

### МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТКАНИН ПАРОДОНТА ЩУРІВ З ЛІПОПОЛІСАХАРИДНИМ ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНІ ГЕПАТИТУ

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТКАНИН ПАРОДОНТА ЩУРІВ З ЛІПОПОЛІСАХАРИДНИМ ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНІ ГЕПАТИТУ – Показано, що при моделюванні пародонтиту ендотоксинем грамнегативної мікрофлори ліпополісахаридом у тканинах пародонта щурів виникають запально-дистрофічні зміни, що значно посилюються при розвитку пародонтиту на тлі супутнього гепатиту. При використанні з метою корекції високоселективного інгібітора iNOS 1400W і коферменту тетрагідробіоптерину встановлено зниження судинної реакції та часткове зменшення дистрофічних змін. Застосування при пародонтиті на фоні гепатиту неселективного інгібітора NO синтази N-нітро-L-аргініну не впливало суттєво на морфологічну структуру тканин пародонта щурів.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА КРЫС С ЛИПОПОЛИСАХАРИДНЫМ ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ ГЕПАТИТА – Показано, что при моделировании пародонтита эндотоксином грамотрицательной микрофлоры липополисахаридом в тканях пародонта крыс возникают воспалительно-дистрофические изменения, которые значительно усиливаются при развитии пародонтита на фоне сопутствующего гепатита. При использовании с целью коррекции высокоселективного ингибитора iNOS 1400W и кофермента тетрагидробіоптерина установлено уменьшение сосудистой реакции и частичное уменьшение дистрофических изменений. Применение при пародонтите на фоне гепатита неселективного ингибитора NO синтазы N-нітро-L-аргініна не влияло существенно на морфологическую структуру тканей пародонта крыс.

MORPHOLOGICAL CHANGES OF PARODONTIUM TISSUES IN RATS WITH LIPOPOLISACCHARIDE PARODONTITIS ON THE HEPATITIS BACKGROUND – It is presented that the inflammatory and degenerative changes are developed in parodontium tissues of rats with parodontitis induced by the endotoxin of gram-negative microflora lipopolisaccharide. Morphological changes are markedly enhanced in the development of parodontitis on the background of concomitant hepatitis. Highly selective iNOS inhibitor 1400W and coenzyme tetrahydrobiopterine partially reduced the vascular response and degenerative changes. Non-selective NO synthase inhibitor N-nitro-L-arginine did not affect significantly the morphological structure of parodontium tissues of rats with parodontitis on the hepatitis background.

**Ключові слова:** пародонтит, гепатит, морфологічні зміни.

**Ключевые слова:** пародонтит, гепатит, морфологические изменения.

**Key words:** parodontitis, hepatitis, morphological changes.

**ВСТУП** Запальні захворювання тканин пародонта є однією з найважливіших проблем сучасної стоматології. За даними епідеміологічних досліджень, у різних країнах світу від 50 до 90 % населення страждає від гінгівіту чи пародонтиту [1, 2]. Основним етіологічним фактором запальних процесів у пародонті є грамнегативні мікроорганізми, стінка яких містить ліпополісахарид (ЛПС), що здатний стимулювати вироблення прозапальних факторів (цитокінів), які, у свою чергу, виражено активують індукцибельну форму NO синтази (iNOS), в результаті чого утворюється надмірна кількість оксиду азоту [3, 4]. Тому нітрооксидативний стрес є важливою ланкою у патогенезі розвитку пародонтиту [5, 6].

Доведено взаємозв'язки між захворюваннями пародонта і хворобами печінки [7, 8]. Було також продемонстровано роль порушень обміну оксиду азоту в патогенезі гострих та хронічних гепатитів [9].

Проблема морфогенезу пародонтиту залишається на сьогодні невирішеною. В клінічних умовах неможливо отримати фрагменти тканин пародонта для дослідження на різних стадіях захворювання. Відсутні дані про морфологічні зміни у тканинах пародонта, що розвивається на фоні супутньої патології печінки.

Метою даної роботи було дослідити морфогенез тканин пародонта при відтворенні хронічного пародонтиту на тлі гепатиту і вивчити можливість корекції морфологічних змін за допомогою модуляторів синтази оксиду азоту.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Експериментальні дослідження проведено на 48 статевозрілих щурах-самцях відповідно до науково-практичних рекомендацій з утримання лабораторних тварин і роботи з ними та положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та наукових цілей. Усіх тварин поділили на 6 груп: перша – контроль (інтактні щури); друга – щури з пародонтитом. У тварин цієї групи викликали генералізований пародонтит шляхом введення в тканини ясен ЛПС Е. Соі протягом 2-х тижнів через день по 40 мкл (1 мг/мл) [10]; третя – щури з пародонтитом на фоні гепатиту. Гепатит викликали шляхом внутрішньочеревного введення алілового спирту (АС) у дозі 10 мг/кг протягом 2-х тижнів через день. Починаючи з 15 доби експерименту щурам вводили в тканини ясен ЛПС як описано вище; четверта – щури з пародонтитом на тлі гепатиту, яким, починаючи з 15 доби експерименту, паралельно з ЛПС, щоденно протягом 14 діб вводили внутрішньочеревно неселективний інгібітор NO синтази N-нітро-L-аргінін (L-NNA) (“Sigma-Aldrich”, США) у дозі 50 мг/кг [11]; п'ята – щури з пародонтитом на фоні гепатиту, яким, починаючи з 15 доби експерименту, паралельно з ЛПС, щоденно протягом 14 діб вводили внутрішньочеревно високоселективний інгібітор індукцибельної NO синтази N-(3-(Амінометил)бензил)ацетамідин (1400W) у дозі 1,5 мг/кг (“Sigma-Aldrich”, США) [12]; шоста щури з пародонтитом на тлі гепатиту, яким, починаючи з 15 доби експерименту, паралельно з ЛПС, щоденно внутрішньочеревно протягом 2-х тижнів вводили кофермент NO синтази тетрагідробіоптерин у дозі 20 мкг/кг.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під ефірним наркозом на 30 добу експерименту. Видаляли фрагмент верхньої щелепи, фіксували в 10 % нейтральному формаліні, проводили декальцинацію, готували гістологічні препарати за загальноприйнятою методикою. Просочування препаратів парафінном здійснювали при температурі 56° протягом 2 год. Далі проводили заливку матеріалу в парафінові блоки. Залитий у блоки матеріал фіксували і робили

гістологічні зрізи на санному мікротомі МС-1. Зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксилином і еозином та досліджували методом світлової мікроскопії на світловому мікроскопі "Olimpus", обладнаному системою відеоаналізу зображень.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ** При гістологічному дослідженні структур пародонта у контрольних тварин виявлено, що вони представлені компонентами цементу, періодонта, стінкою зубної альвеоли та яснами (рис. 1). У досліджуваних мікропрепаратах періодонт сформований щільною волокнистою тканиною у вигляді товстих колагенових пучків, які мають хвилеподібний хід. Одним кінцем вони вплітаються у цемент, а іншим – в альвеолярний відросток. Порожнини між зв'язками вповнені неоформленою сполучною тканиною.



Рис. 1. Структура тканин пародонта контрольної тварини. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

Клітинними компонентами періодонта є фібробласти, чисельність яких у контрольній групі тварин є помірною. Остеобласти в невеликій кількості розташовані на поверхні альвеолярного відростка, формують безперервний шар і виробляють остеоїд, що мінералізується. Цементобласти зосереджені в основному близько краю періодонта, зверненого до кореня зуба, формують цемент, який також поступово мінералізується.

У лакунах і на поверхні кістки й кореня зуба виявляють поодинокі остеобласти та одонтокласти. В сполучній тканині періодонта визначають невелику кількість макрофагів та тканинних базофілів. Також спостерігають шар епітеліальних клітин, що оточують корінь зуба. Структура їх звичайна.

На рисунку 2 показано гістологічну структуру тканин пародонта дослідної групи тварин із пародонти-



Рис. 2. Структура тканин пародонта у щурів з ліпополісахаридним пародонтитом. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

том, викликаним дією ліпополісахариду. Виявлено, що періодонт представлений сформованою щільною волокнистою тканиною у вигляді товстих колагенових пучків. Хвилеподібний хід волокон порушувався за рахунок розвитку мукоїдного набряку. Проте колагенові волокна були щільно прикріплені до цементу та альвеолярного відростка. Частина їх пов'язана зі стінкою кровоносних судин, а скупчення міститься в пришийковій та навколоверхівковій ділянках. Довкола верхівки кореня спостерігають формування щільної сітки волокон із вираженими ознаками мукоїдного набряку. Порожнини між зв'язками вповнені неоформленою сполучною тканиною, площа якої різко збільшена за рахунок розширення та повнокров'я судин.

Клітини сполучної тканини періодонта представлені фібробластами, тканинними базофілами, плазмодцитами, остеобластами та остеокластами. На тлі розвитку запальної реакції, зумовленої дією мукополісахаридів, спостерігають збільшення кількості макрофагів та тканинних базофілів. Виявляють також вогнищеві скупчення епітеліальних клітин – залишків епітелію зубної емалі та накопичення цементиклів, що візуалізуються навколо шару цементу.

При моделюванні ліпополісахаридного пародонтиту на тлі гепатиту встановлено, що зубоясенні волокна зазнавали виражених змін (рис. 3). Частина волокон, що огинають ясенну кишеню в поверхневому напрямку, втрачають свою горизонтальну орієнтованість, їх структура візуально ставала розмитою, нечіткою. Зубноперіостальні волокна все ще залишаються сформованими у щільні пучки, проте напрям цих волокон, їх структура стають стертими.

Хвилеподібний хід волокон порушується за рахунок розвитку мукоїдного набряку. Лише окремі колагенові волокна залишаються щільно прикріплені до цементу та альвеолярного відростка. Частина їх, що пов'язана зі стінкою кровоносних судин, розволокнюється, формуючи набряк. Довкола верхівки ко-



Рис. 3. Структура тканин пародонта у щурів з ліпополісахаридним пародонтитом на фоні супутнього гепатиту. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

рення у сітці колагенових волокон мав місце виражений мукоїдний набряк, що місцями переходив у фібриноїдний. Порожнини між зв'язками виповнювались неоформленою сполучною тканиною, площа якої продовжувала збільшуватись за рахунок розширення та повнокров'я судин, формуючи периваскулярний набряк. Такі дистрофічні зміни потенціують клітинну реакцію стромы, що проявляється у збільшенні кількості фібробластів, макрофагів та тканинних базофілів. Поряд із цим, спостерігають появу лейкоцитів. Мають місце вогнищеві скупчення епітеліальних клітин – залишків епітелію зубного емалевого органа, та накопичення цементиклів, що візуалізуються навколо шару цементу.

На рисунку 4 показано сагітальний зріз кістки нижньої щелепи тварини зі змодельованим пародонтитом на тлі гепатиту, в яку з метою корекції вводили неселективний інгібітор NO синтази N-нітро-L-аргінін. Морфологічна картина у тварин цієї групи практично не відрізнялася від такої у щурів з пародонтитом на фоні гепатиту, яким корекцію не проводили.

На поперечному зрізі пародонта щурів з ліпополісахаридним пародонтитом, яким з метою корекції вводили високоселективний інгібітор NO синтази 1400W, виявлено, що одні волокна мають радіальний напрям, а інші – тангенціальний, складаються із фібрил сполучної тканини й у своєму складі представлені ретикулярними та еластичними волокнами (рис. 5).

Хвилеподібний хід колагенових волокон частково відновлюється, особливо в ділянці цементу. Проте у ділянці стінок зубних альвеол в колагенових волокнах все ще має місце виражений мукоїдний набряк. Порожнини між зв'язками виповнюються неоформленою сполучною тканиною, площа якої залишається збільшеною за рахунок розширення та повнокров'я дрібних судин, що відображається у повнокров'ї капілярів та незначному периваскулярному набряку. Такі дистрофічні зміни супроводжуються клітинною реакцією стромы, що проявляється у збільшенні кількості фібробластів, макрофагів та тканинних базофілів. Поряд із цим, виявляється помірна кількість лейкоцитів. Мають місце вогнищеві скупчення епітеліальних клітин

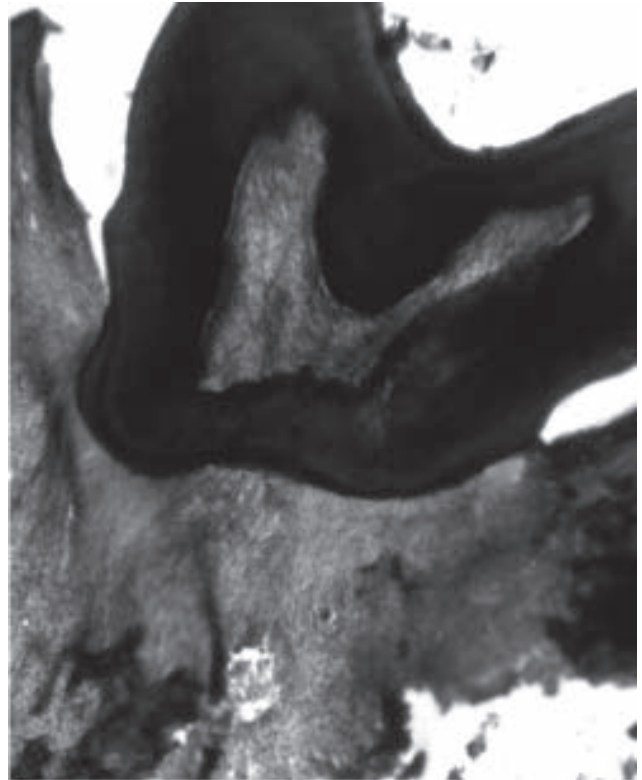


Рис. 4. Структура тканин пародонта у щурів з ліпополісахаридним пародонтитом на фоні супутнього гепатиту при застосуванні з метою корекції N-нітро-L-аргініну. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

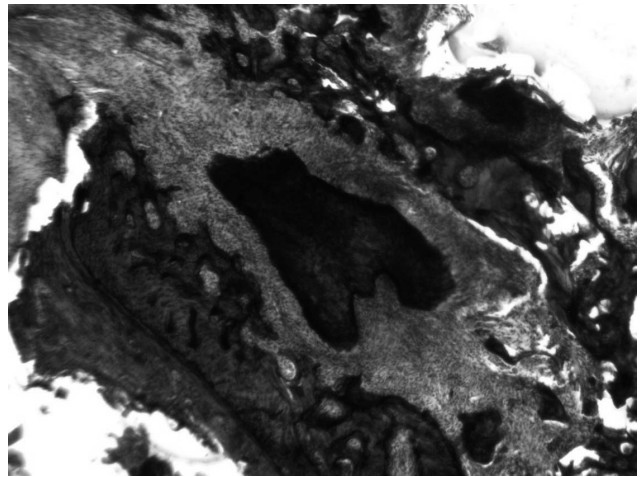


Рис. 5. Структура тканин пародонта у щурів з ліпополісахаридним пародонтитом на фоні супутнього гепатиту при застосуванні з метою корекції 1400W. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

– залишків епітелію зубного емалевого органа та накопичення цементиклів, що візуалізуються навколо шару цементу.

При гістологічному дослідженні тканин пародонта щурів зі змодельованим пародонтитом та корекцією коферментом NO синтази тетрагідробіоптерином встановлено, що косі та зубоальвеолярні волокна складають основну масу фібрил пародонта (рис. 6). Вони направляються не перериваючись від цементу зуба

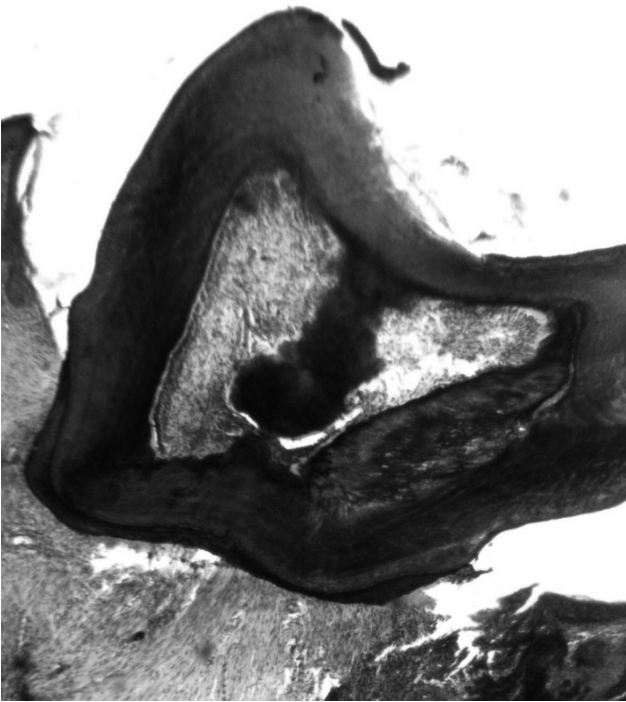


Рис. 6. Структура тканин пародонта у щурів з ліпополісахаридним пародонтитом на фоні супутнього гепатиту при застосуванні з метою корекції тетрагідробіоптерину. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 100$ .

косо вгору до кістки альвеоли. Волокна влітаються у кісткову частину альвеоли та в речовину цементу.

Спостерігають також частково відновлену структуру верхівкових волокон від кореня зуба до дна альвеоли. Хвилеподібний хід волокон частково відновлюється, проте мають місце ознаки мукоїдного набряку. Навколо верхівки кореня у сітці колагенових волокон мукоїдний набряк дещо зменшується. У пухкій сполучній тканині, що візуалізується між зв'язками, все ще спостерігають повнокровні капіляри, проте ці явища є вогнищевими. Про затихання запального процесу свідчить зниження клітинної реакції та зменшення периваскулярного набряку. Кількість фібробластів дещо збільшується, проте зменшується кількість тканинних базофілів та макрофагів. Шар епітеліоцитів залишається збереженим.

**ВИСНОВКИ** 1. При відтворенні пародонтиту ліпополісахаридом у тканинах пародонта виникають запально-дистрофічні зміни. Сполучна тканина пародонта характеризується розвитком білкової судинно-стромальної дистрофії. При розвитку пародонтиту на фоні супутнього гепатиту запальні й дистрофічні зміни в тканинах пародонта посилюються.

2. При використанні з метою корекції пародонтиту на тлі гепатиту високоселективного інгібітора NO синтази 1400W і коферменту тетрагідробіоптерину встановлено зменшення судинної реакції та часткове зменшення дистрофічних змін.

3. Застосування при пародонтиті на фоні гепатиту неселективного інгібітора NO синтази N-нітро-L-аргініну не впливало суттєво на морфологічну структуру тканин пародонта щурів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Clinical review: Association between metabolic syndrome and periodontitis: a systematic review and meta-analysis / L. Nibali, N. Tatarakis, I. Needleman [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. – Vol. 98, № 3. – P. 913–920.
2. Taba M. Jr. Periodontal disease: a genetic perspective / M. Jr. Taba, S. L. Souza, V. C. Mariguela // *Braz. Oral. Res.* – 2012. – 26 (suppl 1). – P. 32–38.
3. Ramberg P. Bacterial colonization during de novo plaque formation / P. Ramberg, S. Sekino, N. G. Uzel // *J. Clin. Periodontol.* – 2003. – Vol. 30. – P. 990–995.
4. Цепов Л. М. Факторы агрессии и факторы защиты в патологии пародонта воспалительного характера / Л. М. Цепов, А. И. Николаев, Е. А. Михеева // *Пародонтология.* – 2004. – № 1(30). – С. 3–7.
5. Чайковська І. В. Роль порушень метаболізму оксиду азоту в патогенезі генералізованого пародонтиту / І. В. Чайковська // *Арх. клін. експерим. мед.* – 2008. – Т. 17, № 2. – С. 226–228.
6. Lipid A-associated proteins from *Porphyromonas gingivalis* stimulate release of nitric oxide by inducing expression of inducible nitric oxide synthase / E. Y. Choi, Y. M. Hwang, J. Y. Lee [et al.] // *J. Periodontol. Res.* – 2007. – Vol. 42, N 4. – P. 350–360.
7. Stage of hepatocellular carcinoma is associated with periodontitis / N. Tamaki, A. Takaki, T. Tomofuji [et al.] // *J. Clin. Periodontol.* – 2011. – Vol. 38, N 11. – P. 1015–1020.
8. Relationship between periodontitis and hepatic abnormalities in young adults / M. Furuta, D. Ekuni, T. Yamamoto [et al.] // *Acta Odontol. Scand.* – 2010. – Vol. 68, N 1. – P. 27–33.
9. Yaroshenko T. Role of nitric oxide in chemically induced hepatotoxicity / T. Yaroshenko, M. Korda // *Ann. Univers. Mariae Curie-Sklodowska.* – 2006. – Vol. 19, N 3. – P. 143–146.
10. Моисеева Е. Г. Метаболический гомеостаз и иммунная реактивность организма в динамике воспаления в тканях пародонта (экспериментальное исследование) : автореф. дис. на соискание ученой степени доктора мед. наук : спец. 14.00.16 "Патологическая физиология" / Е. Г. Моисеева. – М., 2008. – 45 с.
11. Ермак Е. Ю. Исследование морфологической картины пульпы зубов и периодонта при применении донора оксида азота и блокатора NO-синтазы при эмоциональном стрессе / Е. Ю. Ермак, В. Н. Олесова, В. В. Париллов // *Сибир. мед. журн.* – 2012. – Т. 27, № 1. – С. 146–150.
12. Корда М. М. Вплив інгібітора індукцибельної синтази оксиду азоту N-(3-(Амінометил)бензил)ацетамідину на гепатотоксичність алілового спирту / М. М. Корда, Т. Я. Ярошенко // *Мед. хім.* – 2004. – Т. 6, № 3. – С. 114–116.

Отримано 21.10.13