

ВЛИЯНИЕ ДЕСТРУКЦИИ КОЛЛАГЕНОВОГО МАТРИКСА НА СОСТОЯНИЕ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ

Захватов А.Н., Захаркин И.А., Елисейкина Е.В., Тамбовцев С.А., Курмышев А.С., Паршина А.Ю., Акашева А.Н.

ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева», Саранск, e-mail: zachvatan78@mail.ru

Определение роли деструкции коллагеновых фибрилл в деградации соединительнотканного матрикса и их влияния на состояние тканей пародонта позволяет разработать новые диагностические методы, а также открывает возможности внедрения новых лечебных технологий в клиническую практику. В работе проведены оценка и установление причинных взаимосвязей между показателями метаболизма коллагена и состоянием тканей пародонта при экспериментальном пародонтите. Экспериментальное исследование проведено на 45 белых беспородных крысах массой 250–300 г путем воспроизведения модели экспериментального пародонтита (Патент RU № 2625295 от 12.07.2017). Исследование метаболизма коллагена проводилось по показателям свободного, пептидносвязанного и белковосвязанного оксипролина, полученным с помощью методики, предложенной П.Н. Шараевым, с использованием парадиметиламинобензальдегида. Состояние тканей пародонта оценивалось по показателям кровоточивости, глубины пародонтальных карманов и подвижности зубов с использованием пуговчатого и модифицированного пародонтологического зондов. Исследование определило повышение содержания оксипролина за счет его свободной и пептидносвязанной фракций, выявляемое на протяжении всего эксперимента, что свидетельствовало о наличии деструктивных изменений соединительнотканного матрикса. Однако к концу эксперимента отмечалось повышение белковосвязанной фракции, что говорит об интенсификации процессов фибрилlogenеза на фоне сохраняющихся катаболических изменений. Выявлена высокая корреляционная связь маркеров метаболизма коллагена с показателями состояния тканей пародонта: по мере прогрессирования деструктивных процессов отмечались увеличение глубины пародонтальных карманов, формирование кровоточивости и патологической подвижности. Данные, полученные в ходе исследования, подтверждают необходимость использования маркеров метаболизма коллагена как диагностических критериев повреждения соединительнотканного матрикса пародонта, используемых для оценки тяжести и прогноза течения пародонтита, а также создания новых точек приложения при разработке современных лечебных технологий.

Ключевые слова: пародонтит, воспалительный процесс, деструкция коллагена, патологическая подвижность, пародонтальный карман, кровоточивость.

THE EFFECT OF THE DESTRUCTION OF THE COLLAGEN MATRIX ON THE CONDITION OF PERIODONTAL TISSUES IN EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

Zakhvatov A.N., Zakharkin I.A., Eliseykina E.V., Tambovtsev S.A., Kurmyshev A.S., Parshina A.Yu., Akasheva A.N.

National Research Ogarev Mordovia State University, Saransk, e-mail: zachvatan78@mail.ru

Determining the role of destruction of collagen fibrils in the degradation of the connective tissue matrix and their effect on the condition of periodontal tissues allows the development of new diagnostic methods, as well as opens up opportunities for the application and introduction of new therapeutic technologies into clinical practice. Evaluation and establishment of causal relationships between the indicators of collagen metabolism and the state of periodontal tissues in experimental periodontitis. An experimental study was conducted on 45 white mongrel rats weighing 250–300 g by reproducing a model of experimental periodontitis (Patent RU №. 2625295, 12.07.2017). The study of collagen metabolism was carried out according to the indicators of free, peptide-bound and protein-bound oxyproline obtained using the technique proposed by P.N. Sharaev using paradimethylaminobenzaldehyde. The condition of periodontal tissues was assessed by indicators of bleeding, depth of periodontal pockets and mobility of teeth using button and modified periodontal probes. The study revealed an increase in the content of oxyproline due to its free and peptide-bound fractions, detected throughout the experiment, which indicated the presence of destructive changes in the connective tissue matrix. However, by the end of the experiment, an increase in the protein-bound fraction was noted, which indicates an intensification of the processes of fibrillogenesis against the background of persistent catabolic changes. A high correlation of markers of collagen metabolism with indicators of the state of periodontal tissues was revealed: as the destructive processes progressed, an increase in the depth of periodontal pockets, the formation of bleeding and pathological

mobility was noted. The data obtained during the study confirm the need to use markers of collagen metabolism as diagnostic criteria for damage to the connective tissue matrix of periodontitis, used to assess the severity and prognosis of periodontitis, as well as to create new application points in the development of modern therapeutic technologies.

Keywords: periodontitis, inflammatory process, collagen destruction, pathological mobility, periodontal pocket, bleeding.

Хронический пародонтит является распространенной социально значимой проблемой, в случае отсутствия эффективного и своевременно начатого лечения он приводит к потере зубов и, как следствие, к снижению трудоспособности и качества жизни населения [1]. Данной патологией страдают около 85% населения России, при этом у 53% определяются начальные воспалительные процессы, у 12% – изменения средней и тяжелой степени тяжести [2, 3].

Развитие воспалительного процесса обусловлено колонизацией области пародонта грамотрицательными микроорганизмами, обладающими пародонтопатогенным потенциалом и оказывающими цитотоксическое действие за счет выработки большого количества ферментов, а также метаболитов [4]. Токсины бактерий способствуют активации макрофагов, являющихся продуцентами провоспалительных цитокинов (IL-1, IL-6, IL-8, TNF), матриксных металлопротеиназ, которые за счет их хемотаксического действия способствуют миграции нейтрофилов в ткани пародонта [5]. В результате накопления в пародонтальных тканях протеолитических ферментов (гиалуронидазы, коллагеназы) происходят деполимеризация межклеточного матрикса эпителия и соединительной ткани, лейкоцитарная инфильтрация тканей пародонта, расширение сосудов микроциркуляторного русла [6]. Деструкция коллагеновых волокон осуществляется как за счет генерации нейтрофилами активных форм кислорода, так и за счет фагоцитоза фибробластами с последующим разрушением лизосомальными ферментами коллагеновых структур путем расщепления пептидных связей в определенных участках спирализованных областей коллагена [7]. При прогрессировании воспаления деструктивные процессы происходят как в латеральном, так и в апикальном направлениях относительно области расположения очага воспаления, что сопровождается разрыхлением соединительнотканного матрикса и образованием пространства между зубом и эпителием десневой борозды – формированием десневого кармана [8]. Вследствие его последующего прорастания в подлежащую соединительную ткань, образования грануляций и последующего замещения ими костной ткани происходят формирование пародонтального кармана и разрушение опорных тканей зуба, что способствует возникновению патологической подвижности с последующей потерей зубов [9].

В связи с этим установление причинно-следственных взаимосвязей в развитии деструктивных процессов между метаболизмом коллагеновых биополимеров соединительнотканного матрикса и состоянием тканей пародонта позволяет выявить более глубокие патогенетические механизмы, что будет способствовать разработке новых

диагностических критериев для своевременного обнаружения пародонтита, предупреждая наступление этапа потери зубов. Кроме этого, открываются основные патогенетические точки приложения, дающие возможность для последующей разработки новых современных способов лечения.

Цель исследования. Оценка и установление причинных взаимосвязей между показателями метаболизма коллагена и состоянием тканей пародонта при экспериментальном пародонтите.

Материалы и методы исследования. Экспериментальное исследование проводилось на 45 белых нелинейных крысах обоего пола массой 220–300 г, содержащихся в стандартных лабораторных условиях на базе учебного вивария МГУ им. Н.П. Огарёва. Эксперимент был одобрен этическим комитетом Медицинского института и проводился в соответствии с международными этическими нормами, изложенными в Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.). Животные были разделены на две группы: контрольную (n=15) составили интактные особи, показатели которых принимались за норму, и вторую группу (n=30) – особи, на которых проводилось моделирование экспериментального пародонтита по методике, предложенной К.Д. Школьной, В.Г. Атрушкевич [10]. Животным на 1-е, 3-и, 5-е сутки эксперимента вводился преднизолон в дозе 12 мг/кг массы тела крысы трехкратно через каждые двое суток. На 5-е сутки эксперимента с использованием общего обезболивания (золетил 0,03 мл в/м) осуществлялись фиксация лигатуры путем прошивания межзубного сосочка верхней челюсти между первым и вторым моляром слева, фиксация узла с вестибулярной стороны и его последующее покрытие жидкотекучим пломбирочным материалом для более надежной фиксации.

Оценка метаболизма коллагена проводилась по показателям свободного (СО), пептидосвязанного (ПСО) и белковосвязанного (БСО) оксипролина в соответствии с методикой, предложенной П.Н. Шараевым, с использованием парадиметиламинобензальдегида [11].

Оценка состояния тканей пародонта проводилась по показателям кровоточивости десны, глубине пародонтальных карманов и подвижности зубов с использованием пуговчатого и модифицированного пародонтологического зондов [10].

Контроль показателей осуществлялся на 3-и, 7-е и 25-е сутки исследования после снятия лигатуры. Вывод животных из эксперимента проводился на 25-е сутки путем декапитации.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием лицензионного пакета прикладной программы «IBM SPSS Statistics 20» с применением однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) и критерия Тьюки.

Результаты исследования и их обсуждение. На 3-и сутки после снятия лигатуры отмечалось увеличение показателей СО и ПСО на 137,4% ($p < 0,001$) и 104,7% ($p < 0,001$) соответственно относительно аналогичных значений интактной группы. Коэффициент ПСО/СО снизился на 13,0% ($p < 0,05$). Уровень БСО достоверно не изменялся ($p > 0,05$). Полученные результаты свидетельствуют о резкой активации катаболических процессов метаболизма коллагена, что говорит о развитии деструктивных процессов соединительнотканного матрикса пародонта.

На 7-е сутки эксперимента содержание СО в плазме крови сохранялось на повышенном уровне, достоверно не отличаясь от аналогичного показателя на 3-и сутки ($p > 0,05$), что говорит о сохраняющихся деструктивных процессах коллагеновых структур. Но, отмечалось прогрессирующее увеличение уровня ПСО и БСО на 336,7% ($p < 0,001$) и 160,7% ($p < 0,001$) соответственно относительно показателей интактной серии. Коэффициент ПСО/СО увеличился до $1,05 \pm 0,14$ усл. ед. ($p < 0,001$), что на 94,4% выше аналогичного нормального показателя, это указывает на активацию анаболических изменений. Данные изменения свидетельствуют об интенсификации процессов фибриллогенеза на фоне сохраняющихся катаболических изменений.

К концу эксперимента на 25-е сутки уровень СО превышал аналогичный показатель интактной серии в 2 раза ($p < 0,001$). Наблюдалось сохранение преобладания уровней ПСО и БСО в 5,6 ($p < 0,001$) и 2,0 ($p < 0,001$) раза соответственно над должными значениями. Возросший на 179,6% коэффициент ПСО/СО свидетельствует о сохраняющемся к концу эксперимента дисбалансе процессов синтеза и деградации коллагена. Полученные результаты указывают на активацию процессов фибриллогенеза и образование коллагеновых волокон, подверженных действию лизосомальных ферментов в силу их нестабильной структуры в условиях воспаления (табл. 1).

Таблица 1

Динамика показателей метаболизма коллагена при экспериментальном пародонтите

Показатель	Контрольная серия (n=15)	Опытная серия (n=30)		
		3-и сутки (n=10)	7-е сутки (n=10)	25-е сутки (n=10)
Свободный оксипролин, мкмоль/л	$13,68 \pm 0,52$	$32,47 \pm 1,75^*$	$30,98 \pm 1,15^*$	$27,54 \pm 0,82^{*A}$

Пептидосвязанный оксипролин, мкмоль/л	7,43±0,37	15,21±1,17*	32,45±1,28* ^A	41,49±1,32* ^B
Белковосвязанный оксипролин, мкмоль/л	51,35±1,75	52,42±1,28*	82,53±1,88* ^A	104,63±2,35* ^B

Примечание: * – различия статистически достоверны при сравнении с показателями контрольной серии ($p < 0,001$); A – различия статистически достоверны при сравнении с показателями опытной серии на 3-и сутки ($p < 0,001$); B – различия статистически достоверны при сравнении с показателями опытной серии на 7-е сутки ($p < 0,001$).

На 3-и сутки эксперимента после снятия лигатуры при осмотре полости рта отмечались гиперемия и отек десневого края, появление кровоточивости десны при ее зондировании, увеличение глубины зондирования десневой бороздки на 0,09 мм ($p < 0,001$) в сравнении с аналогичными показателями контрольной серии, при этом патологическая подвижность отсутствует. Данные изменения свидетельствуют о развитии воспалительного процесса с начальными деструктивными изменениями.

На 7-е сутки эксперимента при осмотре полости рта животных сохранялась имеющаяся гиперемия, моляры верхней челюсти были покрыты мягким налетом, отмечались увеличение отечности десневого края и появление кровоточивости сразу после зондирования. При измерении глубины зондирования десневой бороздки выявлялись углубление пародонтального кармана на 0,57 мм ($p < 0,001$) при сравнении с аналогичными показателями 3-х суток и появление патологической подвижности, что говорит о наличии деструктивных процессов коллагеновых структур соединительнотканного матрикса пародонта.

На 25-е сутки наблюдения отмечалось сохраняющееся выраженное воспаление десны, проявляющееся ее выраженной гиперемией. Определялась обильная кровоточивость, возникающая сразу после зондирования десны. Выявлялись увеличение глубины пародонтальных карманов на 0,36 мм ($p < 0,001$) относительно показателя 7-х суток, достигающее значения 1,31 мм, появление из них гнойного отделяемого в сочетании с усилением подвижности зубов до 2,05 ($p < 0,001$) при сравнении с аналогичным показателем на 7-е сутки. Полученные результаты свидетельствуют о продолжающемся прогрессировании воспалительно-деструктивных процессов в области пародонта, проявляющихся разволокнением периодонтальной связки и, как следствие, нарушением прикрепления зуба (табл. 2).

Таблица 2

Динамика показателей состояния тканей пародонта при экспериментальном пародонтите

Показатель		Опытная серия (n=30)
------------	--	----------------------

	Контрольная серия (n=30)	3-и сутки (n=10)	7-е сутки (n=10)	25-е сутки (n=10)
Кровоточивость десны, балл	0	1,9±0,38*	2,8±0,75* ^A	3,20±0,34* ^B
Глубина пародонтальных карманов, мм	0,29±0,07	0,38±0,15*	0,95±0,13* ^A	1,31±0,17* ^B
Подвижность зубов, степень	–	–	1,7±0,51* ^A	2,05±0,12* ^B

Примечание: * – различия статистически достоверны при сравнении с показателями контрольной серии (p<0,001); A – различия статистически достоверны при сравнении с показателями опытной серии на 3-и сутки (p<0,001); B – различия статистически достоверны при сравнении с показателями опытной серии на 7-е сутки (p<0,001).

Сравнение маркеров метаболизма коллагена с показателями состояния тканей пародонта выявило прямую корреляционную зависимость, что указывает на сопряженность исследуемых патогенетических механизмов (табл. 3).

Таблица 3

Корреляционная зависимость между показателями метаболизма коллагена и состоянием тканей пародонта при экспериментальном пародонтите

Показатели	Корреляционный показатель Пирсона		
	Кровоточивость десны, балл	Глубина пародонтальных карманов, мм	Подвижность зубов, степень
СО, мкмоль/л	0,95	0,93	0,98
ПСО, мкмоль/л	0,93	0,96	0,96
БСО, мкмоль/л	0,92	0,97	0,91

Заключение. Таким образом, выраженные воспалительно-деструктивные процессы соединительнотканного матрикса пародонта оказывают значительное влияние на состояние пародонтальных тканей. Воспалительный процесс приводит к формированию дисбаланса в системе метаболизма коллагена, характеризующегося выраженными деструктивными изменениями коллагеновых биополимеров соединительной ткани в сочетании с активацией избыточного фибриллогенеза, что подтверждалось резко возросшим уровнем СО и ПСО с одновременно высоким ростом белковосвязанной фракции оксипролина. Новообразованные коллагеновые волокна, явившиеся результатом вышеуказанного процесса, имея нестабильную структуру, быстро подвергаются разрушению под действием лизосомальных ферментов.

Проведенный корреляционный анализ выявил сильную взаимосвязь между процессами деструкции коллагеновых структур с ухудшением состояния тканей пародонта, проявляющимся формированием пародонтальных карманов, возникновением патологической подвижности и выраженной кровоточивости. Результатом возникающих процессов являются появление патологических грануляций в области имеющихся десневых карманов, а также увеличение глубины десневой бороздки с последующим формированием глубоких пародонтальных карманов с увеличением пространства между зубом и эпителием десневой борозды. Выраженные воспалительно-деструктивные процессы, дегенерация коллагеновых фибрилл межклеточного матрикса влекут за собой разволокнение периодонтальной связки и, как следствие, возникновение патологической подвижности, что при прогрессировании процесса приведет к необратимой потере зубов.

Таким образом, проведенное исследование доказывает необходимость внедрения в практику маркеров метаболизма коллагена как показателей, определяющих интенсивность деструктивных процессов соединительнотканного матрикса пародонта, и возможность их применения с целью диагностики тяжести течения пародонтита, а также оценки эффективности проводимого лечения и определения прогноза заболевания.

Список литературы

1. Tiburcio-Machado C.S., Michelon C., Zanatta F.B., Gomes M.S., Marin J.A., Bier C.A. The global prevalence of apical periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *Int. Endod. J.* 2021. vol. 54. no. 5. P. 712-735. DOI: 10.1111/iej.13467.
2. Аванесов А.М., Кульченко А.А., Меладзе З.А., Арзуни В.А., Цветкова Е.П., Мариничева Е.Г., Чибисов С.М. Оценка состояния пародонта на фоне применения витамина е в комплексе лечебных мероприятий при генерализованном пародонтите // *Научное обозрение. Медицинские науки.* 2014. № 1. С. 23-24.
3. Блашкова С.Л., Мартыанова М.В. Роль средств гигиены в предупреждении кариеса и заболеваний пародонта у лиц молодого возраста // *Российская стоматология.* 2016. № 9 (4). С. 51-53.
4. Noguchi S., Ukai T., Kuramoto A., Yoshinaga Y., Nakamura H., Takamori Y., Yamashita Y., Hara Y. The histopathological comparison on the destruction of the periodontal tissue between normal junctional epithelium and long junctional epithelium. *Journal of Periodontal Research.* 2017. vol. 52. no.1. P. 74-82. DOI: 10.1111/jre.12370.

5. Nijakowski K., Gruszczyński D., Surdacka A. Oral Health Status in Patients with Inflammatory Bowel Diseases: A Systematic Review. *International journal of environmental research and public health*. 2021. vol. 18. no. 21. P. 11521. DOI: 10.3390/ijerph182111521.
6. Kang W., Hu Z., Ge S. Healthy and inflamed gingival fibroblasts differ in their inflammatory response to Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide. *Inflammation*. 2016. vol. 39. no. 5. P. 1842-1852. DOI: 10.1007/s10753-016-0421-4.
7. Захватов А.Н., Беляев А.Н., Аткина Н.А. Коррекция нарушений процессов свободнорадикального окисления и метаболизма коллагена суставного хряща при экспериментальной травме коленного сустава // Кафедра травматологии и ортопедии. 2016. № 3 (19). [Электронный ресурс]. URL: <https://jkto.ru/issues/id-2/3-19-2016-/id-8.html> (дата обращения: 15.06.2022).
8. Chatterjee D., Chatterjee A., Kalra D., Kapoor A., Vijay S., Jain S. Role of adjunct use of omega 3 fatty acids in periodontal therapy of periodontitis. A systematic review and meta-analysis. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2022. vol. 12. no. 1. P. 55-62. DOI: 10.1016/j.jobcr.2021.10.005.
9. Hajishengallis G., Korostoff J.M. Revisiting the Page & Schroeder model: The good, the bad and the unknowns in the periodontal host response 40 years later. *Periodontology 2000*. 2017. vol. 75. no. 1. P. 116-151. DOI: 10.1111/prd.12181.
10. Школьная К.Д., Атрушкевич В.Г., Берченко Г.Н. Способ экспериментального моделирования пародонтита // Патент РФ № 2625295. Патентообладатель ФГБОУ ВО "Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова" МЗ РФ. 2017.
11. Шараев П. Н. Методы исследования обмена коллагена в клинике / Актуальные проблемы теоретической и прикладной биохимии: Материалы конференции биохимиков Урала, Поволжья и Западной Сибири. Ижевск. 2001. С. 150-153.