

УДК 613.84+616.314.17-0081-018:616.31+599.323.4

**Ю. Г. Чумакова, д. мед. н., А. А. Вишневская,  
В. Г. Крыкляс, к. мед. н.**

ГУ «Институт стоматологии АМН Украины

### **ВЛИЯНИЕ ТАБАКОКУРЕНИЯ НА ТКАНИ ПОЛОСТИ РТА В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ПАРОДОНТИТА У КРЫС**

В эксперименте на белых крысах показано негативное влияние курения на ткани пародонта и слизистую оболочку полости рта, что подтверждено изменениями биохимических показателей в биоптатах десны и щеки. При этом установлено, что влияние курения на ткани полости рта во многом реализуется через функцию печени, на что указывают биохимические показатели биоптатов печени крыс (повышение активности эластазы и уровня малонового диальдегида) и маркеры печеночного метаболизма в сыворотке крови (рост активности щелочной фосфатазы и аланин-аминотрансферазы).

**Ключевые слова:** курение, ингаляции табачного дыма, модель пародонтита, десна, щека, печень, сыворотка крови.

**Ю. Г. Чумакова, Г. О. Вишневська,  
В. Г. Крыкляс**

ДУ «Институт стоматології АМН України»

### **ВПЛИВ ТЮТЮНОПАЛІННЯ НА ТКАНИНИ ПОРОЖНИНИ РОТА В УМОВАХ МОДЕЛЮВАННЯ ПАРОДОНТИТУ У ЩУРІВ**

В експерименті на білих щурах показано негативний вплив паління на тканини пародонта і слизову оболонку порожнини рота, що підтверджено змінами біохімічних показників в біоптатах ясен і щоки. При цьому встановлено, що вплив паління на тканини порожнини рота багато в чому реалізується через функцію печінки, на що вказують біохімічні показники біоптатів печінки щурів (підвищення активності еластази і рівня малонового діальдегіду) і маркери печінкового метаболізму в сироватці крові (зростання активності лужної фосфатази і аланін-амінотрансферази).

**Ключові слова:** паління, інгаляції тютюнового диму, модель пародонтиту, ясна, щока, печінка, сироватка крові.

**Yu. G. Chumakova, A. A. Vishnevskaja,  
V. G. Kryklias**

SE “the Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine”

### **THE INFLUENCE OF SMOKING UPON THE ORAL TISSUES AT SIMULATION OF PERIODONTITIS IN RATS**

*The negative influence of smoking on periodontal tissues and oral mucous membrane, which are proved by the*

*changes in biochemical indices in bioplates of gum and cheek, was shown in the experiment with white rats. At that it was determined that influence of smoking upon oral tissues is realized mainly through the function of liver, at which the biochemical indices of rats' liver bioplates (growth of the activity of elastase and the level of malonic dialdehyde) and the markers of liver metabolism in blood serum (growth of the activity of alkaline phosphatase and alanine-aminotransferase) point at.*

**Key words:** smoking, inhalation of tobacco smoke, simulation of periodontitis, gum, cheek, liver, blood serum.

Табакокурение является одной из актуальных социальных и медицинских проблем современности, причиной многих тяжелых заболеваний (онкологических, сердечно-сосудистых, респираторных и др.) [1-3]. Распространенность курения в странах постсоветского пространства (в России, Украине) одна из самых высоких в мире: курят 60-65% взрослых мужчин и около 20% женщин [1].

Имеются многочисленные сведения о негативном влиянии курения на ткани полости рта, которые являются местом первичного контакта организма курильщика с токсичными и канцерогенными веществами, входящими в состав табака и табачного дыма [4-6]. По результатам клинко-лабораторных исследований у курящих больных генерализованным пародонтитом и в экспериментах *in vitro* при воздействии никотина или сигаретного дыма на культуры клеток (клетки крови, фибробласты десны и пародонтальной связки) установлены механизмы влияния курения на ткани пародонта [7-14]. При этом проведены единичные эксперименты на лабораторных животных по изучению непосредственного влияния табачного дыма на ткани ротовой полости и организм в целом [15].

**Цель работы.** Разработать экспериментальную модель курения и исследовать механизмы влияния табачного дыма на ткани пародонта и организм крыс в условиях моделирования пародонтита.

**Материалы и методы.** В эксперименте использовано 40 белых крыс линии Вистар стандартного разведения, 3-х месячного возраста, обоего пола, которые содержались на стандартном пищевом рационе вивария. Согласно задачам эксперимента, все крысы были разделены на 5 групп (по 8 животных в каждой).

Первую группу составили интактные крысы (контроль), которым никаких вмешательств не проводили.

Для воспроизведения модели курения крыс 2-ой, 4-ой и 5-ой групп помещали в специально

сконструированную пластиковую камеру с тремя разными отсеками, куда под давлением, с помощью мотора, подавали табачный дым от 15 сигарет («Прима») на протяжении 30 минут, ежедневно в течение 14 дней. Во время ингаляций табачного дыма оценивали поведенческие реакции животных. С первой минуты подачи дыма в камеру крысы были беспокойными, сустились, искали место для нормального дыхания, глотая воздух, а через 7-10 мин успокаивались и «усыпались». Через 30 мин отключали мотор, открывали камеру, тем самым подавая доступ кислорода. Крысы начинали активно дышать и полностью восстанавливались через 5-10 мин.

В первый день эксперимента у крыс 3-ей и 4-ой групп под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) моделировали пародонтит путем наложения лигатуры на центральный резец. Для удержания лигатуры кончики нити фиксировали фотополимерным пломбировочным материалом. Суть данной модели состоит в создании ретенционного пункта для зубной бляшки, которая инициирует развитие воспаления и деструкции тканей пародонта [16].

Животных выводили из эксперимента в 2 этапа. Эвтаназию крыс 1-ой, 2-ой, 3-ей и 4-ой групп осуществляли сразу по окончании последней процедуры ингаляции табачного дыма (на 14-ый день) под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Крыс 5-ой группы подвергли эвтаназии аналогичным образом через 1 мес. по окончании эксперимента.

У всех животных производили забор крови, биоптатов десны, щеки и печени для дальнейших биохимических исследований. В надосадочной жидкости гомогенатов десны, щеки и печени определяли активность эластазы [17], каталазы [18] и содержание малонового диальдегида (МДА) [19]. Кроме данных показателей в сыворотке крови определяли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) [20] и аланин-аминотрансферазы (АлАТ) [21].

Обработку результатов исследований проводили вариационно-статистическими методами анализа на персональном компьютере IBM PC в SPSS SigmaStat 3.0 и StatSoft Statistica 6.0 (2003 г.).

Таблица 1

**Влияние курения на биохимические показатели биоптатов десны крыс (M±m)**

Исследуемые группы	Эластаза, мккат/г	Каталаза, мккат/г	МДА, мкмоль/г
1. Интактные крысы, n = 8	0,031 ± 0,001	9,63 ± 0,50	15,8 ± 1,1
2. Ингаляции табачного дыма, n = 8	0,041 ± 0,002 P <sub>1-2</sub> < 0,001	7,33 ± 0,28 P <sub>1-2</sub> < 0,01	23,6 ± 1,5 P <sub>1-2</sub> < 0,001
3. Модель пародонтита, n = 8	0,042 ± 0,003 P <sub>1-3</sub> < 0,005	7,13 ± 0,82 P <sub>1-3</sub> < 0,05	23,5 ± 0,8 P <sub>1-3</sub> < 0,001
4. Модель пародонтита + ингаляции табачного дыма, n = 8	0,044 ± 0,001 P <sub>1-4</sub> < 0,001	6,42 ± 0,75 P <sub>1-4</sub> < 0,01	33,5 ± 2,4 P <sub>1-4</sub> < 0,001 P <sub>2-4</sub> < 0,01 P <sub>3-4</sub> < 0,005
5. Через 1 мес. после отмены курения, n = 8	0,038 ± 0,003 P <sub>1-5</sub> = 0,063	8,32 ± 0,83	20,1 ± 0,8 P <sub>1-5</sub> < 0,02

Таблица 2

**Влияние курения на биохимические показатели биоптатов щеки крыс (M±m)**

Исследуемые группы	Эластаза, мккат/г	Каталаза, мккат/г	МДА, мкмоль/г
1. Интактные крысы, n = 8	0,033 ± 0,003	8,85 ± 0,31	14,6 ± 1,5
2. Ингаляции табачного дыма, n = 8	0,040 ± 0,003	7,48 ± 0,63	22,0 ± 1,8 P <sub>1-2</sub> < 0,001
3. Модель пародонтита, n = 8	0,038 ± 0,002 P <sub>1-3</sub> < 0,05	7,49 ± 0,28 P <sub>1-3</sub> < 0,01	24,0 ± 2,0 P <sub>1-3</sub> < 0,005
4. Модель пародонтита + ингаляции табачного дыма, n = 8	0,047 ± 0,003 P <sub>1-4</sub> < 0,02 P <sub>3-4</sub> < 0,001	5,62 ± 0,44 P <sub>1-4</sub> < 0,001 P <sub>2-4</sub> < 0,05 P <sub>3-4</sub> < 0,005	22,5 ± 2,1 P <sub>1-4</sub> < 0,001
5. Через 1 мес. после отмены курения, n = 8	0,031 ± 0,003 P <sub>2-5</sub> < 0,05	8,00 ± 0,41	20,3 ± 3,9

**Результаты исследования и их обсуждение.** При анализе биохимических показателей установлено, что у крыс под воздействием табачного дыма (группа 2) отмечаются значительные изменения ферментативной активности в тканях полости рта – в биоптатах десны и щеки (табл. 1, 2). Так, происходит достоверное увеличение эластазной активности ( $p < 0,001$ ), что характеризует развитие воспаления в десне; отмечается достоверное снижение активности каталазы ( $p < 0,01$ ) и повышение содержания МДА ( $p < 0,001$ ), что указывает на интенсификацию процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) при снижении активности антиоксидантной системы в тканях пародонта (табл. 1). Аналогичные изменения, но менее выраженные, определяются и в биоптатах щеки (табл. 2), то есть ткани пародонта у интактных животных более подвержены токсическому воздействию табачного дыма, чем слизистая оболочка щеки.

Моделирование лигатур-индуцированного пародонтита уже на 3-и сутки вызывает появление выраженных клинических симптомов воспаления тканей пародонта, а именно, гиперемию, отечность, кровоточивость десны в области резцов. Еще через 3-5 дней видимое воспаление десны отмечается и в области моляров, то есть происходит генерализация воспалительно-дистрофического процесса в тканях пародонта. Адекватность воспроизводимой модели пародонтита подтверждена также значительными метаболическими нарушениями в тканях пародонта, о чем свидетельствуют биохимические показатели биоптатов десны крыс 3-ей группы по сравнению с интактными крысами 1-ой группы (табл. 1). Установлен достоверный рост эластазной активности (в 1,35 раза,  $p < 0,005$ ), что указывает на высокую активность нейтрофилов, которые в огромном количестве инфильтрируют ткани пародонта при развитии воспаления, достоверное увеличение концентрации МДА (в 1,5 раза,  $p < 0,001$ ) и снижение активности антиоксидантного фермента каталазы ( $p < 0,05$ ).

При развитии экспериментального пародонтита у животных отмечается нарушение гомеостаза полости рта, что приводит к структурно-функциональным изменениям и в слизистой оболочке щеки: достоверно повышены активность эластазы ( $p < 0,05$ ) и концентрация МДА ( $p < 0,005$ ), снижена активность каталазы ( $p < 0,01$ ) (табл. 2).

Самые выраженные нарушения метаболизма в тканях полости рта определены у крыс 4-ой группы, которым на фоне развития пародонтита проводили ежедневные ингаляции табачного дыма, то есть произошло потенцирование эффектов двух повреждающих факторов, особенно в

системе ПОЛ-АОС. В данной группе отмечены самые низкие показатели активности каталазы в десне ( $6,42 \pm 0,75$  мккат/г) и в слизистой оболочке щеки ( $5,62 \pm 0,44$  мккат/г) и самый высокий уровень МДА в десне ( $33,5 \pm 2,4$  мкмоль/л), в 2 раза превышающий данный показатель у крыс 1-ой группы ( $p < 0,001$ ) и в 1,4 раза – у крыс 2-ой и 3-ей группы (соответственно  $p < 0,01$ ,  $p < 0,005$ ) (табл. 1, 2).

При анализе биохимических показателей у крыс 5-ой группы выявлено, что через 1 месяц после прекращения курения определяется тенденция к их нормализации (особенно активности каталазы) в десне и в слизистой оболочке щеки, однако активность эластазы и содержание МДА в биоптатах десны остаются повышенными относительно показателей у интактных крыс, что требует специальной терапевтической коррекции (табл. 1, 2).

Для оценки влияния ингаляций табачного дыма на весь организм анализировали биохимические показатели в сыворотке крови и биоптатах печени крыс (табл. 3, 4).

Представленные в табл. 3 данные свидетельствуют о значительных нарушениях метаболизма в организме в целом под действием табачного дыма. Так, у крыс 2-ой группы в сыворотке крови достоверно увеличивается активность эластазы ( $p < 0,001$ ), ЩФ ( $p < 0,001$ ) и снижается активность каталазы ( $p < 0,001$ ).

Моделирование пародонтита (группа 3) само по себе вызывает изменение биохимических показателей в сыворотке крови: повышается активность эластазы ( $p < 0,005$ ), ЩФ ( $p < 0,001$ ) и АлАТ (в 2,6 раза,  $p < 0,001$ ), снижается активность каталазы ( $p < 0,005$ ) по сравнению с интактными животными (группа 1). У крыс 4-ой группы, которым моделировали пародонтит и проводили ежедневные ингаляции табачного дыма, отмечаются еще более высокие показатели эластазной активности и активности ЩФ – рост в 2 раза по сравнению с интактными животными ( $p < 0,001$ ) (табл. 3).

Отмена курения (группа 5) приводит к некоторой нормализации биохимических показателей в сыворотке крови крыс (снижение активности эластазы, ЩФ, АлАТ), однако изучаемые показатели все равно остаются высокими (табл. 3).

В биоптатах печени крыс и при ингаляциях табачного дыма (группа 2), и при моделировании пародонтита (группа 3) происходит достоверное увеличение активности эластазы, содержания МДА и снижение активности каталазы, но самые выраженные изменения происходят у крыс 4-ой группы при комплексном воздействии повреждающих факторов (табл. 4). Особенно необходимо отметить повышение уровня МДА: в 2,1 раза

( $p < 0,001$ ) по сравнению с интактными крысами и в 1,3 раза ( $p < 0,02$ ) по сравнению с крысами 2-ой группы. Через 1 мес. после отмены курения (группа 5) все изучаемые биохимические показатели по-прежнему достоверно отличаются от

аналогичных показателей у интактных животных (табл. 4), что указывает на стойкие выраженные нарушения метаболизма в организме, что требует специальной медикаментозной коррекции.

Таблица 3

**Влияние курения на биохимические показатели сыворотки крови крыс ( $M \pm m$ )**

Исследуемые группы	Эластаза, мккат/л	Каталаза, мккат/л	Фосфатаза рН 10,5, мкат/л	МДА, мкмоль/л	АЛАТ, мкат/л
1. Интактные крысы, n = 8	198,7 ± 8,8	0,205 ± 0,009	2,26 ± 0,08	1,21 ± 0,07	0,168 ± 0,031
2. Ингаляции табачного дыма, n = 8	232,1 ± 3,8 $P_{1-2} < 0,001$	0,160 ± 0,004 $P_{1-2} < 0,001$	3,82 ± 0,11 $P_{1-2} < 0,001$	1,28 ± 0,09	0,217 ± 0,022
3. Модель пародонтита, n = 8	232,2 ± 6,1 $P_{1-3} < 0,005$	0,148 ± 0,007 $P_{1-3} < 0,001$	3,85 ± 0,33 $P_{1-3} < 0,001$	1,26 ± 0,05	0,440 ± 0,052 $P_{1-3} < 0,001$
4. Модель пародонтита + ингаляции табачного дыма, n = 8	238,8 ± 5,4 $P_{1-4} < 0,001$	0,160 ± 0,007 $P_{1-4} < 0,001$	4,50 ± 0,45 $P_{1-4} < 0,001$	1,20 ± 0,04	0,381 ± 0,034 $P_{1-4} < 0,001$ $P_{2-4} < 0,001$
5. Через 1 мес. после отмены курения, n = 8	214,1 ± 6,4 $P_{2-5} < 0,05$	0,162 ± 0,017 $P_{1-5} < 0,02$	3,16 ± 0,31 $P_{1-5} < 0,05$ $P_{2-5} = 0,064$	1,23 ± 0,06	0,267 ± 0,037

Таблица 4

**Влияние курения на биохимические показатели биоптатов печени крыс ( $M \pm m$ )**

Исследуемые группы	Эластаза, мккат/г	Каталаза, мккат/г	МДА, мкмоль/г
1. Интактные крысы, n = 8	0,226 ± 0,011	5,21 ± 0,04	30,5 ± 1,3
2. Ингаляции табачного дыма, n = 8	0,284 ± 0,008 $P_{1-2} < 0,001$	5,08 ± 0,02 $P_{1-2} < 0,05$	49,5 ± 2,5 $P_{1-2} < 0,001$
3. Модель пародонтита, n = 8	0,280 ± 0,013 $P_{1-3} < 0,02$	5,08 ± 0,03 $P_{1-3} < 0,02$	58,5 ± 8,1 $P_{1-3} = 0,065$
4. Модель пародонтита + ингаляции табачного дыма, n = 8	0,315 ± 0,021 $P_{1-4} < 0,005$	4,96 ± 0,04 $P_{1-4} < 0,001$ $P_{2-4} < 0,05$	64,6 ± 5,0 $P_{1-4} < 0,001$ $P_{2-4} < 0,02$
5. Через 1 мес. после отмены курения, n = 8	0,277 ± 0,008 $P_{1-5} < 0,005$	5,10 ± 0,01 $P_{1-5} < 0,02$	54,3 ± 4,9 $P_{1-5} < 0,02$

**Заключение.** Таким образом, в эксперименте на белых крысах показано негативное влияние табакокурения на ткани пародонта и слизистую оболочку полости рта, что подтверждено изменениями биохимических показателей в биоптатах десны и щеки. При этом установлено, что влияние курения на ткани полости рта во многом реализуется через функцию печени, на что указывают биохимические показатели биоптатов печени крыс и маркеры печеночного метаболизма в сыворотке крови – активность щелочной фосфатазы и аланин-аминотрансферазы.

**Список литературы**

1. Герасименко Н. Ф. Здоровье или табак: цифры и факты / Герасименко Н. Ф., Заридзе Д. Г., Сахарова Г. М. – Официальное издание Всероссийского национального Форума «Здоровье или табак». – М., 2007.
2. Левшин В. Ф. Изучение прошлого опыта от-

каза от курения в группе лиц, обратившихся за помощью в отказе от курения / В. Ф. Левшин, Н. В. Радкевич // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. – 2008. - № 5. – С. 30-34.

3. **Факторы**, ассоциированные с табакокурением / К. П. Ошакбаев, Ж. Абылайулы, Т. И. Аманов, Б. Н. Кожобекова // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. – 2007. - № 2. – С. 22-26.

4. **Стоматологические** проблемы курильщиков и пути их решения / А. Б. Чухловин, А. А. Тотолян, Ю. Г. Трофимова [и др.] // Клиническая стоматология. – 2007. - № 2. – С. 52-56.

5. **Курицина И. Ю.** Некоторые клинимоρφологические особенности изменения слюнных желез у курильщиков табака / И. Ю. Курицина, А. Ж. Петрикас, В. М. Курицин // Стоматология. – 2004. - № 2. – С. 11-13.

6. **Rivera-Hidalgo F.** Smoking and periodontal disease / F. Rivera-Hidalgo // Periodontology 2000. – 2003. – Vol. 32. – P. 50-58.

7. **Apatzidou D. A.** Impact of smoking on the

clinical, microbiological and immunological parameters of adult patients with periodontitis / D. A. Apatzidou, M. P. Riggio, D. F. Kinane // J. Clin. Periodontol. – 2005. – Vol. 32, N. 9. – P. 973-983.

8. **Alterations** of neutrophil f-actin kinetics by tobacco smoke: implications for periodontal diseases / M.I. Ryder, T.C. Wu, S.S. Kallaos, W. Hyun // J. Periodont. Research. – 2002. – Vol. 37, N. 4. – P. 286-292.

9. **Nicotine** effects on polymorphonuclear cell apoptosis and lipopolysaccharide-induced monocyte functions. A possible role in periodontal disease? / M.A. Mariggiò, L. Guida, A. Laforgia [et al.] // J. Periodont. Research. – 2001. – Vol. 36, N. 1. – P. 32-39.

10. **Levels** of lipid peroxides and antioxidants in smokers and nonsmokers / N. Gard, R. Singh, J. Dixit [et al.] // J. Periodont. Research. – 2006. – Vol. 41, N. 5. – P. 405-410.

11. **Giannopoulou C.** Effects of nicotine on periodontal ligament fibroblasts *in vitro* / C. Giannopoulou, A. Geinoz, G. Cimasoni // J. Clin. Periodontol. – 1999. – Vol. 26, N. 1. – P. 49-55.

12. **Mechanisms** of cytotoxicity of nicotine in human periodontal ligament fibroblast cultures *in vitro* / Y.-C. Chang, F.-M. Huang, K.-W. Tai [et al.] // J. Periodont. Research. – 2002. – Vol. 37, N. 4. – P. 279-285.

13. **Zhou J.** Nicotine increases the collagen-degrading ability of human gingival fibroblasts / J. Zhou, B. Olson, L. Windsor // J. Periodont. Research. – 2007. – Vol. 42, N. 3. – P. 228-235.

14. **Effects** of nicotine on cultured cells suggest that it can influence the formation and resorption of bone / S.

Yuhara, S. Kasagi, A. Inoue [et al.] // Eur. J. Pharmacol. – 1999. – Vol. 383. – P. 387-393.

15. **The influence** of cigarette smoke inhalation and its cessation on the tooth-supporting alveolar bone: a histometric study in rats / J.B. Cèsar-Neto, B.B. Benatti, E.A. Sallum [et al.] // J. Periodont. Research. – 2006. – Vol. 41. – P. 118-123.

16. **Experimental** animal models in periodontology: A review / X. Struillou, H. Boutigny, A. Soueidan, P. Layrolle // Open Dent. J. – 2010. – Vol. 4. – P. 37-47.

17. **Visser L.** The use of p-nitrophenyl-N-tert-butyl-oxy-carbonyl- $\alpha$ -alaninate as substrate for elastase / L. Visser, E. R. Blaut // Biochem. Biophys. Acta. – 1972. – Vol. 268, N. 1. – P. 275-280.

18. **Метод** определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, Н. Т. Майорова, В. Е. Токарев // Лабор. дело. – 1988. - № 1. – С. 16-18.

19. **Стальная И. Д.,** Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии / Под ред. В. Н. Ореховича. – М.: Медицина. – 1977. – С. 66-68.

20. **Левицкий А. П.** Сравнительная оценка трех методов определения активности фосфатаз слюны / А. П. Левицкий, А. И. Марченко, Т. Л. Рыбак // Лабор. дело. – 1973. - №10. – С. 624-625.

21. Горячковский А. М. Клиническая биохимия / Горячковский А. М. – Одесса: «Астропринт», 1998. – С. 245-247.

Поступила 06.04.11

