

УДК 616.314.17-005.4-036.12:616.995.132.8

Д.В. Фесенко

ГУ «Днепропетровская медицинская академия»

КОРРЕКЦИЯ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО СТАТУСА РОТОВОЙ ПОЛОСТИ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ РЕВМАТОИДНОГО АРТРИТА

Изучено влияние использования кверцетина на состояние микроциркуляторного русла ротовой полости при моделировании ревматоидного артрита. Установлено, что при системном поражении в ротовой полости повреждается микроциркуляторное русло, изменяется состояние соединительной ткани, появляются преимущественно лимфоцитарные очаги, что характеризует патологические изменения в тканях пародонта при ревматоидном артрите. Применение предложенной схемы терапии позволяет улучшить процессы микроциркуляции (увеличение относительной площади сосудов микроциркуляторного русла в 1,6 раза) и уменьшить относительный объем грубой волокнистой соединительной ткани в 1,5 раза.

Ключевые слова: *ревматоидный артрит, гистология, микроциркуляция.*

Введение

Ревматоидный артрит является хроническим воспалительным аутоиммунным заболеванием, характеризующимся синовиальной гиперплазией и разрушением хряща и кости [1], что описывают как хронический деструктивный артрит, при котором развивается пролиферирующий паннус с пролиферацией синовиоцитов, повышенной экспрессией внеклеточного матрикса, инфильтрацией иммунных клеток и неоваскуляризацией [2, 3].

Многие методы профилактики ревматоидного артрита созданы с точки зрения того, что клетки иммунной системы являются ключевыми в патогенезе данного заболевания [4]. Диагностика и наблюдение пациента с ревматоидным артритом должны проводиться с пониманием вовлечения полости рта и развития пародонтита, учитывая данные, касающиеся связи между пародонтитом и ревматоидным артритом [5, 6], что может быть важным ключом к облегчению состояния таких пациентов. Тем не менее до настоящего времени многие аспекты связи между пародонтитом и ревматоидным артритом не изучены, что обуславливает необходимость в экспериментальном изучении патогенеза данного

заболевания для понимания и создания механизмов первичной профилактики и патогенетически обоснованного лечения пациентов с ревматоидным артритом, включая их клинические проявления в полости рта [5, 7].

Одновременно связующим элементом в развитии патологических состояний ротовой полости при ревматоидном артрите может быть поражение сосудов микроциркуляторного русла, поскольку важность изменений последнего достаточно хорошо описана в патогенезе воспалительно-некротических процессов ротовой полости [8].

Учитывая возможное патогенетическое участие изменений микроциркуляторного русла в развитии ревматоидного артрита [9, 10], нами обращено внимание на кверцетин – биоактивный флавоноид с противовоспалительными, иммунодепрессивными и защитными свойствами, который является потенциальным агентом для лечения больных ревматоидным артритом [11] и может быть использован для предупреждения развития повреждения тканей ротовой полости. Этот препарат все чаще используется из-за неблагоприятного воздействия широко распространенного метотрексата на нервную, желудочно-кишечную, ре-

продуктивную, дыхательную, мочевую, сердечно-сосудистую и иммунную системы [11]. Так, различные варианты лечения были использованы для улучшения тканевых нарушений на фоне кверцетина, так как возможно развитие иммуномодуляции с регенераторными изменениями микроциркуляторного русла.

В связи с этим **целью** нашего исследования является изучение влияния использования кверцетина на состояние микроциркуляторного русла ротовой полости при моделировании ревматоидного артрита.

Материал и методы

Для морфологического изучения состояния тканей слизистой оболочки ротовой полости при ревматоидном артрите в целях исключения влияния соматической патологии и социальных факторов поставлен эксперимент на 32 животных (лабораторные белые мышсамцы восьминедельного возраста). Ревматоидный артрит моделировали по методике Кюо Като в модификации, предложенной ранее [12, 13], с применением бычьего сывороточного альбумина и пикрилхлорида. Мышей иммунизировали регулярным введением эмульсии 4 мг/мл 1:1 бычьего сывороточного альбумина с пикрилхлоридом. Животным вводили 0,1 мл эмульсии внутривенно в спину и хвостовую часть. Начиная с 21-го дня каждые пять дней оценивали степень выраженности индуцированного артрита визуальной оценкой лап и прилегающей области. Отек лодыжек измеряли с помощью цифровых штангенциркулей. Каждую лапу оценивали по шкале от 0 до 4 баллов следующим образом: 0 – без видимых изменений; 1 – эритема и легкая припухлость; 2 – эритема и отек, распространяющийся на голеностопные суставы и один или два пальца ноги; 3 – эритема и отек, распространяющийся на плюсневые суставы и более двух пальцев; 4 – анкилозирующая деформация с опуханием сустава. Баллы по каждой лапе были добавлены для получения совокупного балла от 0 до 16. Анкилозирующая деформация с опуханием сустава не отмечена ни у одного животного. Таким образом, считалось, что ревматоидный артрит сформирован у животных при суммарном показателе от 4 до 12 баллов. В дальнейшем животные были разбиты на четыре группы по 8 животных в каждой. Группа сравнения сформирована из животных со смоделирован-

ым ревматоидным артритом, которые не получали лечения. Три исследуемые группы местно в течение 14 дней получали аппликации с препаратом «Квертигил», в состав которого входят кверцетин и гиалуроновая кислота; иммуностимулятором имудон и их комбинацию. Кроме того, дополнительно была исследована группа интактных мышей. Животных выводили из эксперимента методом цервикальной дислокации в соответствии с Европейской конвенцией по защите позвоночных животных (Страсбург, 18.03.86), принципами украинского закона № 3447-IV о защите животных от жестокого обращения.

После выведения мышей из эксперимента ткани слизистой оболочки ротовой полости фиксировали в 10 % формалине, после рутинной проводки изготавливали срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону и по Рего. Микропрепараты изучали на микроскопе «Olympus BX-41» (Япония) с последующей обработкой программой «Olympus DP-soft version 3.2», с помощью которой проводили морфометрическое исследование. Измеряли удельную плотность сосудов микроциркуляторного русла и удельную плотность грубой соединительной ткани.

Статистическая обработка выполнена с использованием методов вариационной статистики. Соответствие распределения нормальному определяли по критерию Shapiro–Wilk's test, который показал, что выборки близки к нормальному распределению. Статистические показатели представлены в формате $M \pm \sigma$, где M – средняя арифметическая величина, σ – стандартное отклонение. Статистическую разницу между исследуемыми показателями считали достоверной при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

При осмотре ротовой полости группы животных с моделированным ревматоидным артритом слизистая оболочка бледная, уплотнена, очаговых изменений видимых тканей не выявлено. Моделирование ревматоидного артрита не изменило микроскопическую организацию слизистой ротовой полости, и слизистая покрыта многослойным плоскоклеточным неороговевающим эпителием за исключением поверхности десны. Уже при изучении препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, отмечается неоднородная толщина плоскоклеточного эпителия, где наблюдаются,

с одной стороны, участки его истончения до одного–двух рядов клеток, с другой – зоны неравномерного утолщения.

У всех животных выявляются признаки воспалительных изменений, которые характеризуются как очаговыми, так и диффузными скоплениями клеток воспалительного ряда, среди которых преобладают лимфоциты. Отмечается поверхностное повреждение эпителиальных клеток вплоть до появления единичных эрозивных дефектов. Большинство эпителиоцитов поверхностного слоя характеризуется выраженной вакуолизацией цитоплазмы, что принято рассматривать как проявление гидрорической дистрофии. Базальные эпителиоциты высокие, узкие, что, по всей видимости, является следствием их пролиферативной активности. При этом во всех слоях эпителия отмечается умеренно выраженный отек.

Помимо характерной гиперплазии базального слоя эпителия и увеличения высоты соединительнотканых сосочков, в собственной пластинке слизистой оболочки имеют место признаки склеротических процессов, хорошо выявляемые при окраске по ван Гизону.

Стромально-эпителиальное соединение образует пальцеобразные фиброваскулярные сосочки, которые проникают в нижние слои многослойного плоскоклеточного эпителия. В строме, состоящей из рыхлой сети эластических и коллагеновых волокон, выявляются многочисленные фибробласты, лимфоциты, полнокровные сосуды микроциркуляторного русла, лимфатические сосуды. У нижней поверхности эпителия эти же стромальные элементы образуют четкую базальную мембрану, направление которой воспроизводит рельеф сосочков.

Стенки сосудов незначительно утолщены, преимущественно из-за фибриноидного набухания, при этом локализация участков фибри-

ноидного набухания и периваскулярной клеточной инфильтрации совпадают. Отмечаются поля десквамации эндотелиоцитов с оголением базальных мембран. Капилляры сосочковых зон собственной пластинки слизистой оболочки полнокровны, отмечается пролиферация клеток адвентиции. Мышечный слой собственной пластинки слизистой оболочки фрагментирован и склерозирован, местами не выявляется. Отмечаются истончение и удлинение миоцитов, признаки дистрофии миофибрилл, гомогенизация цитоплазмы мышечных волокон, набухание и редукция ядер миоцитов.

Часто зоны максимально выраженных изменений представлены не только волокнистой тканью собственной пластинки слизистой, но и в некоторых случаях гладкомышечной тканью собственной пластинки с выраженной инфильтрацией клетками лимфоцитарного ряда. Соединительнотканые волокна отечные, набухшие, разволокненные. Волокна – разной степени зрелости в зависимости от давности процесса вплоть до формирования грубоволокнистой фиброзированной соединительной ткани, инфильтрированной нейтрофилами. Описанные морфологические изменения в тканях слизистой оболочки ротовой полости принято рассматривать как повреждение пародонта с развитием сопутствующих воспалительных, дистрофических процессов при нарушении микроциркуляции, метаболических расстройствах и аутоиммунных процессах. Качественные изменения подтверждаются и морфометрическими изменениями (таблица).

В доступной литературе сведения, касающиеся влияния степени тяжести ревматоидного артрита, стадии его течения на состояние тканей ротовой полости, обрывочны и противоречивы, в то время как такие знания могли бы быть существенным подспорьем в

Изменение морфологических особенностей слизистой ротовой полости (удельной плотности) в зависимости от степени тяжести ревматоидного артрита, %

Структура	Интактные	Ревматоидный артрит	Квертигиал	Имудон	Квертигиал и имудон
Сосуды МЦР	17,28±1,90	9,18±1,20*	13,86±1,70	14,17±1,50 [#]	17,16±1,90 [#]
Грубая соединительная ткань	21,37±1,80	30,27±1,40*	27,56±1,35	26,58±1,65 [#]	24,22±1,30 [#]

Примечания: 1. $p < 0,05$; разница достоверна по сравнению с показателем группы: * интактных животных; [#] моделированного ревматоидного артрита.

2. МЦР – микроциркуляторное русло.

понимании необходимости разработки и создания профилактических мероприятий у лиц, страдающих ревматоидным артритом. Препарат же, влияющий на эндотелиальные клетки, сосуды микроциркуляторного русла, коим является кверцетин [14], используется при лечении больных с рядом патологических состояний [15, 16]. Мы можем утверждать, что поражение микроциркуляторного русла, выявленное при гистологическом исследовании, является важнейшим патогенетическим компонентом поражения слизистой ротовой полости при ревматоидном артрите. Изменения в микроциркуляторном русле напрямую связаны с развитием склеротических процессов и вследствие усиленного синтеза интерстициальных коллагенов на фоне ангиопатии проявляются нарушением коллагенообразования в базальных мембранах, появлением интерстициального коллагена в стенке артериол и десквамацией эндотелиоцитов, что является патогенетически определяющим при артритах [16].

References

1. McInnes I.B., Schett G. (2007). Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 7, pp. 429–442.
2. Nam E.J., Kang J.H., Sung S., Sa K.H., Kim K.H., Seo J.S. et al. (2013). A matrix metalloproteinase 1-cleavable composite peptide derived from transforming growth factor beta-inducible gene h3 potently inhibits collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum.*, vol. 65 (7), pp. 1753–1763, DOI 10.1002/art.37932.
3. Lee J.Y., Choi J.K., Jeong N.H., Yoo J., Ha Y.S., Lee B. et al. (2017). Anti-inflammatory effects of ursolic acid-3-acetate on human synovial fibroblasts and a murine model of rheumatoid arthritis. *Int. Immunopharmacol.*, vol. 49, pp. 118–125, DOI 10.1016/j.intimp.2017.05.028.
4. Eriksson K., Nise L., Kats A., Luttrupp E., Catrina A.I., Askling J. (2016). Prevalence of periodontitis in patients with established rheumatoid arthritis: A Swedish population based case-control study. *PLoS One*, vol. 11 (5), e0155956, DOI 10.1371/journal.pone.0155956.
5. Ozcaka O., Alpoz E., Nalbantsoy A., Karabulut G., Kabasakal Y. (2018). Clinical periodontal status and inflammatory cytokines in primary sjogren syndrome and rheumatoid arthritis. *J. Periodontol.*, vol. 89, pp. 959–965, DOI 10.1002/JPER.17-0730.
6. Kriebel K., Hieke C., Muller-Hilke B., Nakata M., Kreikemeyer B. (2018). Oral biofilms from symbiotic to pathogenic interactions and associated disease – connection of periodontitis and rheumatic arthritis by peptidylarginine deiminase. *Front Microbiol.*, vol. 9, pp. 53, DOI 10.3389/fmicb.2018.00053.
7. Kovac I.V., Kravchenko L.I., Gargin V.V. (2016). Morphofunctional peculiarities of tissue of oral cavity in chronic recurrent aphthous stomatitis with therapeutical correction. *Inter Collegas*, vol. 3, № 3, pp. 146–149.
8. Elshabrawy H.A., Chen Z., Volin M.V., Ravella S., Virupannavar S., Shahrara S. (2015). The pathogenic role of angiogenesis in rheumatoid arthritis. *Angiogenesis*, vol. 18 (4), pp. 433–448, DOI 10.1007/s10456-015-9477-2.
9. MacDonald I.J., Liu S.C., Su C.M., Wang Y.H., Tsai C.H., Tang C.H. (2018). Implications of angiogenesis involvement in arthritis. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19 (7), pii E2012, DOI 10.3390/ijms19072012.
10. Haleagrahara N., Miranda-Hernandez S., Alim M.A., Hayes L., Bird G., Ketheesan N. (2017). Therapeutic effect of quercetin in collagen-induced arthritis. *Biomed. Pharmacother.*, vol. 90, pp. 38–46, DOI 10.1016/j.biopha.2017.03.026.

Перспективность исследований

Все перечисленное дает основание рассматривать предложенную комбинацию препаратов как одну из возможных при коррекции состояния сосудов микроциркуляторного русла ротовой полости при ревматоидном артрите.

Выводы

1. При системном поражении ревматоидным артритом в ротовой полости происходит повреждение микроциркуляторного русла, изменение состояния соединительной ткани и появление преимущественно лимфоцитарных очагов, что характеризует патологические изменения в тканях пародонта.

2. Применение предложенной схемы терапии позволяет улучшить процессы микроциркуляции (увеличение относительной площади сосудов микроциркуляторного русла в 1,6 раза) и уменьшить относительный объем грубой волокнистой соединительной ткани в 1,5 раза.

11. Hirose J., Tanaka S. (2011). Animal models for bone and joint disease. CIA, CAIA model. *Clin. Calcium*, vol. 21 (2), pp. 253–259, DOI ClCa1102253259.
12. Kato I., Endo-Tanaka K., Yokokura T. (1998). Suppressive effects of the oral administration of *Lactobacillus casei* on type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice. *Life Sci.*, vol. 63, issue 8, pp. 635–644.
13. Hwang H.V., Tran D.T., Rebuffatti M.N., Li C.S., Knowlton A.A. (2018). Investigation of quercetin and hyperoside as senolytics in adult human endothelial cells. *PLoS One*, vol. 13 (1), e0190374, DOI 10.1371/journal.pone.0190374.
14. Guazelli C.F.S., Staurengo-Ferrari L., Zarpelon A.C., Pinho-Ribeiro F.A., Ruiz-Miyazawa K.W., Vicentini F.T.M.C. et al. (2018). Quercetin attenuates zymosan-induced arthritis in mice. *Biomed. Pharmacother.*, vol. 102, pp. 175–184, DOI 10.1016/j.biopha.2018.03.057.
15. Yang Y., Zhang X., Xu M., Wu X., Zhao F., Zhao C. (2018). Quercetin attenuates collagen-induced arthritis by restoration of Th17/Treg balance and activation of heme oxygenase 1-mediated anti-inflammatory effect. *Int. Immunopharmacol.*, vol. 54, pp. 153–162, DOI 10.1016/j.intimp.2017.11.013.
16. Liu F.C., Lu J.W., Chien C.Y., Huang H.S., Lee C.C., Lien S.B. (2018). Arthroprotective effects of Cf-02 sharing structural similarity with Quercetin. *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 19 (5), pii E1453, DOI 10.3390/ijms19051453.

Д.В. Фесенко

КОРЕКЦІЯ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО СТАТУСУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ РЕВМАТОЇДНОГО АРТРИТУ

Вивчено вплив використання кверцетину на стан мікроциркуляторного русла ротової порожнини при моделюванні ревматоїдного артриту. Установлено, що при системному ураженні в ротовій порожнині пошкоджується мікроциркуляторне русло, змінюється стан сполучної тканини, з'являються переважно лімфоцитарні інфільтрати, що характеризує патологічні зміни в тканинах пародонта при ревматоїдному артриті. Застосування запропонованої схеми терапії дозволяє поліпшити процеси мікроциркуляції (збільшення відносної площі судин мікроциркуляторного русла в 1,6 разу) і зменшити відносний об'єм грубої волокнистої сполучної тканини в 1,5 разу.

Ключові слова: ревматоїдний артрит, гістологія, мікроциркуляція.

D.V. Fesenko

CORRECTION OF THE MICROCIRCULATORY STATUS OF THE ORAL CAVITY IN THE SIMULATION OF RHEUMATOID ARTHRITIS

The effect of using quercetin on the state of the microcirculatory bed of the oral cavity in the simulation of rheumatoid arthritis was studied. It was established that in case of systemic lesion in the oral cavity, the microcirculatory bed is damaged, the state of connective tissue changes, mainly lymphocytic foci appear, which characterizes pathological changes in periodontal tissues in rheumatoid arthritis. The use of the proposed treatment regimen allows to improve the microcirculation processes (an increase in the relative area of the vessels in the microcirculatory bed by 1.6 times) and to reduce the relative volume of connective tissue by 1.5 times.

Keywords: rheumatoid arthritis, histology, microcirculation.

Надійшла 18.07.18

Відомості про автора

Фесенко Дмитро Володимирович – аспірант кафедри стоматології факультету післядипломної освіти ДЗ «Дніпропетровська медична академія» МОЗ України.

Адреса: 50002, Дніпропетровська обл., м. Кривий Ріг, вул. Лермонтова, 19, кв. 10.

Тел.: +38(093)923-35-90.

E-mail: dfesenko@hotmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4285-2186>.