

MEDICAL SCIENCES

УДК 612+616.314.17.008.1+599.323.4

Вишневская А.А.,

к. мед. н.

Шнайдер С.А.

д. мед. н.

Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины»

[DOI: 10.24411/2520-6990-2020-12108](https://doi.org/10.24411/2520-6990-2020-12108)

МЕТАБОЛИЗМ КОСТНОЙ ТКАНИ В ДИНАМИКЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА ПЛАЗМОГЕЛЕМ И ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

Vishnevskaya A.A.,

candidate of medical Sciences

Schneider S.A.

doctor of medicine

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

METABOLISM OF BONE TISSUE IN DYNAMICS IN TREATMENT OF GENERALIZED PERIODONTITIS WITH PLASMOGEL AND HYALURONIC ACID IN EXPERIMENT ON RATS

Аннотация.

Поиск новых регенеративных методов для лечения генерализованного пародонтита на сегодняшний день остается актуальным вопросом в стоматологии.

Целью работы была оценка биохимических показателей активности кислой и щелочной фосфатаз при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислотой.

В ходе исследования изменения маркеров костного метаболизма КФ и ЩФ указывают на процессы активного ремоделирования альвеолярной кости во всех экспериментальных группах животных. Динамика активности КФ и ЩФ в группе с моделью пародонтита без лечения указывает на рост активности КФ во втором сроке, что говорит о прогрессировании резорбции альвеолярной кости. Комбинированное применение плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и препарата гиалуроновой кислоты для лечения пародонтита приводит к достоверному снижению активности КФ и ЩФ, как в первом, так и во втором сроках лечения. Во втором сроке лечения показатели практически достигли показателей группы интактных животных, что указывает на прекращение во втором сроке остеокластической резорбции альвеолярной кости и формирование остеобластами вновь сформированной альвеолярной кости.

Abstract.

The search for new regenerative methods for the treatment of generalized periodontitis remains an urgent issue in dentistry today.

The aim of the work was to assess the biochemical parameters of the activity of acid and alkaline phosphatases in the treatment of generalized periodontitis with plasma gel from platelet autoplasm and hyaluronic acid.

In the course of the study, changes in markers of bone metabolism of acid phosphatase and alkaline phosphatase indicate the processes of active remodeling of the alveolar bone in all experimental groups of animals. The dynamics of the activity of acid phosphatase and alkaline phosphatase in the group with the model of periodontitis without treatment indicates an increase in the activity of acid phosphatase in the second period, which indicates the progression of resorption of the alveolar bone. The combined use of a plasma gel from platelet autoplasm and a hyaluronic acid preparation for the treatment of periodontitis leads to a significant decrease in the activity of acid and alkaline phosphatases, both in the first and second stages of treatment.

In the second term of treatment, the indices practically reached the indices of the group of intact animals, which indicates the cessation of osteoclastic resorption of the alveolar bone in the second term and the formation of newly formed alveolar bone by osteoblasts.

Ключевые слова: аутоплазма, гиалуроновая кислота, альвеолярная кость, генерализованный пародонтит, кислая фосфатаза, щелочная фосфатаза.

Keywords: autoplasm, hyaluronic acid, alveolar bone, generalized periodontitis, acid phosphatase, alkaline phosphatase.

Современную терапию генерализованного пародонтита затрудняет латентное течение, пациент на начальных стадиях заболевания практически не имеет ярко выраженных жалоб, что приводит к позднему обращению к специалисту и, соответственно, к позднему началу лечения. Поэтому на сегодняшний день является актуальным поиск новых регенеративных методов для лечения генерализованного пародонтита.

Одной из анатомических частей тканей пародонта является альвеолярная кость имеет различий с костной тканью других костей скелета, главным органическим компонентом является коллаген [1]. Костная ткань представляет собой уникальный композит, состоящий из клеток, органического и минерального матрикса. Костеобразование осуществляется остеобластами.

Ремоделирование кости – это основной процесс перестройки костной ткани у взрослых. Под ремоделированием кости понимается резорбция, осуществляемая остеокластами, сопровождающаяся костеобразованием с участием остеобластов [2].

Костное ремоделирование происходит в локальных участках скелета и контролируется множеством локальных и системных факторов. Локальные факторы – это полипептидные факторы роста (инсулиноподобные факторы роста, трансформирующий фактор роста, фактор роста фибробластов, тромбоцитарный фактор роста и др.), цитокины (интерлейкины, фактор некроза опухолей, колониестимулирующие факторы), другие факторы (простагландин и др.) [3].

Соответственно, для регенеративной консервативной терапии пародонтита могут быть предложены методы включающие применение факторов роста и гиалуроновой кислоты для локального действия на альвеолярную кость.

Целью работы была оценка биохимических показателей активности кислой и щелочной фосфатаз при лечении генерализованного пародонтита плазмогелем из тромбоцитарной аутоплазмы и гиалуроновой кислотой.

Материалы и методы исследования. Для экспериментального исследования было использовано 50 белых крыс линии Вистар стадного разведения, обоего пола, возраст животных составлял 2,5 - 3 месяца, вес 250-300г. Все животные находились на стандартном рационе вивария. Животные были разделены на 5 групп по 10 животных в каждой.

Первая группа (n=10, 5 самцов и 5 самок) оценивалась как контрольная для определения здоровых показателей животных.

Всем животным 2,3,4 и 5 групп выполняли моделирование пародонтита при помощи лигатурной модели, путем наложения лигатуры на резец верхней челюсти в области десневой борозды на протяжении 14 дней. Через 14 дней всем животным лигатуры снимали и проводили лечение [4].

Во второй группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) после снятия лигатур производили обработку десны марлевым тампоном смоченным 0,9 % раствором NaCl, 2 раза с интервалом в 7 дней.

В третьей группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) лечение проводили нанесением на десну плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы, 2 раза с интервалом в 7 дней. Плазмгель получали по следующей схеме: производили забор крови у каждой крысы из хвостовой вены в количестве 2 мл, кровь собирали в пробирку с 0,2 мл раствора гепарина, центрифугировали на скорости 1000 об./мин. в течение 5 минут, полученную фракцию плазмы из пробирки отбирали шприцом, который помещали в термостат TDB-120 для приготовления плазмогеля, при температуре +80°C в течение 7 минут, охлаждали при комнатной температуре в течение 10 минут и наносили на область патологически измененных тканей, закрывали пародонтальной повязкой Reso-Pac, на 6 часов до самостоятельного рассасывания пародонтальной повязки.

В четвертой группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) с лечебной целью наносили препарат гиалуроновой кислоты (ГК) на десну в виде аппликаций по 0,2 г., 2 раза с интервалом в 7 дней. Используемый препарат hyaDENT BG, гель вязко эластический на основе гиалуроновой кислоты. В состав которого входят: гиалуроновой кислоты - 2 мг, кросс-связанной гиалуроновой кислоты –16 мг, натрия хлорид – 6,9 мг и вода для инъекций до – 1,0 мг. Производитель: BioScience GmbH, Германия. Сертификат соответствия № UA.TR.039.343, дата выдачи – 18.04.2018 г.

В пятой группе (n=10, 5 самцов и 5 самок) после снятия лигатур проводили лечение с использованием комбинации плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и препарата с гиалуроновой кислотой. С начала применяли плазмгель по методике описанной в третьей группе животных, а через день после плазмогеля применяли препарат гиалуроновой кислоты в виде аппликаций как описано в четвертой группе животных. Интервалы между введениями обоих препаратов составляли 7 дней.

С целью изучения динамики метаболизма костной ткани альвеолярного отростка после лечения плазмогелем, препаратом с гиалуроновой кислотой и комбинированной методики их применения экспериментальные животные выводились из эксперимента в 2 срока. Крыс подгрупп 1а, 2а, 3а, 4а и 5а выводили из эксперимента на следующий день после второго введения. Крысам подгруппы 1б, 2б, 3б, 4б и 5б проводили эвтаназию через 3 недели после второго введения.

Животных выводили из эксперимента под тиопенталовым наркозом (20мг/кг) и производили забор биоптатов десны для дальнейших биохимических исследований.

Биохимическими методами в сыворотке крови крыс определяли активность кислой и щелочной фосфатаз [4].

Обработку результатов проводили вариационно-статистическими методами анализа на персональном компьютере IBM PC в SPSS SigmaStat 3.0 и StatSoft Statistica 6.0. [5]

Результаты и их обсуждение. Результаты биохимических исследований гомогенатов десны крыс представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Влияние плазмогеля и препарата гиалуроновой кислоты hyaDENT BG на активность кислой фосфатазы в гомогенатах десны крыс (M±m), (n=5)

Группы	Показатели	Пол	Активность КФ, мк-кат/кг	
			1 срок	2 срок
Группа 1 (контроль)		самки	8,43±0,30	8,24±0,26
		самцы	9,21±0,44	8,72±0,31
Группа 2 Модель пародонтита (контроль)		самки	16,0±0,47 p< 0,001	17,4±0,56 p< 0,001 p ₄ > 0,1
		самцы	15,4±0,34 p< 0,001	18,0±0,72 p< 0,001 p ₄ < 0,001
Группа 3 Модель пародонтита + плазмогель		самки	13,10±0,30 p< 0,001 p ₁ < 0,001	12,0±0,64 p< 0,002 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,2
		самцы	13,76±0,49 p< 0,001 p ₁ < 0,001	12,64±0,40 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,1
Группа 4 Модель пародонтита+ ГК		самки	14,42±0,38 p< 0,001 p ₁ < 0,02 p ₂ < 0,01	13,32±0,49 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₄ > 0,2
		самцы	14,90±0,52 p< 0,001 p ₁ > 0,4 p ₂ > 0,2	13,84±0,76 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2 p ₄ > 0,25
Группа 5 Модель пародонтита+ плазмогель+ ГК		самки	11,42±0,44 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,01 p ₃ < 0,001	8,51±0,49 p> 0,8 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,001
		самцы	12,0±0,26 p< 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,02 p ₃ < 0,001	9,0±0,46 p> 0,2 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,002

Примечание.

p – показатель достоверности отличий от группы 1 (контроль)

P1 – достоверность отличий от 2 группы

P2 – достоверность отличий от 3 группы

P3 – достоверность отличий от 4 группы

P4 – достоверность отличий между 1 и 2 сроком

Кислую фосфатазу (КФ) в последние годы считают сигнальным ферментом активности остеобластов. В таблице 1 представлены результаты содержания КФ в гомогенатах десны крыс после лечения плазмогелем, ГК и комплексом препаратов. Количественное определение щелочной фосфатазы

(ЩФ) для костного метаболизма дает полезную информацию о костном ремоделировании, так как данный гликопротеин, обнаружен на клеточной поверхности остеобластов. В таблице 2 представлены результаты содержания ЩФ в гомогенатах десны после проведенного лечения.

Влияние плазмогеля и препарата гиалуроновой кислоты hyaDENT BG на активность щелочной фосфатазы в гомогенатах десны крыс (M±m), (n=5)

Группы	Показатели	Пол	Активность ЩФ, мк-кат/кг	
			1 срок	2 срок
Группа 1 (контроль)		самки	9,87±0,38	9,42±0,41
		самцы	10,42±0,43	9,80±0,36
Группа 2 Модель пародонтита (контроль)		самки	18,94±0,62 p < 0,001	17,56±0,72 p < 0,001 p ₄ > 0,2
		самцы	19,05±0,74 p < 0,001	17,50±0,80 p < 0,001 p ₄ > 0,2
Группа 3 Модель пародонтита + плазмогель		самки	13,26±0,80 p < 0,001 p ₁ < 0,001	13,0±0,76 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,7
		самцы	13,84±0,52 p < 0,001 p ₁ < 0,001	13,20±0,84 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₄ > 0,6
Группа 4 Модель пародонтита+ ГК		самки	14,74±0,60 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,2	14,20±0,68 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,1 p ₄ > 0,5
		самцы	14,0±0,72 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,7	14,12±0,72 p < 0,001 p ₁ < 0,001 p ₂ > 0,5 p ₄ > 0,5
Группа 5 Модель пародонтита+ плазмогель+ ГК		самки	11,30±0,46 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,05 p ₃ < 0,001	9,56±0,62 p > 0,4 p ₁ < 0,002 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,05
		самцы	11,42±0,38 p < 0,002 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,002	10,0±0,56 p > 0,6 p ₁ < 0,002 p ₂ < 0,002 p ₃ < 0,001 p ₄ < 0,05

Примечание.

p – показатель достоверности отличий от группы 1 (контроль)

P1 – достоверность отличий от 2 группы

P2 – достоверность отличий от 3 группы

P3 – достоверность отличий от 4 группы

P4 – достоверность отличий между 1 и 2 сроком

Результаты, полученные в ходе исследования, говорят о резком увеличении активности как КФ, так и ЩФ во 2-й группе. Что дает возможность предположить процесс активного разрушения альвеолярной кости, происходящий в группе с моделью пародонтита, где лечение не проводилось. В первом сроке показатель КФ у самок составлял 16,0±0,47 мк-кат/кг, во втором сроке 17,4±0,56 мк-кат/кг. У самцов в первом сроке 15,4±0,34 мк-кат/кг, во втором сроке 18,0±0,72 мк-кат/кг. Показатель активности ЩФ в этой же группе в первом сроке у самок был 18,94±0,62 мк-кат/кг, во втором

сроке – 17,56±0,72 мк-кат/кг, у самцов в первом сроке – 19,05±0,74 мк-кат/кг, во втором сроке – 17,50±0,80 мк-кат/кг.

В третьей группе экспериментальных животных показатели активности КФ и ЩФ также возрастали в сравнении с группой интактных животных. И составили в первом сроке у самок КФ – 13,10±0,30 мк-кат/кг, ЩФ – 13,26±0,80 мк-кат/кг, во втором сроке КФ – 12,0±0,64 мк-кат/кг, ЩФ – 13,0±0,76 мк-кат/кг. У самцов в первом сроке активность КФ – 13,76±0,49 мк-кат/кг, ЩФ –

13,84±0,52 мк-кат/кг, во втором сроке КФ – 12,64±0,40 мк-кат/кг, ЩФ – 13,20±0,84 мк-кат/кг.

В 4-й группе показатели активности КФ и ЩФ также повышались относительно группы интактных животных, но при этом они были ниже, чем в группе с моделью пародонтита без лечения. В первом сроке активность КФ у самок составила 14,42±0,38 мк-кат/кг, ЩФ – 14,74±0,60 мк-кат/кг, у самцов КФ – 14,90±0,52 мк-кат/кг, ЩФ – 14,0±0,72 мк-кат/кг. Во втором сроке у самок активность КФ – 13,32±0,49 мк-кат/кг, ЩФ – 14,20±0,68 мк-кат/кг, у самцов КФ – 13,84±0,76 мк-кат/кг, ЩФ – 14,12±0,72 мк-кат/кг.

Группа с комбинированным применением плазмогеля и гиалуроновой кислоты для лечения пародонтита в первом сроке также как и все группы имела повышение активности КФ и ЩФ. Но во втором сроке показатели активности КФ и ЩФ практически снизились до показателей в группе интактных животных. И составили в группе интактных животных у самок во втором сроке активность КФ – 8,24±0,26 мк-кат/кг, ЩФ – 9,42±0,41 мк-кат/кг, в пятой группе КФ – 8,51±0,49 мк-кат/кг, ЩФ – 9,56±0,62 мк-кат/кг. У самцов в интактной группе во втором сроке показатель КФ – 8,72±0,31 мк-кат/кг, ЩФ – 9,80±0,36 мк-кат/кг, в 5-й группе КФ – 9,0±0,46 мк-кат/кг, ЩФ – 10,0±0,56 мк-кат/кг.

Так же можно отметить, что во всех группах с лечением, показатель активности КФ имел тенденцию к снижению во втором сроке, а показатель активности ЩФ удерживался практически на уровне показателей первого срока, что дает возможность предположить, что активность остеокластов снижалась, а активность остеобластов продолжалась и во втором сроке.

Выводы. В ходе исследования изменения маркеров костного метаболизма КФ и ЩФ указывают

на процессы активного ремоделирования альвеолярной кости во всех экспериментальных группах животных. Динамика активности КФ и ЩФ в группе с моделью пародонтита без лечения указывает на рост активности КФ во втором сроке, что говорит о прогрессировании резорбции альвеолярной кости. Комбинированное применение плазмогеля из тромбоцитарной аутоплазмы и препарата гиалуроновой кислоты для лечения пародонтита приводит к достоверному снижению активности КФ и ЩФ, как в первом, так и во втором сроках лечения. Во втором сроке лечения показатели практически достигали показателей группы интактных животных, что указывает на прекращение во втором сроке остеокластической резорбции альвеолярной кости и формирование остеобластами вновь сформированной альвеолярной кости.

Литература:

1. Иванов В.С. Заболевания пародонта (3-е изд.) М.: Медицинское информационное агентство, 1998. – 296 с.
2. Дедух Н.В., Пошелок Д.М., Малышкина С.В. Моделирование и ремоделирование кости (обзор литературы) Український морфологічний альманах. – 2014, Том 12, – № 1. – С. 107-111.
3. Сагаловски С., Шегерт М. Клеточно-молекулярные механизмы регуляции ремоделирования кости: новые концепции в лечении остеопороза // Практикуючому лікарю. – 2011. – № 2. – С. 209-214.
4. Левицкий А. П., Марченко А. И., Рыбак Т. Л. / Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны // Лабораторное дело. – 1973. – № 10. – С. 624-625.
5. Юнкеров В. И., Григорьев С. Г. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований. – С.-Пб.: ВмедА, 2002. – 266 с.