28±0,08*	2,60±0,22*#
$ОМБ_{430}$, мкмоль/мг білка	0,50±0,02	1,25±0,08*	0,85±0,06*	1,68±0,14*#
КТ, мкат/л	0,44±0,03	0,68±0,03*	0,55±0,04	0,65±0,06*
ЦП, г/л	0,26±0,01	0,36±0,03*	0,22±0,02	0,38±0,03*#
GSH, ммоль/л	3,20±0,18	1,15±0,13*	2,70±0,20	0,70±0,07*#
ЗАА, % гальмування утворення ТБК-АП	58,30±4,10	37,30±2,15*	47,34±3,12	25,30±2,50*#
Тканини пародонта				
NO_x , ммоль/кг	0,96±0,05	1,18±0,10	1,64±0,12*	2,54±0,20*#
ТБК-АП, мкмоль/кг	2,75±0,20	2,94±0,20	3,95±0,22*	4,85±0,22*#
$ОМБ_{310}$, мкмоль/мг білка	3,62±0,25	3,90±0,25	5,95±0,40*	9,86±0,65*#
$ОМБ_{430}$, мкмоль/мг білка	2,65±0,22	2,88±0,20	5,36±0,40*	7,44±0,52*#
СОД, од.	0,26±0,02	0,19±0,02	0,15±0,01*	0,09±0,01*#
КТ, мкат/мг білка	1,25±0,10	1,22±0,10	1,05±0,09	0,72±0,03*#
GSH, ммоль/кг	184,4±10,40	168,2±9,60	118,5±7,20*	85,60±5,30*#

Примітка. * – зміни достовірні порівняно з показниками інтактних тварин; # – зміни достовірні порівняно з показниками тварин із пародонтитом.

тканини ясен ЛПС підвищувало вміст нітритів і нітратів у крові й тканинах пародонта, відповідно, в 1,4 і 1,7 раза. Аліловий спирт також викликав зростання вмісту NO_x у сироватці крові (в 1,7 раза), проте достовірно не змінював даного показника в тканинах пародонта. Моделювання ліпополісахаридного запалення ясен на фоні гепатиту спричиняло різке підвищення продукції оксиду азоту (вміст нітритів і нітратів у крові зріс у 2,3 раза, а в тканинах пародонта – у 2,6 раза). З огляду на такі результати, можна стверджувати, що порушення обміну NO , поряд з оксидативним стресом, є однією з ключових ланок патогенезу пародонтиту, який перебігає на фоні гепатиту. Очевидно, під впливом ЛПС відбувається гіперекспресія індукцибельної NO -синтази в пародонті, в результаті чого синтезується надмірна кількість оксиду азоту. Відомо, що NO також може виконувати корисну функцію при пародонтиті як неспецифічний фактор захисту від бактерій. Вироблення макрофагами NO при запаленні пародонта стимулює разом з іншими радикалами реакції фагоцитозу [14]. Одночасно дефіцит NO сприяє розмноженню збудників у тканинах пародонта, що призводить до хронізації патологічного процесу. Різке збільшення рівня NO_x в пародонті при дії ЛПС на фоні гепатиту можна пояснити тим фактом, що під впливом алілового спирту уражається печінка, в результаті чого утворюється велика кількість ендотоксинів, що стимулюють вироблення цитокінів, які здатні стимулювати iNOS , в тому числі й у пародонті.

Активність радикальних реакцій у біологічних тканинах залежить не тільки від швидкості формування вільних радикалів, але і від здатності захисних систем їх перехоплювати і гасити. З літературних даних відомо, що при пародонтиті відбуваються виражені порушення системи антиоксидного захисту в біологічних рідинах ротової порожнини [3, 6]. Як видно з вказаних у таблиці даних, після введення ЛПС активність одного з основних антиоксидних ферментів організму – СОД , що відповідає за знешкодження супероксиданіонрадикала і

тим самим блокує ланцюг ліпопероксидації ще на стадії ініціації, зменшилася в тканинах ясен у 1,7 раза. Активність КТ мала тенденцію до зниження, а вміст GSH зменшувався в 1,5 раза. Необхідно відмітити, що гепатит не супроводжувався достовірними змінами показників антиоксидної системи у тканинах пародонта. У плазмі крові після введення ЛПС активність показників антиоксидної системи достовірно не змінювалася, хоча і прослідковувалася чітка тенденція до її зниження. У щурів з гепатитом мало місце достовірне збільшення активності КТ і вмісту ЦП у сироватці крові, рівень GSH , а також ЗАА плазми крові, навпаки, різко зменшувалися. Відомо, що велика кількість КТ міститься в гепатоцитах. Можливо, підвищення активності ферменту в крові є результатом його посиленого виходу з печінки внаслідок цитолізу гепатоцитів під впливом алілового спирту. Аліловий спирт, метаболізуючись у печінці, призводить до утворення реактивного метаболіту акролеїну. Зниження вмісту GSH , яке ми спостерігаємо після введення токсину, може бути наслідком токсичного впливу акролеїну на сульфгідрильні групи.

Максимальні зміни показників функціонування антиоксидної системи, як і параметрів, що характеризують інтенсивність окиснювальних процесів, зафіксовано у тварин з ліпополісахаридним запаленням на тлі гепатиту. В цьому випадку вміст GSH знижувався у крові в 4,5 раза, а ЗАА плазми – більше ніж у 2,3 раза. Різко зменшувались активність СОД (у 2,9 раза) і вміст GSH у пародонті (в 2,2 раза). Отже, можна припустити, що активація окиснювальних процесів при пародонтиті на фоні гепатиту визначається пригніченням функціонального стану системи антиоксидного захисту.

ВИСНОВОК. У патогенезі ліпополісахаридного запалення тканин пародонта важлива роль належить активації окиснювальних процесів і гіперпродукції оксиду азоту. Перебіг пародонтиту суттєво погіршується при хронічному ураженні печінки аліловим спиртом.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Андреева Л. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41–43.
2. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск : Беларусь, 1982. – 311 с.

3. Косенко К. Н. Показатели свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в ротовой жидкости больных генерализованным пародонтитом разных возрастных групп / К. Н. Косенко, Б. Б. Седлецкая, Т. П. Терешина // Вісн. стоматол. – 2004. – № 4. – С. 27–30.

4. Метод определения активности каталазы /

- М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
5. Мещишен І. Ф. Метод визначення окислювальної модифікації білків плазми (сироватки) крові / І. Ф. Мещишен // Буковинський мед. вісн. – 1998. – 2, № 1. – С. 156–158.
6. Плотникова В. Г. Влияние лизоцимсодержащих препаратов на прооксидантно-антиоксидантный статус крыс при экспериментальном пародонтите / В. Г. Плотникова, О. А. Макаренко // Вісн. стоматол. – 2006. – № 2. – С. 20–25.
7. Чайковська І. В. Роль порушень метаболізму оксиду азоту в патогенезі генералізованого пародонтиту / І. В. Чайковська // Арх. клін. експерим. мед. – 2008. – 17 (2). – С. 226–228.
8. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологическом материале / С. Чевари, И. Чабба, Й. Секей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
9. Amano A. Cardiovascular diseases and periodontal diseases / A. Amano, H. Inaba // Clin. Calcium. – 2012. – 22, № 1. – P. 43–48.
10. A spectrophotometric method for the direct detection and quantitation of nitric oxide, nitrite, and nitrate in cell culture media / L. Ridhour, J. E. Sim, M. Hayward [et al.] // Anal. Biochem. – 2000. – 281. – P. 223–229.
11. Assay using brain homogenate for measuring the antioxidant activity of biological fluids / J. Stock, J. M. Gutteridge, R. J. Sharp, I. L. Dormandy // Clin. Sci. and Mol. Med. – 1974. – 47. – P. 215–222.
12. Dalgic B. Pyogenic liver abscess and peritonitis due to *Rhizopus oryzae* in a child with Papillon-Lefevre syndrome / B. Dalgic, A. Bukulmez, S. Sari // Eur. J. Pediatr. – 2011. – 170, № 6. – P. 803–805.
13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups / G. L. Ellman // Arch. of Bioch. and Biophys. – 1959. – 82. – P. 70–77.
14. Evaluation of the activity of leukocytes during experimental periodontitis in the monkey / G. Gagnot, J. F. Michel, E. Legall [et al.] // J. Biol. Buccale. – 1988. – 16 (1). – P. 25–30.
15. Hepatitis B and C virus infections among patients with gingivitis and adult periodontitis: seroprevalence and public health importance / A. G. Farghaly, G. A. Mansour, N. H. Mahdy, A. Yousri // J. Egypt. Public Health Assoc. – 1998. – 73, № 5–6. – P. 707–735.
16. Herring M. E. Periodontal disease and control of diabetes mellitus / M. E. Herring, S. K. Shah // J. Am. Osteopath. Assoc. – 2006. – 106 (7). – P. 416–421.
17. Nagata T. Relationship between diabetes and periodontal disease / T. Nagata // Clin. Calcium. – 2009. – 19 (9). – P. 1291–1298.
18. Prevalence of *Helicobacter pylori* detected by polymerase chain reaction in the oral cavity of periodontitis patients / E. C. Gebara, C. Pannuti, C. M. Faria [et al.] // Oral Microbiol. Immunol. – 2004. – 19, № 4. – P. 277–280.
19. Relationship between periodontitis and hepatic abnormalities in young adults / M. Furuta, D. Ekuni, T. Yamamoto [et al.] // Acta Odontol. Scand. – 2010. – 68, № 1. – P. 27–33.
20. Shrihari T. G. Potential correlation between periodontitis and coronary heart disease—an overview / T. G. Shrihari // Gen. Dent. – 2012. – 60, № 1. – P. 20–24.
21. Stage of hepatocellular carcinoma is associated with periodontitis / N. Tamaki, A. Takaki, T. Tomofuji [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2011. – 38, № 11. – P. 1015–1020.

В. В. Щерба, М. М. Корда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ ПАРОДОНТИТА НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Резюме

Целью работы было исследовать, как сопутствующее поражение печени влияет на течение липополисахаридного воспаления тканей пародонта. Исследование проведено на белых крысах, которым в ткани пародонта вводили липополисахарид. Гепатит вызывали путем введения животным аллилового спирта на протяжении месяца. Липополисахаридное воспаление пародонта сопровождалось активацией окислительных процессов (в тканях пародонта и крови возрастало содержание ТБК-активных продуктов и окислительномодифицированных белков, понижалась активность супероксиддисмутазы, уменьшался уровень церулоплазмينا и восстановленного глутатиона, имела выраженную тенденцию к снижению общая антиоксидантная активность крови) и нитрооксидативным стрессом (в крови и тканях пародонта увеличивалось содержание NO_x). У животных с пародонтитом, который развивался на фоне гепатита, явления оксидативного и нитрооксидативного стресса были значительно более выражены, чем у крыс, которым аллиловый спирт не вводили. Также при сочетанной патологии достоверно сильнее угнетались показатели антиоксидантной системы.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: пародонтит, хронический гепатит, оксидативный и нитрооксидативный стресс.

PATHOGENETIC PECULIARITIES OF PERIODONTITIS IN CHRONIC HEPATITIS

Summary

The aim of the study was to investigate how chronic hepatitis affects the lipopolysaccharide inflammation of periodontal tissues. The study was conducted on white rats. Lipopolysaccharide was injected into the periodontal tissue. Hepatitis was caused by allyl alcohol administered for 1 month. Lipopolysaccharide inflammation of gum tissue was accompanied by oxidative and nitrooxidative stress (the content of NO_x, TBA-active products and oxidative-modified proteins in periodontal tissues and blood was increased). Superoxide dismutase activity decreased in the periodontal tissues, catalase activity did not change significantly in periodontium and slightly increased in plasma, and ceruloplasmin level decreased in the blood. There was also a significant decrease in reduced glutathione content in both tissues. Total antioxidant activity of blood had a pronounced downward trend. In animals with periodontitis, which developed on the background of hepatitis, the oxidative and nitrooxidative stress was much more pronounced than in rats without hepatitis. Also, in combined pathology the parameters of antioxidant system deteriorated much more noticeable.

KEY WORDS: **periodontitis, chronic hepatitis, oxidative and nitrooxidative stress.**

Отримано 02.04.12

Адреса для листування: М. М. Корда, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.