

in peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging // Aging cel. – 2009. – V. 8 (4). – P. 439–448.

15. *Roussel M. F.* The INK4 family of cell cycle inhibitors in cancer // *Oncogene*. – 1999. – V. 18 (38). – P. 5311–5312.

16. *Nakamura S., Nishioka K.* Enhanced expression of p16 in seborrhoeic keratosis; a lesion of accumulated senescent epidermal cells in G1 arrest // *Br. j. dermatol.* – 2003. – Sep. V. 149 (3). – P. 560–565.

17. *Bruecks A. K., Kalia S., Trotter M. J.* Overexpression of p27KIP1 in seborrhoeic keratosis // *J. cutan. med. surg.* – 2007. – Sep.-oct. V. 11 (5). – P. 174–178.

18. *Wu Y. H.1, Hsiao P. F., Chen C. K.* Seborrhoeic keratosis with bowenoid transformation: The immunohistochemical features and its association with human papillomavirus infection // *Am. j. dermatopathol.* – 2015. – V. 17. – P. 45–48.

19. *Mitrea D. M., Yoon M. K., Ou L., Kriwacki R. W.* Disorder-function relationships for the cell cycle regulatory proteins p21 and p27 // *Biol. chem.* – 2012. – V. 393 (4). – P. 259–274.

20. *Sanchez-Garcia I.* // *An. rev. genet.* – 1997. – V. 31. – P. 429–453.

21. *Dyson N., Baiman A.* Oncogenes and cell proliferation // *Current opinion in genetics and development.* – 1999. – V. 9. – P. 11–14.

22. *Pellegata N. S., Quintanilla-Martinez L., Siggelkow H., Samson E., Bink K., Höfler H., Fend F., Graw J., Atkinson M. J.* Germ-line mutations in p27Kip1 cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans // *Proc. natl. acad. sci. USA.* – 2006. – V. 103. – P. 15558–15563.

23. *Lodish Harvey, et al.* *Molecular cell biology/ 6th.* – New York city: W. H. Freeman and Company, 2008.

24. *Li M., Cheng R., Shi M., Liu J., Zhang G., Liu Q., Yu H., Yao Z.* Analyses of FLG mutation frequency and filaggrin expression in isolated ichthyosis vulgaris (IV) and atopic dermatitis-associated IV // *Br. j. dermatol.* – 2013. – V. 168 (6). – P. 1335–1338.

Поступила 16.12.2015

**К. А. БЕДРОСОВА<sup>1</sup>, П. А. ГАЛЕНКО-ЯРОШЕВСКИЙ<sup>1</sup>,  
В. Л. ПОПКОВ<sup>2</sup>, Л. А. ФАУСТОВ<sup>3</sup>, Н. Л. СЫЧЕВА<sup>4</sup>**

## **БЕНЗОФУРОКАИН КАК КОРРЕКТОР ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ДЕСНЕ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАРОДОНТИТА**

<sup>1</sup>*Кафедра фармакологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,  
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. 8-928-429-21-22.*

*E-mail: Galenko.Yarochovsky@gmail.com;*

<sup>2</sup>*кафедра ортопедической стоматологии ГБОУ ВПО КубГМУ Минздрава России,  
Россия, 350063, г. Краснодар, ул. Седина, 4; тел. 8-928-427-00-31. E-mail: popkov.victor@rambler.ru;*

<sup>3</sup>*курс патологической анатомии НОЧУ ВПО «КМИ»,  
Россия, 350015, г. Краснодар, ул. Буденного, 15; тел. 8 (861) 255-46-07. E-mail: kubmedinstitut@mail.ru;*

<sup>4</sup>*ООО «Три-3-СитиЛаб»,*

*Россия, 350072, г. Краснодар, ул. Московская, 96; тел. 8-918-21-22-742. E-mail: OK@city-lab.info.ru*

При экспериментальном пародонтите у крыс бензофуорокаин в сочетании с традиционной медикаментозной терапией стимулирует ангиогенез, увеличивая васкуляризацию регенерата. При этом в большей степени проявляется способность тканей к органотипической регенерации собственной пластинки слизистой оболочки десны в сочетании с купированием альтеративных проявлений в эпителиальном покрове. Традиционная медикаментозная терапия без бензофуорокаина приводит к развитию в десне главным образом склеротических изменений без нормализации морфофункционального состояния ее эпителиального покрова.

**Ключевые слова:** экспериментальный пародонтит, регенерация, бензофуорокаин.

**K. A. BEDROSOVA<sup>1</sup>, P. A. GALENKO-YAROSHEVSKY<sup>1</sup>,  
V. L. POPKOV<sup>2</sup>, L. A. FAUSTOV<sup>3</sup>, N. L. SYCHEVA<sup>4</sup>**

**BENZOFUROKAIN AS A CORRECTOR OF REGENERATIVE  
PROCESSES IN THE GUMS IN EXPERIMENTAL PERIODONTITIS TREATMENT**

<sup>1</sup>*Chair of pharmacology, SBEI HPE Ministry of health care of Russia,  
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin str., 4;*

*tel. 8-928-429-21-22. E-mail: Galenko.Yarochovsky@gmail.com;*

<sup>2</sup>*chair of orthopedic stomatology, SBEI HPE Ministry of health care of Russia,  
Russia, 350063, Krasnodar, Sedin str., 4; tel. 8-928-427-00-31. E-mail: popkov.victor@rambler.ru;*

<sup>3</sup>the course of morbid anatomy, NSEPI HPE «KMI»,  
Russia, 350015, Krasnodar, Budennov str., 15; tel. 8 (861) 255-46-07. E-mail: kubmedinstitut@mail.ru;  
<sup>4</sup>LLC «Three-Z-City Lab»,  
Russia, 350072, Krasnodar, Moskovskaya str., 96;  
tel. 8-918-21-22-742. E-mail: OK@city-lab.info.ru

In experimental periodontitis in rats benzofurokain alongside the traditional drug therapy stimulates angiogenesis thus increasing the vascularization of the regenerate. It also manifests more pronounced ability to lamina propria gums organotypic tissue regeneration in combination with the relief of alterative manifestations in the epithelium. Traditional drug therapy without benzofurokain leads to the development mainly sclerotic changes in the gums without normalization of morphofunctional state of its epithelium.

*Key words:* experimental periodontitis, regeneration, benzofurokain.

Нашими клиническими и биохимическими исследованиями установлено, что применение бензофуорокаина (БФ) у крыс с экспериментальным пародонтитом (ЭП) оказывает положительное действие на систему энергетического обеспечения тканей пародонта, повышает содержание АТФ и активирует НАД·Н-убихинон-редуктазу, а также резко стимулирует процессы аэробного гликолиза. При этом выраженность гипоксического синдрома снижается, что сопряжено со способностью БФ подавлять скорость генерации супероксидного аниона и перекиси водорода, снижать содержание нитрозотиолов на 13% и метаболитов NO (NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>) на 14%, а также повышать уровень трансферрина. Полученные данные свидетельствуют о выраженной антиоксидантной активности БФ [2].

Все это послужило веским аргументом в пользу проведения исследований регенерационного морфогенеза в тканях десны при применении БФ для конкретизации морфологических критериев более качественного осуществления регенераторного процесса при изучаемой патологии. В этом отношении представлялось важным получение результатов на основе анализа морфологических критериев, считающихся наиболее достоверными среди известных материальных критериев [4, 7, 12].

### **Материалы и методы исследования**

Под наблюдением находилось 45 нелинейных крыс-самцов (массой 200–240 г) с ЭП. Пародонтит у животных вызывали путем наложения лигатур из шовного материала на шейки резцов с последующим погружением лигатур в зубодесневой желобок. Спустя 1 месяц у всех подопытных крыс развивалась патология, клинически соответствующая пародонтиту.

В зависимости от характера лечебных мероприятий были выделены 3 группы по 15 крыс в каждой.

Первой группе животных лечение ЭП не проводилось.

Второй группе животных с ЭП (группа сравнения) проведен 14-дневный курс «традиционной» медикаментозной терапии (ТМТ): орошение полости рта 0,05%-ным раствором хлоргексидина биглюконата, внутримышечное введение линкомицина (30%-ный раствор, 0,1 мл на 100 г), наложение десневых повязок, включающих метилурацил (0,5 г), метронидазол (0,25 г), анестезин (1,0 г), каротолин (1,0 мл) и водный дентин (1,0 г).

Третьей группе животных с ЭП (основная группа) проведен 14-дневный курс ТМТ с дополнительным включением БФ в схему ТМТ. БФ был включен в состав десневых повязок (0,5 г). Кроме того, данный препарат вводили интраабдоминально в дозе 10 мг/кг.

Биопсийное исследование материала из краевой области десны у крыс с ЭП проводили до лечения, а у второй и третьей групп животных – спустя 28 дней от начала лечения (таблица).

Биоптаты десны, взятые из области десневого края, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина и через спирты восходящей концентрации и хлороформ заливали в парафин по общепринятой методике [5]. Готовили парафиновые срезы толщиной 5–7 мкм. Наряду с традиционными способами гистологической и гистохимической окраски срезов (гематоксилином и эозином) для получения обзорных картин использовали способ окраски по Маллори для соединительной ткани, метод Мак Мануса-Хочкисса [8] с докраской клеточных ядер гематоксилином. Широко использовали способы комбинированной окраски, разработанные в лаборатории функциональной морфологии ФГУ «Российский центр функциональной хирургической гастроэнтерологии» (г. Краснодар; зав. лабораторией к. м. н. Н. Л. Сычева). Среди них способ окраски гистологических срезов альдегид-фуксинном – хромотропом – анилиновым синим [10], а также способ окраски альциановым синим – нейтральным красным [11]. Эти способы окраски в значительной мере повышают информативность окрашенных гистологических препаратов.

Объективизация результатов морфологических исследований достигалась применением морфометрии. На окрашенных вертикальных срезах десны толщину ее эпителиального покрова измеряли окуляр-микрометром МОВ-1-15х. Морфометрию площадей проводили с применением стереометрической измерительной сетки Г. Г. Автандилова [1], при этом использовали результаты случайных наложений окулярной сетки, имеющей 100 тест-точек. В соединительно-тканной основе десны определяли относительную площадь, занимаемую воспалительными клеточными инфильтратами, участками склероза, а также площадь, восстановленную по типу реституции (полной регенерации). Оценку васкуляризации регенерата проводили путем определения процентной доли площади собственной пластинки десны, приходящейся на кровеносные сосуды.

Количественные результаты измерений в сравниваемых группах крыс обработали разностным методом вариационной статистики [6] с использованием электронных таблиц «Excel Office 2003» на компьютере серии IBM. Степень достоверности различий ( $p$ ) находили по таблице Стьюдента. Достоверными считали различия при значениях  $p < 0,05$ .

Изучение микропрепаратов осуществляли на микроскопе «МБИ 15 ЛОМО», а для их микрофотографирования использовали систему анализа изображения Nikon eclipse E200 с цветной цифровой камерой «Olympus DR 10». Весь иллюстративный материал в виде цветных микрофотографий является оригинальным.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

На основании изучения биоптатов десны у крыс с ЭП, взятых до лечения, установлено, что воспалительные изменения касаются всего тканевого комплекса десны – как ее соединительно-тканной основы, так и эпителиального покрова. В собственной пластинке десны отмечались отек, расстройства кровообращения, фибриноидные изменения стенок сосудов и соединительно-тканых структур, а также наличие массивного воспалительного клеточного инфильтрата, в составе которого определялись тучные клетки (рис. 1). Присутствие нейтрофильных лейкоцитов в инфильтрате характеризовало остроту воспалительного процесса. Следует, однако, заметить, что воспалительные клеточные инфильтраты не занимали целиком территорию собственной пластинки слизистой оболочки. Всегда сохранялись свободные от инфильтратов участки не только в сосочковом, но и в сетчатом слое.

Эпителиальный покров десны подвергся акантозу часто в сочетании с утолщением и удлинением акантотических отростков (рис. 2), которые углублялись в собственную пластинку слизистой

оболочки и контактировали с воспалительным клеточным инфильтратом. Толщина эпителиального пласта составила  $376 \pm 18$  мкм. Наблюдался диапедез нейтрофильных гранулоцитов в гиперплазированной эпителиальной ткани. В результате очаговых скоплений нейтрофилов возникали очаги нагноений с расплавлением поверхностных участков эпителиального слоя, что приводило к эрозированию слизистой оболочки.

В эпителиальном покрове десны часто выявлялись альтеративные изменения в виде гидropической и баллонной дистрофии (рис. 3), а также избыточного ороговения поверхностных участков эпителиального покрова (рис. 3, 4). Выявлялся дискератоз отдельных клеток и их комплексов (рис. 3). Очевидно, что наблюдаемые альтеративные изменения эпителия в виде гидropической и баллонной дистрофии, а также выявленные особенности кератинообразования в своем возникновении связаны с гипоксическим градиентом подлежащей соединительной ткани и нарушении ее трофической функции [3].

Таким образом, приведенные результаты нашего исследования позволили морфологически охарактеризовать состояние тканевого комплекса десны у крыс с ЭП до проведения лечебных мероприятий.

В группе сравнения эффективность 14-дневного курса ТМТ (без применения БФ) нами морфологически оценивалась при изучении биоптатов десны спустя 28 суток от начала ее проведения. В собственной пластинке слизистой оболочки десны были полностью купированы явления отека, отсутствовали кровоизлияния, фибриноидные изменения сосудов и соединительной ткани. На территории массивного клеточного инфильтрата сформировались тяжи волокнистой соединительной ткани (рис. 5), в связи с этим в 8,5 раза возросла площадь склеротически измененных тканей (таблица). Сами клеточные скопления приобрели характер лимфогистиоцитарных инфильтратов. В сформированном регенерате капиллярная сеть выглядела редуцированной, а сохранившиеся мелкие артерии были склерозированы. Отмечено достоверное уменьшение толщины эпителиального покрова десны, однако в нем сохранялись участки нарушенного кератинообразования с накоплением оксифильных и ШИК-положительных веществ, а также дистрофические изменения в клетках покровного эпителия.

Таким образом, под воздействием ТМТ в собственной пластинке слизистой оболочки десны явно преобладала неполная регенерация. Склеротически измененная ткань выявлялась на площади, составляющей 45% территории сетчатого слоя. Полная регенерация с восстановлением структуры соединительно-тканной основы десны

в количественном выражении отмечена на площади, не превышающей  $5,1 \pm 1,4\%$  (таблица).

В основной группе крыс в результате дополнительного включения препарата БФ в комплекс лечебных мероприятий ТМТ получен более благоприятный эффект на восстановительные процессы в десне по сравнению с только базисной ТМТ. Наряду с купированием морфологических проявлений воспаления отчетливо проявилась способность БФ активизировать ангиогенез. БФ увеличил показатель васкуляризации более чем в 2,9 раза (таблица). При этом образовавшийся регенерат содержал сеть новообразованных кровеносных сосудов (рис. 6–8). Это способствовало не только высокому уровню метаболических процессов в тканях регенерата, но и устранению гипоксии.

Нормализовалась структура эпителиального покрова десны, ликвидировались дистрофические процессы в эпителиоцитах. Толщина эпителиального покрова уменьшилась в 2,2 раза по сравнению с этим показателем в группе до лечения (таблица), нормализовался характер кератинизации. На территории сетчатого слоя наряду с участками неполной регенерации с разрастаниями неспецифической фиброзной ткани постоянно выявлялись значительные по площади участки, восстановленные по типу полной регенерации, т. е. формировалась рыхлая неоформленная соединительная ткань, идентичная той, которая была здесь до ее повреждения (рис. 7, 8).

Если полная регенерация без применения БФ отмечалась на площади, не превышающей  $5,1 \pm$

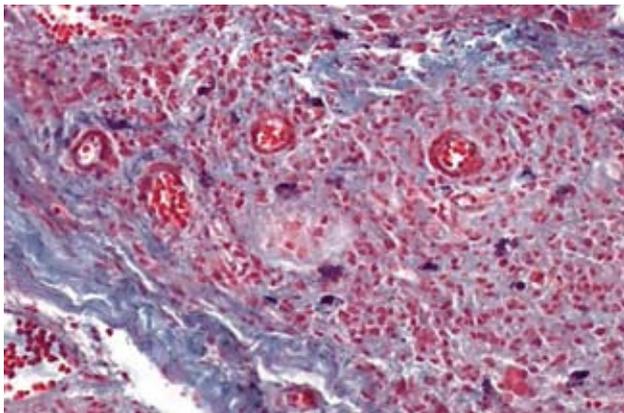
$1,4\%$ , то БФ, дополнительно включенный в ТМТ, обусловил полное восстановление структуры нормальной сетчатой зоны на территории  $31,5 \pm 3,2\%$ . Площадь склеротических полей без БФ составила  $45,0 \pm 3,3\%$ , тогда как с БФ этот показатель уменьшился более чем в 1,6 раза. Приведенные данные являются свидетельством установления принципиальной возможности с помощью БФ значительно увеличивать долю полной регенерации в соединительно-тканной основе десны с нормализацией структуры ее эпителиального покрова.

Таким образом, в процессе проведения морфологических исследований нами было установлено, что БФ выступает в качестве стимулятора и корректора восстановительных процессов в десне. Он в сочетании с ТМТ стимулирует ангиогенез, увеличивая васкуляризацию регенерата в 2,9 раза, что обеспечивало доставку регенерирующим тканям необходимых веществ. Кроме того, развитая сосудистая сеть служила источником, поставляющим регенерирующим тканям специализированные фибробласты, способные создавать соединительно-тканый матрикс, подобный таковому до его повреждения воспалительным процессом [9]. При этом в большей степени проявлялась способность тканей к более совершенной, а именно органотипической регенерации собственной пластинки слизистой оболочки (ее доля возрастала в 6,2 раза) в сочетании с купированием альтеративных проявлений в эпителиальном покрове. Под воздействием только ТМТ (без БФ) регенерация в десне характеризовалась главным образом замещением поврежденных тканей неспецифической

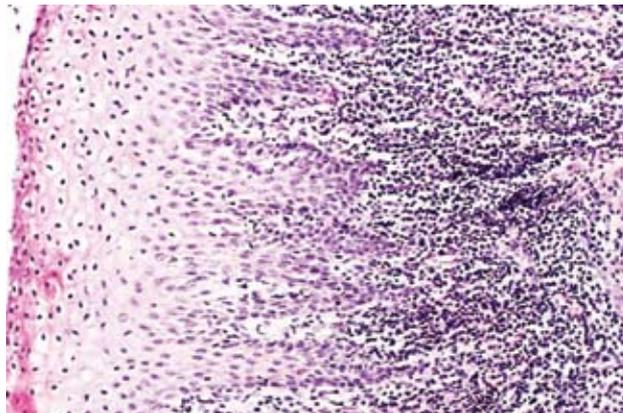
### Результаты морфометрических исследований биоптатов десны до лечения и на 28-й день от начала лечения экспериментального пародонтита у крыс ( $M \pm m$ )

Метод лечения	Средняя толщина эпителиального покрова десны, мкм	Площадь сосудистого русла в сетчатом слое десны, %	Суммарная площадь клеточных инфильтратов в соединительно-тканной основе десны, %	Суммарная площадь склеротически измененных тканей в десне, %	Суммарная площадь в собственной пластинке десны, восстановленной по типу реституции, %
До лечения (n = 15)	$376 \pm 18$	$5,1 \pm 0,4$	$87,2 \pm 8,4$	$5,3 \pm 0,8$	-
14-дневный курс ТМТ (группа сравнения) (n = 15)	$254 \pm 22^*$	$5,2 \pm 0,5$	$44,4 \pm 4,0^*$	$45,0 \pm 3,3^*$	$5,1 \pm 1,4^*$
14-дневный курс ТМТ + БФ (n = 15)	$171 \pm 21^{**}$	$14,9 \pm 1,3^{**}$	$26,6 \pm 2,5^{**}$	$27,0 \pm 1,4^{**}$	$31,5 \pm 3,2^*$

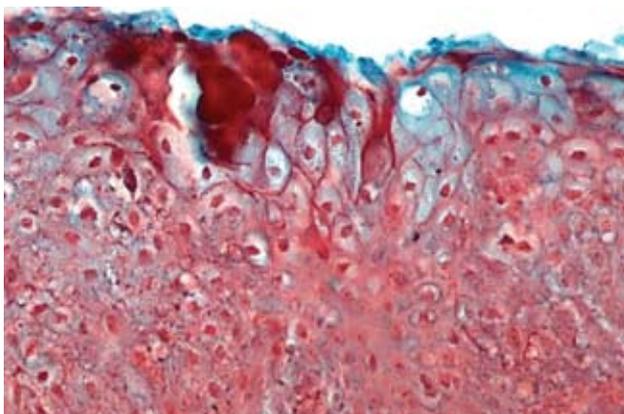
**Примечание:** \* –  $p < 0,001$  по отношению к группе сравнения; + –  $p < 0,001$  по отношению к соответствующим показателям до лечения; ТМТ – традиционная медикаментозная терапия; БФ – бензофуорокаин.



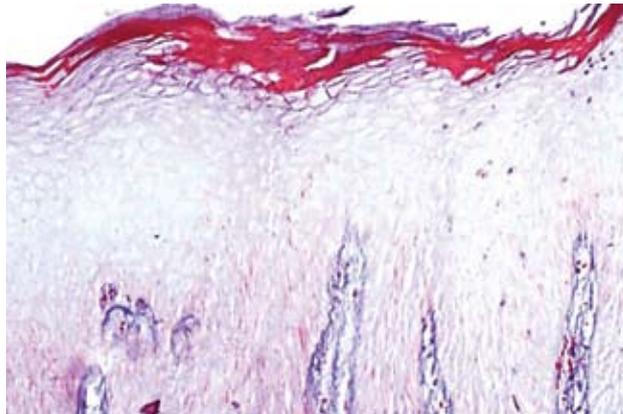
**Рис. 1.** Отек, полнокровие, очаги кровоизлияний, фибриноидные изменения стенок сосудов, густой полиморфный клеточный инфильтрат в сетчатой зоне десны. Тучные клетки в составе инфильтрата. Окраска альдегид-фуксин – хромотропом – анилиновым синим. Ув. × 200



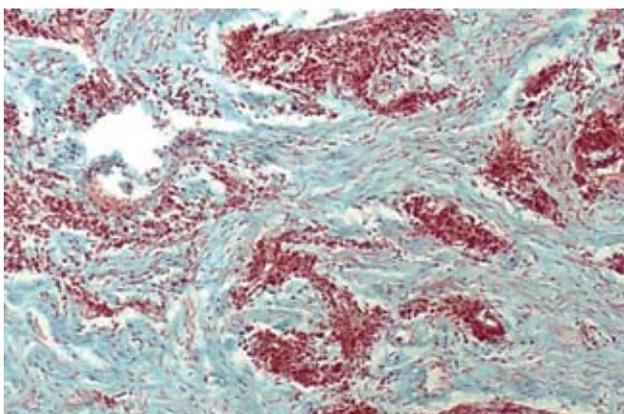
**Рис. 2.** Акантоз, массивный воспалительный клеточный инфильтрат. Вакуольная дистрофия клеток эпителиального покрова десны. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. × 100



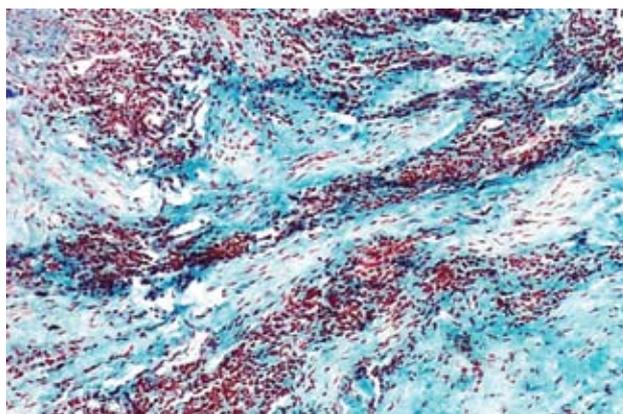
**Рис. 3.** Вакуольная и баллонная дистрофия эпителиальных клеток. Участки дискератоза (красного цвета). Окраска альциановым синим – нейтральным красным. Ув. × 400



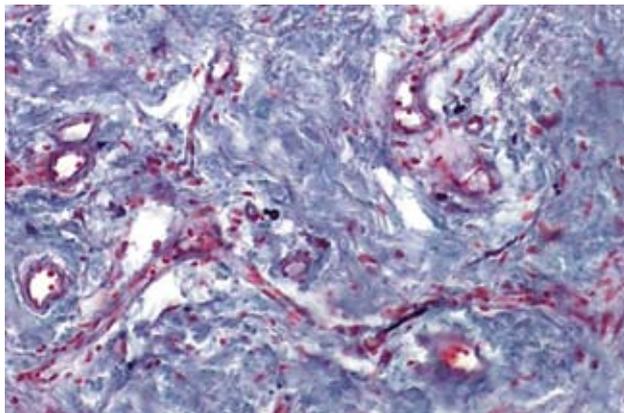
**Рис. 4.** Акантоз. Избыточное ороговение поверхностных участков эпителиального покрова (роговые массы окрашены в красный цвет). Вакуольная дистрофия эпителиальных клеток (картина «плетеной корзины»). Окраска альдегид-фуксин – хромотропом – анилиновым синим. Ув. × 100



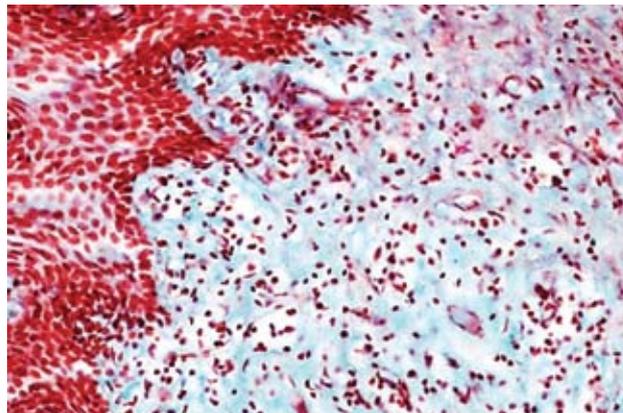
**Рис. 5.** Компактные лимфогистиоцитарные инфильтраты среди полей разросшейся волокнистой соединительной ткани. Окраска альциановым синим – нейтральным красным. Ув. × 100



**Рис. 6.** Выраженная васкуляризация клеточных инфильтратов, разделенных тяжами волокнистой соединительной ткани. В правом нижнем участке микрофотографии – рыхлая неоформленная соединительная ткань в участке регенерации. Окраска альциановым синим – нейтральным красным. Ув. × 100



**Рис. 7.** Сеть новообразованных мелких кровеносных сосудов в составе сформировавшегося регенерата. Окраска альдегид-фуксином – хромотропом – анилиновым синим. Ув. × 200



**Рис. 8.** Васкуляризированный участок реституции в сетчатом слое десны. В рыхлой неоформленной соединительной ткани явно преобладает основное вещество над волокнистыми структурами. Окраска альциановым синим – нейтральным красным. Ув. × 200

фиброзной тканью, что не устраняло нарушений трофики, а также не ликвидировало гипоксические влияния на покровный эпителий.

Считаем необходимым особо подчеркнуть, что проведенные нами исследования на основе анализа морфологических критериев позволили впервые установить, что БФ кроме известных положительных свойств (антиоксидантное, анальгетическое, противовоспалительное, противомикробное, антигистаминное, дерматопротекторное и иммунокорректирующее) [2, 13] обладает выраженным ангиопротекторным действием, а также стимулирует процессы полной регенерации. При этом возрастает способность поврежденных тканей десны к восстановлению типичного (исходного) строения собственной пластинки слизистой оболочки десны в сочетании с нормализацией структуры ее эпителиального покрова.

Таким образом, БФ при дополнительном включении в схему ТМТ при лечении ЭП у крыс проявляет способность значительно увеличивать (в 6,2 раза) долю полной регенерации на территории собственной пластинки слизистой оболочки десны и полностью купировать дистрофические процессы в ее эпителиальном покрове.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. – М.: Медицина, 1990. – 380 с.
2. Бедросова К. А., Попков В. Л., Фаустов Л. А. и др. Бензофуурокаин в терапии экспериментального пародонтита // Бензофуурокаин в терапии хронического генерализованного пародонтита / Под ред. В. К. Леонтьева и П. А. Галенко-Ярошевского. – Краснодар: Просвещение-Юг, 2013. – С. 61–72.

3. Давыдовский И. В. Общая патология человека. – М.: Медицина, 1969. – 611 с.
4. Иванов В. С. Заболевания пародонта (4-е изд., перераб. и доп.). – М.: Медицинское информационное агентство, 2001. – 300 с.
5. Меркулов Г. А. Курс патолого-гистологической техники. – Л.: Медицина, 1969. – 423 с.
6. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патол. физиол. и эксперим. тер. – 1960. – № 4. – С. 76–85.
7. Пальцев М. А. Патологическая анатомия и ее место среди медико-биологических дисциплин // Патологическая анатомия. Курс лекций / Под ред. В. В. Серова и М. А. Пальцева. – М.: Медицина, 1998. – С. 5–11.
8. Пирс Э. Гистохимия теоретическая и прикладная. – М.: Мир, 1962. – 963 с.
9. Серов В. В. Воспаление, регенерация и дисрегенерация // Патологическая анатомия. Курс лекций / Под ред. В. В. Серова и М. А. Пальцева. – М.: Медицина, 1998. – С. 181–194.
10. Сычева Н. Л. Методические аспекты собственных морфологических исследований // Репаративная регенерация / Под ред. Л. А. Фаустова. – Краснодар: КМИ, 2009. – С. 27–32.
11. Сычева Н. Л., Сычев В. А. Способ дифференцированной окраски биологической ткани альциановым синим // Матер. 18 Всерос. науч. конф. с междунар. участием «Физиология и патология пищеварения». – Краснодар, 2002. – С. 239–240.
12. Фаустов Л. А. Основы клинической патоморфологии: Материалы лекций по курсу патологической анатомии. – 2-е изд., перераб. и доп. – Краснодар: КМИ, 2014. – 398 с.
13. Фомина Л. В., Бондарчук А. О. Спектр действия бензофуурокаина и перспективы его расширения // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2011. – Т. 2. № 1. – С. 18–24.

Поступила 14.10.2015