

ISSN 0365-9615

Электронная версия

ISSN 2413-1008

**БЮЛЛЕТЕНЬ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
БИОЛОГИИ
И МЕДИЦИНЫ**

6

2020

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА У ЧЕЛОВЕКА И КРЫСЫ ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Л.Р.Колесникова^{1,2}, М.А.Даренская¹, Л.И.Колесникова^{1,3},
Л.А.Гребенкина¹, Л.И.Корытов², Ю.К.Батороев⁴,
Е.И.Белинская², И.М.Михалевич⁴, С.И.Колесников^{1,5}

¹ФГБНУ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, РФ; ²ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России, Иркутск; ³ФГБОУ ВО Иркутский государственный университет, Иркутск, РФ; ⁴Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Иркутск, РФ; ⁵МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, РФ

Проведено сравнительное исследование гемодинамики микроциркуляторного русла пародонта у подростков с артериальной гипертензией и морфологических изменений тканей пародонта у крыс гипертензивной линии НИСАГ сравнимого возраста. У подростков в пародонте увеличивалась скорость тканевого кровотока, индекс периферического сопротивления и снижалось пульсовое давление; у крыс НИСАГ увеличивались средние значения площади сосудов пародонта и пульпы и снижались показатели площади соединительной ткани. Полученные результаты могут быть использованы при оценке морфофункционального состояния пародонта при развитии артериальной гипертензии.

Ключевые слова: пародонт; крысы; подростки; артериальная гипертензия

Артериальная гипертензия (АГ) как состояние со стойким повышением АД нередко впервые регистрируется в подростковом возрасте [8]. Одним из важнейших патогенетических факторов АГ являются нарушения в микроциркуляторном русле, которые прогрессируют с развитием болезни, сопровождая и провоцируя воспалительно-деструктивные заболевания тканей пародонта [10, 11]. Нарушения кровообращения в пародонте тесно коррелируют с тяжестью и степенью АГ [7], проявляясь изменениями тонуса и проницаемости сосудов, эндотелиальной дисфункцией артериальной сети и нарушениями вегетативной регуляции сосудистого тонуса тканей [7, 11].

Несмотря на проводимые исследования, остаётся не до конца ясным характер сосудистых расстройств, происходящих в пародонтальных тканях

при АГ в подростковом возрасте. Связано это с тем, что оценка морфологической картины функциональных нарушений возможна лишь в экспериментальных условиях с последующим экстраполированием результатов на человека. В качестве модели в данном случае может выступать линия гипертензивных крыс НИСАГ, селекционированная из аутбредных крыс Вистар и характеризующаяся наличием морфологических изменений различных органов и тканей [2, 4, 7]. Ранее нами показано наличие изменённой реактивности крыс данной линии в условиях стрессорного воздействия [5, 14, 15]. При этом интересным представляется исследование морфофункционального состояния тканей пародонта в условиях развивающейся АГ подросткового периода вне стрессовых условий.

Целью данного исследования являлся сравнительный анализ функциональных показателей микроциркуляции в пародонте у подростков с АГ и морфологических параметров сосудов тканей

Адрес для корреспонденции: marina_darenskaya@inbox.ru.
Даренская М.А.

пародонта у гипертензивной линии НИСАГ сравнимого биологического возраста.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Использованы данные 65 подростков с АГ (38 юношей, 27 девушек) в возрасте 13-17 лет (средний возраст — 14.3 ± 2 года). Группа сравнения состояла из 65 нормотензивных подростков аналогичного возраста (средний возраст — 14.3 ± 2 года) и пола (38 юношей, 27 девушек). Все обследуемые проживали в г. Иркутске. Возраст подростков был сопоставим с биологическим возрастом экспериментальных животных, взятых в исследование.

Критерии включения в исследование: подростковый возраст 13-17 лет, наличие информированного добровольного согласия подростков старше 15 лет на участие в исследовании или их родителей/законных представителей. Критерии включения в группу АГ: подтверждённый диагноз АГ по результатам измерения уровня АД при повторных офисных измерениях ≥ 95 перцентиля для данного возраста, роста и пола или $\geq 140/90$ мм рт. ст. у подростков старше 16 лет. Критерии исключения из группы АГ: симптоматический характер АГ, наличие тяжёлых соматических заболеваний. Критерии включения в группу сравнения: сопоставимость по возрасту, полу, месту проживания и другим основным критериям (по типу копия-пара), а также наличие нормального уровня АД при трёхкратном измерении, отсутствие на момент обследования острого заболевания или обострения хронических заболеваний.

Состояние гемодинамики микроциркуляторного русла пародонта у подростков с АГ оценивали методом ультразвуковой доплерографии на аппарате Mindrey DS-8. Состояние кровотока определялось по данным количественного анализа доплеровских кривых и по оценке усреднённой по времени максимальной величины скорости кровотока в систолу (V_{as}). Рассчитывали также индекс периферического сопротивления, или индекс резистивности (индекс Пурсело, RI), отражающий состояние сопротивления кровотоку дистальнее места измерения, индекс пульсации (индекс Гослинга, PI), отражающий упруго-эластические свойства артерий, и пульсовое давление (PS).

В эксперименте использовали молодых (2.5-3 мес) половозрелых самцов крыс стрессчувствительной гипертензивной линии НИСАГ (наследственная индуцированная стрессом АГ) ($n=10$) и нормотензивных крыс Вистар ($n=10$) массой 200-220 г. Эксперименты проводили в ЦКП "SPF-виварий" ИЦиГ СО РАН (Новосибирск) на животных из разведения ЦКП "SPF-виварий" [13]. Крыс содержали в стандартных пластмассовых клетках при естественном освещении, свободном доступе к воде и

пище (питание стандартным кормом в количестве, соответствующем суточным нормам). Эксперименты выполнены в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.), правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных (приказ МЗ СССР № 775 от 12.08.1977 г.), Руководством по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ (2005 г.) и правилами надлежащей лабораторной практики (приказ МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г.).

Для гистологического исследования брали кусочки нижней и верхней челюсти с резцами и молярами, фиксировали в нейтральном 10% растворе формалина. Декальцинация кусочков тканей проводилась в 5% растворе азотной кислоты в течение 3-5 сут. Проводку материала осуществляли в автомате для вакуумной проводки Sacura, заливку — в модульной системе заливки парафином Tissue-Tek TEC (Sacura). Стандартные серийные срезы толщиной 5 мкм получали на полуавтоматических роторных микротоммах CM-502 (Microm) с использованием одноразовых ножей аппаратной проводки Sacura. Окрашивание и покрытие срезов на предметных стёклах покровными стёклами осуществляли вручную. Полученные срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону для выявления волокон соединительной ткани. Микроскопическое и морфометрическое исследование проводили в светооптическом микроскопе AxioScope A1 (Carl Zeiss) при увеличении 40, 100, 400 и 600. Давалась подробная характеристика изменениям сосудов пульпы и пародонта (состояние просвета сосудов, кровенаполнение, состояние эндотелия), оценивались изменения тканей пародонта, состояние одонтобластов. Морфологическое состояние тканей пародонта у крыс оценивали по следующим количественным критериям: площадь сосудов и площадь соединительной ткани (в процентах), толщина эндотелия сосудов (мкм²), общее количество фибробластов и одонтобластов в поле зрения (ед. в поле зрения).

Статистический анализ полученных результатов проводили в программе Statistica 6.1 (StatSoft, Inc.). Для определения близости к нормальному закону распределения количественных признаков использовали визуально-графический метод и критерии согласия Колмогорова—Смирнова с поправкой Лиллиефорса и Шапиро—Уилка. Проверка равенства генеральных дисперсий осуществлялась с помощью F критерия Фишера. Для представления количественных данных приводили следующие

характеристики: среднее (M), стандартное отклонение (SD), медиану (Me), квартили (25%-75%). При анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна—Уитни. Критический уровень значимости принимался равным 5% (0.05).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На первом этапе анализировали функциональное состояние микроциркуляторного русла тканей пародонта у подростков с АГ (табл. 1). Данная группа отличалась от группы сравнения по основным сосудистым показателям: максимальной величине скорости кровотока в систолу (Vas) (в 1.12 раза выше, $p=0.0009$) и индексу Пурсело (RI) (в 1.17 раза выше, $p<0.0001$).

У крыс НИСАГ по сравнению с нормотензивными животными значимо увеличивались средние значения площади сосудов пародонта (в 1.31 раза; $p<0.0001$) и пульпы (в 1.27 раза; $p<0.0001$) при не-

значительном снижении площади соединительной ткани пародонта (в 1.1 раза; $p<0.0001$) и пульпы (в 1.09 раза; $p<0.0001$) (табл. 2).

Проведённые микроскопические исследования показали, что у крыс Вистар центральная зона пульпы представлена рыхлой соединительной тканью, состоящей из коллагеновых и ретикулярных волокон с немногочисленными клеточными элементами: фибробластами, макрофагами, гистиоцитами (рис. 1, а). Фибробласты располагались рыхло, имели веретеновидную форму с овальным ядром в центре клетки. Пульпа зуба у крыс НИСАГ была представлена рыхлой соединительной тканью, при этом отмечалось выраженное расширение и полнокровие капилляров, увеличенное количество функционирующих капилляров (рис. 2, а). У крыс Вистар наблюдались многочисленные сосуды пульпы, которые характеризовались очень тонкими стенками, выстланными однослойным эпителием — эндотелием с уплощёнными ядрами (рис. 1, б). У крыс НИСАГ эндотелий сосудов был представлен одним

Таблица 1. Показатели скорости кровотока в сосудах пародонта у подростков с АГ ($M\pm SD$; Me (25%-75%))

Параметр	Группа сравнения	Группа подростков с АГ
Максимальная величина скорости кровотока в систолу (Vas), см/с	31.17±6.01 31.33 (28.94-34.30)	35.00±5.77* 38.02 (32.06-38.90)
Пульсовое давление (PS), мм рт. ст.	100.71±11.87 98.39 (95.62-102.18)	90.86±10.46 89.00 (82.02-98.38)
Индекс пульсации (PI)	2.16±0.65 2.09 (1.80-2.14)	2.18±0.39 2.01 (1.98-2.21)
Индекс периферического сопротивления (RI)	0.70±0.07 0.71 (0.66-0.73)	0.82±0.04* 0.81 (0.79-0.84)

Примечание. Здесь и в табл. 2: * $p<0.05$.

Таблица 2. Морфометрические показатели структурных тканей пародонта у крыс линии НИСАГ ($M\pm SD$; Me (25%-75%))

Параметры	Крысы Вистар	Крысы НИСАГ
Площадь сосудов пародонта, %	22.78±2.40 23.05 (20.00-24.90)	29.79±2.60* 29.60 (27.80-31.70)
Площадь соединительной ткани пародонта, %	77.22±2.40 76.95 (75.10-80.00)	70.21±2.60* 70.40 (68.30-72.20)
Площадь сосудов пульпы, %	23.12±2.20 22.40 (21.20-25.20)	29.29±2.70* 28.40 (27.60-31.80)
Площадь соединительной ткани пульпы, %	76.88±2.20 77.00 (74.80-78.80)	70.71±2.70* 71.60 (68.20-72.40)
Эндотелий сосудов пародонта, мкм ²	1.17±0.42 1.19 (0.82-1.28)	1.49±0.47 1.57 (0.98-1.89)
Эндотелий сосудов пульпы, мкм ²	1.23±0.57 1.30 (0.72-1.59)	1.29±0.57 1.16 (0.85-1.91)
Фибробласты, ед. в поле зрения	32.94±4.60 31.40 (31.30-36.30)	29.58±4.75 29.9 (26.70-30.40)
Одонтобласты, мкм ²	28.91±7.90 32.60 (20.80-35.80)	29.71±7.02 30.15 (22.60-34.30)

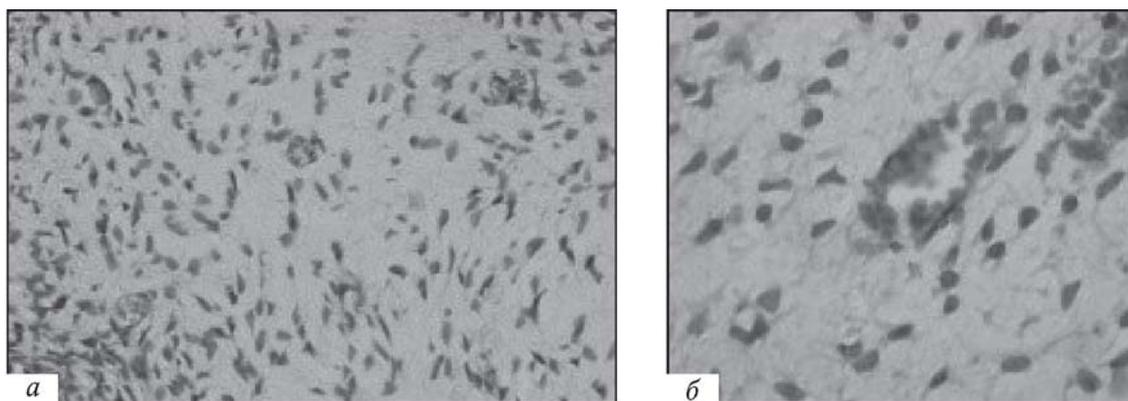


Рис. 1. Микроскопические характеристики ткани (а) и сосудов (б) пульпы у крыс Вистар. Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 40$ (а), $\times 100$ (б).

а — пульпа представлена рыхлой соединительной тканью с клеточными элементами, сосуды тонкостенные с узким просветом. б — сосуды с тонкими стенками, выстланы однослойным эндотелием.

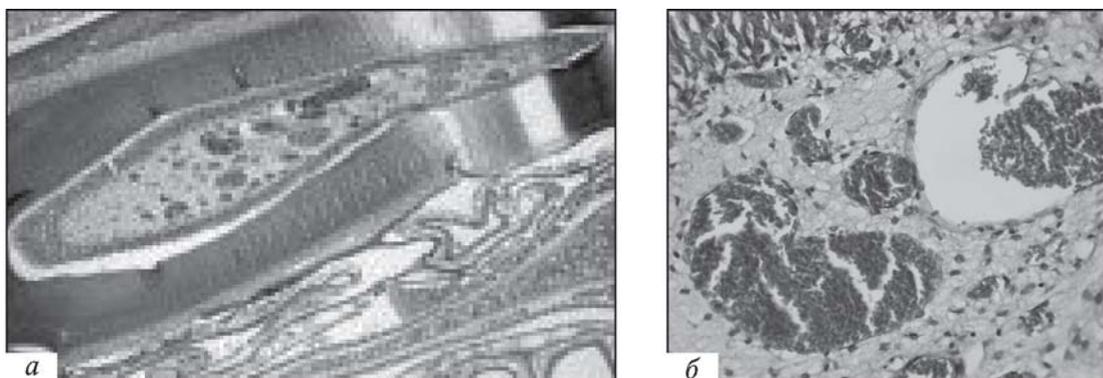


Рис. 2. Микроскопические характеристики ткани (а) и сосудов (б) пульпы у крыс НИСАГ. Расширение и полное кровие капилляров пульпы. Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 40$ (а), $\times 100$ (б).

слоем тонких клеток (рис. 2, б). При окрашивании пикрофуксином по Ван Гизону толстые волокна соединительной ткани в пульпе зубов не визуализировались.

Сложный процесс микроциркуляции включает движение крови в капиллярах и прилежащих к ним микрососудах (микрогемоциркуляцию), лимфы в начальных отделах лимфатического русла и жидкости во внеклеточном (интерстициальном) пространстве [10]. Нами установлено увеличение средних значения максимальной величины скорости тканевого кровотока (Vas) у подростков с АГ относительно группы сравнения. Некоторые исследователи считают максимальную систолическую скорость наиболее диагностически значимой при оценке тканевого кровотока в пародонте, а её повышение в условиях воспалительного процесса трактуют как активацию компенсаторных механизмов [1]. Значения индекса периферического сопротивления, или резистивности (RI) также были повышены. Анализ данного показателя даёт основание предполагать, что за счёт повышения сопротивле-

ния току крови в капиллярах пародонта формируются явления артериоларно-капиллярного переполнения в микроциркуляторном русле [6]. Ранее выявлена сильная положительная корреляция данного индекса с прогрессированием пародонтита, ухудшением тканевого кровотока [3]. При этом у подростков с АГ не были выявлены изменения индекса пульсации (PI), что может быть связано с отсутствием процессов вазодилатации посткапилляров, вероятно, обусловленным сохранением компенсаторных механизмов регулирования тканевого кровотока в микроциркуляторном русле за счёт увеличения шунтирующего кровотока. Однако полученные результаты по максимальной величине скорости кровотока и индексу периферического сопротивления могут свидетельствовать о наличии нарушений микроциркуляторного кровообращения в тканях десны, что может быть обусловлено наличием системных нарушений кровообращения в условиях АГ. Полученные нами данные согласуются с рядом исследований, свидетельствующих о тесной взаимосвязи заболеваний пародонта и АГ [3,7,11].

Морфологическое и морфометрическое исследование пародонта крыс подтвердило данные предположения. Основу пародонта составляет соединительная ткань (коллагеновые и иные волокна, клеточные элементы, межклеточное вещество и сосуды [6]. Полученные данные позволяют заключить, что у крыс НИСАГ имеется изначальное увеличение площади сосудов пародонта с закономерным снижением соединительной ткани, что может свидетельствовать о кровенаполнении, расширении сосудистого пространства и способствовать развитию стойких микроциркуляторных нарушений. Также, учитывая многочисленные функции, выполняемые пародонтом, при переполнении сосудистого русла можно предположить развитие различных функциональных расстройств у гипертензивных животных, особенно интенсивных при стрессовых воздействиях [9,12].

Таким образом, в условиях АГ в тканях пародонта у человека и крысы в целом наблюдаются однонаправленные изменения, свидетельствующие о морфофункциональных нарушениях микроциркуляторного русла. Причём картина морфологических изменений у животных может быть следствием дисбаланса показателей кровотока в сосудах пародонта как осложнения основного гипертензивного состояния. Изменения скоростных характеристик кровотока в тканях пародонта у подростков с АГ, дополненные морфологической картиной выявленных нарушений, позволяют дать более объективную оценку состояния микроциркуляторного русла и обосновать эффективные способы его коррекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амхадова М.А., Мустафаев Н.М., Толмачев В.Е. Особенности исследования микроциркуляции пародонта при выраженной атрофии костной ткани челюстей // Рос. стоматол. журн. 2012. № 6. С. 32-34.
2. Антонов Е.В., Александрович Ю.В., Серяпина А.А., Климов Л.О., Маркель А.Л. Стресс и артериальная гипертензия: крысы линии НИСАГ (ISIAH) // Вавиловск. журн. генет. и селек. 2015. Т. 19, № 4. С. 455-459.
3. Арутюнов С.Д., Плескановская Н.В., Наумов А.В., Кутушева Д.Р., Богатырева А.М., Бурдули В.Н. Заболевания пародонта и «системные болезни»: известное прошлое, многообещающее будущее // Пародонтология. 2009. № 1. С. 3-6.
4. Волчегорский И.А., Долгушин И.И., Колесников О.Л., Цейликман В.Э. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск, 2000.
5. Колесникова Л.Р., Даренская М.А., Колесникова Л.И., Гребенкина Л.А., Корытов Л.И., Батороев Ю.К., Белинская Е.И., Михалевич И.М., Колесников С.И. Изменения периодонта и пульпы крыс линии НИСАГ при различных режимах стресс-воздействия // Бюл. exper. биол. 2018. Т. 166, № 12. С. 680-683.
6. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем. Колебания, информация, нелинейность. Москва, 2013.
7. Крючков Д.Ю., Романенко И.Г., Джерелей А.А., Крючков О.Н. Дискуссионные аспекты взаимосвязи заболеваний тканей пародонта и сердечно-сосудистого риска (обзор литературы) // Крымский тер. журн. 2014. № 2. С. 16-20.
8. Леонтьева И.В. Лечение артериальной гипертензии у детей и подростков // Рос. вестн. перинатол. и педиатр. 2019. Т. 64, № 1. С. 15-24.
9. Сирак А.Г., Щетинин Е.В., Быкова Н.И., Петросян Г.Г., Сирак С.В., Романенко Р.Г. Экспериментальная оценка структуры эндотелия сосудов пародонта в динамике воспалительного процесса // Мед. вестн. Северного Кавказа. 2018. Т. 13, № 1-1. С. 96-99.
10. Сычева Ю.А., Попов Д.А., Горбачева И.А., Орехова Л.Ю., Шабак-Спаский П.С. Изменения микроциркуляции слизистой оболочки полости рта и нарушения регионарной гемодинамики у больных сердечной недостаточностью // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П.Павлова. 2016. Т. 3, № 3. С. 60-64.
11. Янушевич О.О., Васюк Ю.А., Арутюнов С.Д., Ермольев С.Н., Шупенина Е.Ю., Богатырева Р.М. Клинико-инструментальные взаимосвязи показателей суточного мониторинга артериального давления и регионарного кровотока при заболеваниях пародонта. Часть 1 // Рос. стоматол. 2018. Т. 11, № 4. С. 22-27.
12. Darenkaya M.A., Kolesnikova L.R., Rychkova L.V., Grebenkina L.A., Natyaganova L.V., Korytov L.I., Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I. Lipid peroxidation parameters in different stages of stress-reaction at the inherited stress-induced arterial hypertension rats // Free Radic. Biol. Med. 2018. Vol. 128, Suppl. 1. P. S116-S117.
13. ISIAH RAT Database. URL: <http://sites.icgbio.ru/isiah/en/>
14. Kolesnikova L.I., Rychkova L.V., Kolesnikova L.R., Darenkaya M.A., Natyaganova L.V., Grebenkina L.A., Korytov L.I., Kolesnikov S.I. Coupling of lipoperoxidation reactions with changes in arterial blood pressure in hypertensive ISIAH rats under conditions of chronic stress // Bull. Exp. Biol. Med. 2018. Vol. 164, N 6. P. 712-715.
15. Kolesnikova L.I., Kolesnikova L.R., Darenkaya M.A., Natyaganova L.V., Grebenkina L.A., Korytov L.I., Kolesnikov S.I. Evaluation of lipid peroxidation-antioxidant defense system depending on the stage of stress reaction in hypertensive ISIAH rats // Bull. Exp. Biol. Med. 2019. Vol. 166, N 5. P. 610-612.