

УДК: 616.314.17-008.1-085:618.3-053.1-071.1
 © Гармаш О.В., Назарян Р.С., Гаргин В.В. 2012

МИКРОЦИРКУЛЯТОРНЫЕ НАРУШЕНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА ПРИ ЗАДЕРЖКЕ ВНУТРИУТРОБНОГО РАЗВИТИЯ

Гармаш О.В., Назарян Р.С., Гаргин В.В.

Харьковский национальный медицинский университет

В последние годы появляются отдельные исследования, посвященные изучению неблагоприятного влияния неблагоприятного течения беременности на формирование патологических процессов зубочелюстной системы (ЗЧС) плода в его дальнейшем онтогенезе [3, 5]. Большинство работ касаются проблемы поражения зубов кариесом [5]. При этом состоянию тканей пародонта у детей, выношенных в неблагоприятных условиях, уделяется недостаточное внимание, даже при таком частом состоянии, которым является задержка внутриутробного развития (ЗВУР) [10]. Частота ЗВУР колеблется в разных странах от 3 до 24% среди доношенных и от 18 до 46% среди недоношенных новорожденных. Считается, что дети, перенесшие ЗВУР, чаще страдают заболеваниями ротовой полости. В связи с этим изучение патогенетических механизмов повреждения тканей пародонта при этом страдании, разработка адекватных подходов к профилактике, ранней коррекции выявленных нарушений и оптимальной реабилитации является важной не только медицинской, но и социальной задачей [9, 11].

В последнее десятилетие отмечено повышение интереса стоматологов к вопросам патологии системной и региональной гемодинамики, так как при этом происходят характерные для нее глубокие метаболические и функциональные нарушения во всех органах и системах организма, включая и ткани ЗЧС [2, 4]. Очевидно, что патологические сдвиги центральной и региональной гемодинамики, которые наблюдаются при ЗВУР, не могут не отражаться на системе кровотока в микроциркуляторном звене зубочелюстной системы [6, 7]. Достоверным маркером микроциркуляторных расстройств может служить состояние эндотелиальных функций. В тоже время известно, что последствием нарушений сосудистой системы, в частности

на уровне микроциркуляторного русла, являются дистрофически-воспалительные заболевания пародонта [1, 8].

Целью настоящего исследования явилось изучение на экспериментальном материале морфофункционального состояния микроциркуляторного русла и тканей пародонта при ЗВУР.

Материал и методы. В ходе работы производилось моделирование ЗВУР на крысках линии животных, у матерей которых наблюдалась спонтанная гипертензия, что, как известно, является одной из наиболее частых причин фетоплацентарной недостаточности, и, как следствие, ЗВУР. Всего исследовано 74 доношенных животных. В группу сравнения вошли средневесные крыска; в исследуемую группу вошло потомство, масса тела которого при рождении была ниже медианной массы ($6,84 \text{ кг} \times 10^{-3}$) тела всего потомства более чем на 20%. В каждую группу включено по 37 животных.

В группе средневесных животных было 17 крысок мужского пола (45,94%), 20 – женского (54,06%). В исследуемой группе исследован 21 крысенок мужского пола, что составляет 56,76%, 16 крысок женского пола – 43,24%.

Сразу после рождения крыска подвергались первичному антропометрическому исследованию: производилось взвешивание животных, измерение длины тела и длины хвоста. Второй раз антропометрическое исследование экспериментальных животных производилось непосредственно перед выводом крысок из эксперимента (осуществлялось в соответствии с международными стандартами по биоэтике) на 1, 14 и 35 день жизни животного. Результаты антропометрического исследования представлены в табл. 1. В этой же таблице приведены данные о количестве наблюдений в каждой из исследуемых подгрупп.

Таблица 1. Результаты антропометрического исследования исследуемых животных и количество наблюдений в подгруппах

Исследуемая группа и подгруппа	Масса тела (в $\text{кг} \times 10^{-3}$)	Длина тела (в $\text{м} \times 10^{-3}$)	Длина хвоста (в $\text{м} \times 10^{-3}$)	Число наблюдений
Первичное антропометрическое исследование				
A	$5,28 \pm 0,22^*$	$50,81 \pm 0,91^*$	$16,13 \pm 0,44$	37
B	$6,98 \pm 0,17$	$55,69 \pm 0,65$	$17,15 \pm 0,69$	
Вторичное антропометрическое исследование				
A ₁	$5,33 \pm 0,52^*$	$50,95 \pm 1,19^*$	$19,06 \pm 0,55$	13
B ₁	$7,01 \pm 0,38$	$56,19 \pm 1,12$	$19,53 \pm 1,36$	
A ₁₄	$21,30 \pm 0,18$	$75,0 \pm 1,63^*$	$30,42 \pm 0,45^*$	12
B ₁₄	$23,63 \pm 0,91$	$87,36 \pm 6,05$	$52,13 \pm 2,95$	
A ₃₅	$53,05 \pm 3,27$	$86,67 \pm 6,0$	$69,0 \pm 5,92^*$	12
B ₃₅	$58,60 \pm 7,84$	$101,33 \pm 9,81$	$92,67 \pm 9,80$	

Где: А – маловесные крыска; В – средневесные крыска; А₁, А₁₄, А₃₅ – маловесные крыска, выведенные из эксперимента на 1-ые, 14-ые, 35-ые сутки после рождения; В₁, В₁₄, В₃₅ – средневесные крыска, выведенные из эксперимента на 1-ые, 14-ые, 35-ые сутки после рождения соответственно; * – разница между группой маловесных и средневесных крысок статистически достоверна.

После выведения из эксперимента крысят, ткани пародонта фиксировали в 10% формалине и после рутинной проводки изготавливали срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Рего, по ван Гизону. Иммуногистохимическое исследование проводили постановкой непрямой иммунопероксидазной реакции с моноклональными антителами (МКА) к эндотелиальной и индуцибельной фракциям NO-синтазы (eNOs и iNOs соответственно) фирмы Thermo scientific. Реакция визуализировалась с помощью набора UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen (Thermo scientific).

Микропрепараты изучали на микроскопе "Olympus BX-41" с последующей обработкой программой "Olympus DP-soft version 3.2", с помощью которой проводили морфометрическое исследование, определение интенсивности иммуногистохимических реакций.

Результаты и обсуждение. При исследовании препаратов окрашенных гематоксилином и эозином подгруппы крысят выведенных из эксперимента на 1-е сутки после рождения установлено, что в исследуемой группе по сравнению с контрольной наблюдаются выраженные изменения в морфофункциональном состоянии микроциркуляторного русла пародонта. Сосудистое русло неравномерного кровенаполнения, на фоне запустевших спавшихся сосудов присутствуют резко расширенные заполненные кровью капилляры. Отмечается наличие мелких тромбов в просвете сосудов, которые чаще локализуются в посткапиллярах и венулах. Эндотелиоциты чаще уплощенные, с признаками десквамации. Процессы новообразования сосудов не выражены. В периваскулярном пространстве отмечается наличие начальных склеротических процессов. При проведении морфометрических исследований отмечается снижение плотности сосудов микроциркуляторного русла на $20,9 \pm 8,5$ % по сравнению с контрольной группой.

При постановке пероксидажной реакции с МКА к эндотелиальной NO-синтазе в группе сравнения позитивное окрашивание наблюдалось преимущественно в сосудистых структурах с четким окрашиванием эндотелия, что придавало ему линейный вид. Одновременно, часто наблюдалось наличие незначительно позитивно окрашенных структур в периваскулярном пространстве с уменьшением степени интенсивности по мере удаления от сосуда. В исследуемой группе маловесных крысят наблюдается картина резкого снижения окрашивания зоны эндотелия на фоне нарастания интенсивности в периваскулярном пространстве. Встречались участки ткани со слабо положительным окрашиванием даже при отсутствии близлежащих сосудов. Эндотелий при этом окрашивался хоть и интенсивнее, чем окружающая ткань, но четкой, практически линейной коричневатой окраски не наблюдалось. По всей видимости, в данной группе отмечается угнетение eNOs непосредственно в эндотелии на фоне некоторой активации в периваскулярном пространстве.

Описанные изменения подтверждаются и цитофотометрией, которая указывает на угнетение накопления эндотелиальной NO-синтазы в сосудах на $59,7 \pm 4,19$ % на фоне увеличения в периваску-

лярном пространстве на $24,7 \pm 2,97$ % по сравнению со средневесными крысятами ($p < 0,05$).

Результаты пероксидажной реакции с индуцибельной фракцией NO-синтазы показали еще большее различие в изучаемых группах. Так, в группе сравнения они были практически отрицательными с незначительным равномерным окрашиванием собственной пластинки слизистой. В группе маловесных крысят наблюдается выраженное окрашивание с наличием зон большей и меньшей интенсивности, закономерность распределения которых выявить только на препаратах с индуцибельной фракцией NO-синтазы не удастся. Цитофотометрическое исследование показывает достоверное более чем двукратное усиление реакции на iNOs.

При исследовании микропрепаратов окрашенных по Рего в собственной пластинки слизистой пародонта, более глубоких слоях, выявляются участки ишемии в каждом из исследуемых случаев маловесных крысят. В контрольной группе такие участки ткани были единичны. При сопоставлении препаратов окрашенных по Рего и гематоксилином и эозином зоны ишемии характеризуются некробиотическими процессами, от начальных дистрофических до формирования фокусов некроза.

Интересным выявилось сопоставление микропрепаратов окрашенных по Рего и с иммуногистохимической реакцией iNOs. Зоны ишемии и наиболее интенсивного накопления индуцибельной фракции преимущественно совпадали.

При исследовании подгрупп животных, которые были выведены из эксперимента на 14-й день после рождения, выявлена достаточно схожая картина в строении микроциркуляторного русла, тканей пародонта. Тем не менее, исследуемая группа характеризовалась более однородным состоянием относительно новорожденных. В исследуемой группе наряду с запустевшими дилатационно расширенными сосудами встречались и спазмированные, переполненные кровью. В периваскулярном пространстве таких сосудов отмечались точечные кровоизлияния. При этом в ряде случаев процессы новообразования сосудов в исследуемой группе очагово носили интенсивный характер.

При исследовании микропрепаратов крысят выведенных из эксперимента на 35-й день после рождения состояние микроциркуляторного русла животных исследуемой группы в целом соответствует контрольным животным. В тоже время, в периваскулярном пространстве наблюдаются более выраженные склеротические процессы. При морфометрическом исследовании установлено, что удельный объем соединительнотканного компонента в исследуемой группе выше на $19,8 \pm 3,8$ % чем в контрольной.

Результаты нашей работы сочетаются с известными фактами о том, что одним из наиболее значимых факторов, ведущих к формированию синдрома задержки внутриутробного развития плода является развитие хронической плацентарной недостаточности [10]. Возникающие при этом иммунные, трофические, эндокринные и метаболические нарушения наряду с активацией свободно-радикального окисления оказывают на плод повреждающее воздействие, характер и степень

которого во многом зависит от его продолжительности и срока гестации [5,10].

В ходе нашей работы установлены новые факты последствий ЗВУР в виде нарушений микроциркуляторного русла пародонта, которые могут лежать в основе развития патологических процессов в ротовой полости в дальнейшем онтогенезе [1, 6, 7]. Меньшая плотность сосудов МЦР, нарушение эндотелиальной функции с изменением качественных и количественных показателей обмена эндотелиальной и индуцибельной фракций NO-синтазы ведет к появлению очагов ишемии уже при рождении. При этом активацию индуцибельной фракции (по всей видимости, в ответ на угнетение эндотелиальной) можно рассматривать как дополнительный повреждающий фактор. Такие изменения ведут к перестройке тканей уже на относительно ранних этапах онтогенеза (по ходу работы 14-й и 35-й день жизни крысы) со склероти-

ческими изменениями, что меняет адаптационные свойства ткани создает предпосылки для развития воспалительно-дистрофических повреждений.

Выводы: 1. Задержка внутриутробного развития характеризуется нарушением микроциркуляторного русла с уменьшением плотности сосудов, дисциркуляторными расстройствами, что ведет к формированию зон ишемии, появлению очагов некробиотических изменений, инициации процессов склероза.

2. При ЗВУР наблюдается нарушение обмена оксида азота с угнетением эндотелиальной и активацией индуцибельной фракций NO-синтазы, что можно рассматривать как формирование дополнительного повреждающего фактора.

Перспектива дальнейших исследований состоит в разработке методов коррекции выявленных нарушений морфофункционального состояния микроциркуляторного русла.

ЛИТЕРАТУРА:

1. **Безрукова И.В.** Быстро прогрессирующий пародонтит. Этиология. Клиника. Лечение. : Дис...-дра.мед.наук: 14.0021. - М., 2001. - 212 с.
2. **Белоклицкая Г.Ф.** Клинико-патогенетическое обоснование дифференцированной фармакотерапии генерализованного пародонтита: автореф. дис. на соискание ученой степени док. мед. наук: спец. 14.00.21 «Стоматология» / Г.Ф. Белоклицкая. - К., 1996. - 32 с.
3. **Быков В.А.** Гистология и эмбриология органов полости рта человека / Л. Быков. - СПб.: Специальная литература. - 1998. - 248 с.
4. **Волосовец А.П.** Нарушение процессов микроциркуляции: актуальность в педиатрии и перспективы лечения / А.П. Волосовец, С.П. Кривоустов, Т.С. Мороз // Практична ангіологія. - 2008. - №4 (15). - С. 29-33
5. **Гвоздева Ю.В.** Комплексный метод профилактики и лечения стоматологических заболеваний у детей с высокой степенью перинатального риска / Ю.В. Гвоздева, И.А. Захаров // Актуальные проблемы управления здоровьем населения: Сб. науч. трудов - Нижний Новгород, 2009. - С. 86-89.
6. **Данилевский Н.Ф., Борисенко А.В.** Заболевания пародонта / Н.Ф. Данилевский, А.В. Борисенко // Киев: Здоровье, 2000. - 464 с.
7. **Зверева Т.В.** Клинико-морфологические аспекты иммунокорректирующей терапии воспалительных заболеваний пародонта: Дис...канд. мед.наук:14.0021,03.00.25.-Н.,2001.-187с.
8. **Иванов В.С.** Заболевания пародонта / В.С. Иванов. - М.: Медицина. - 1998. - 296 с. - Библиогр.: с. 275-291.
9. **Косенко К.Н.** Профилактическая гигиена полости рта: [монография] / К.Н. Косенко, Т.П. Терещина // Одесса: КП ОГТ, - 2003. - 296 с.
10. **Хамід Ф.** Особливості перекисного окислення ліпідів та антиоксидантного захисту в неонатальному періоді у дітей з малою масою тіла / Ф. Хамід // Педіатрія, акушерство та гінекологія. - 1998. - № 5. - С. 43-46.
11. **Шатохина С.Н.** Морфологическая картина ротовой жидкости диагностические возможности / С.Н. Шатохина, С.Н. Разумова, В.Н. Шабалин // Стоматология - 2006. - №4. - С 14-17.

Гармаш О.В., Назарян Р.С., Гаргин В.В. Микроциркуляторные нарушения тканей пародонта при задержке внутриутробного развития // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 5 (додаток). - С 66 - 68.

Нами досліджено пародонт новонароджених крыс з експериментальною моделлю ЗВУР. Світлова мікроскопія виявила зменшення судинної щільності на $20,9 \pm 8,5$ %. Состояние судинного русла характеризувалося наявністю спазмованих, так і дилатаційно розширених судин. Ендотеліоцити уплющені з ознаками десквамації. Відзначається наявність склеротических процесів. Периваскулярне простір характеризується наявністю початкових склеротических процесів. Встановлено пригнічення ендотеліальної й активація індуцибельної фракції NO-синтази.

Ключевые слова: микроциркуляторное русло, задержка внутриутробного развития, пародонт, оксид азота

Гармаш О.В., Назарян Р.С., Гаргин В.В. Мікроциркуляторні порушення тканин пародонта при затримці внутрішньоутробного розвитку // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 5 (додаток). - С 66 - 68.

Нами досліджений пародонт новонароджених щурят з експериментальною моделлю ЗВУР. Світлова мікроскопія виявила зменшення судинної щільності на $20,9 \pm 8,5$ %. Стан судинного русла характеризувався наявністю спазмованих кров'яних згортків. Периваскулярний простір характеризується наявністю початкових склеротических процесів. Встановлено пригнічення ендотеліальної й активація індуцибельної фракції NO-синтази.

Ключові слова: мікроциркуляторне русло, затримка внутрішньоутробного розвитку, пародонт, оксид азоту

Garmash O.V., Nazaryan R.S., Gargin V.V. Microcirculatory disturbance of periodontium in intrauterine growth retardation // Український медичний альманах. - 2012. - Том 15, № 5 (додаток). - С 66 - 68.

We investigated periodontium of newborn rat with experimental model of IUGR. Light microscopy showed that microcirculatory response was characterized by a pronounced decrease in vascular density (20.9 ± 8.5 %); presence both contraction and dilatation of the capillary bed. Endotheliocytes of microcirculatory bed are flattened; there are signs of their desquamation. The increasing intravascular blood clotting in the postcapillary and venular portions of the microcirculatory system, along with a partial reduction of the capillary link have been observed. Perivascular space is characterized by initial sclerotic process.

Key words: microcirculatory bed, intrauterine growth retardation, periodontium