

Idegi, valamint endothel eredetű mediátorok szerepe és kölcsönhatása a gingiva keringésének szabályozásában

A parodontium részét képező marginális gingiva megbetegedése megfelelő kezelés hiányában idővel a fogak lazulásához, elvesztéséhez vezethet. A gingiva egészségi állapotának megítéléséhez jelentős segítséget nyújt vérellátottságának ismerete. Kísérletsorozatban tanulmányoztuk ezért az ínkeringés szabályozásában lehetségesen résztvevő egyes vazóaktív mediátorok hatását patkányban. Vizsgálatainkat pathológiás ínmodellre is kiterjesztettük. Néhány, a napi ellátásban nagy gyakorisággal használt fogorvosi beavatkozás gingiva állapotára (szöveti nutritív perfúzió, creviculáris folyadékérválasztás mértéke, gingivális sulcus tágassága) gyakorolt hatásának tanulmányozására klinikai vizsgálatokat is folytattunk.

A vazóaktív anyagokat, specifikus blokkolókat patkányban többnyire a gingivára csepepentve lokálisan, néhány kísérletben i.v. alkalmaztuk. A keringésváltozás meghatározására lézer Doppler áramlásmérést, valamint vitálmikroszkópiát használtunk. A fogak körüli ligatúra felhelyezésével krónikus gingivitis modellt hoztunk létre patkányban. Ugyancsak patkányban az egyoldali nervus ischiadicus antidromos elektrostimulációjával a hátsó végtag bőrében neurogen gyulladást provokáltunk (elsődleges reakció), majd ennek hatását vizsgáltuk ugyanazon kísérleti állat gingivájában capsaicin lokális alkalmazásával kiváltott neurogén gyulladás (másodlagos reakció) mértékére. Vizsgáltuk továbbá a két ingerlés között eltelt idő változtatásának hatását is. A ligatúrával kiváltott gingivitis modellben, ill. a neurogén gyulladás kiváltását követően az érfal permeabilitásában létrejövő változást Evans kék, ill. <sup>125</sup>I-albumin módszerrel regisztráltuk. A parodontiumnak ugyancsak részét képező alveolaris csontállomány kísérleti körülményeink között észlelhető változását MicroCT analízissel vizsgáltuk: több ponton mértük és mm-ben fejeztük ki az alsó első moláris fogak körül a zománc-cement határ (CEJ) és a crista alveolaris egymástól való távolságát. E módszer alkalmas az egyes csoportok csontszerkezetében fellelhető különbségek tanulmányozására is.

Patkányban, az  $\alpha_1$ , valamint  $\alpha_2$  adrenerg érreceptorok keringésszabályozásban való szerepének tisztázása során speciális  $\alpha_1$  receptor agonista (phenylephrin) alkalmazásával megállapítottuk, hogy a gingiva erekben mindkettő jelen van és résztvesznek az érszűkítő hatás közvetítésében. Kísérletes „gingiva” modellünkben a béta-adrenerg receptoroknak nincs kimutatható szerepe az adrenalin hatás közvetítésében.

Tanulmányoztuk az endothelin-1 (ET-1), valamint precursor molekulájának (bigET-1) hatását a gingiva vérellenállására. Vizsgáltuk az ET receptorok (ET<sub>A</sub>, ET<sub>B</sub>) szerepét is fenti agonisták hatásának kialakulásában in vivo, normotenzív patkányokban. Megállapítottuk, hogy ET-1 fokozta az érellenállást, azaz igen hatékony érszűkítő az ínben. Hasonló, de lassúbb és elnyújtottabb válaszreakciót kaptunk bigET-1 esetében. Az ET<sub>A</sub> receptorok blokkolását követő szignifikáns értágulatért nitrogén monoxid (NO) és prostaglandin függő vazodilatátor rendszer tehető felelőssé. Kísérleti körülményeink között más, nem ET<sub>A</sub> receptor (ET<sub>B</sub>?) szabályozó szerepe is felmerülhet.

A vaszkuláris endotheliális növekedési faktor (VEGF) érproliferációt, permeabilitást fokozó hatását már kimutatták. Kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy a VEGF-nek van-e lokális hatása a gingiva mikrocirkulációjára. A VEGFR-2 receptor blokkoló ZM323881-et ugyancsak adagoltuk. Megállapítottuk, hogy a lokális alkalmazott VEGF az ín venuláiban szignifikáns, koncentráció függő dilatációt okozott, míg a ZM323881 önmagában nem változtatta meg szignifikánsan a venulák átmérőjét. A ZM323881 előkezelés meggátolta a VEGF értágító hatásának kialakulását. Mindezek arra utalnak, hogy a VEGF a gingiva bazális keringésének

szabályozásában ugyan nem vesz részt, de az íny VEGF-2 érreceptorain keresztül befolyásolhatja annak perfúzióját.

Az endogén szénmonoxid (CO) igen toxikus, életet veszélyeztető szennyezőanyag. Mára azonban kiderült, hogy szervezetünk saját maga is termeli, és számos életfolyamatban jelentős szereppel bír. A CO-ot a hemoxigenáz (HO) enzim állítja elő hemből biliverdin és vas mellett. Célkitűzésünk volt a HO által termelt CO fogíny vérkeringésben betöltött esetleges szabályozó szerepének vizsgálata. Altatott patkányban HO blokkoló (ip. zinc deuteroporphyrin 2,4-bis glycol (ZnDPBG)) beadás előtt és után mértük a szisztémás vérnyomást, valamint a felső metszők között, a centrális papillán a fogíny véráramlását. A fenti vizsgálatot megismételtük NO szintézis gátlás után is. A HO enzim gátlása szignifikánsan csökkentette a fogíny véráramlását és fokozta érelenállását a szisztémás vérnyomás befolyásolása nélkül. Az NO deficiens állapot szignifikánsan fokozta a bazális vérnyomást és kivédte a HO enzim gátlás vérkeringési hatásait az ínyben. Adataink azt mutatják, hogy a HO által termelt endogén CO hozzájárul a fogíny bazális véráramlását fenntartó nyugalmi értónus kialakításához. Az endogén CO ezen vazodilatációs hatása NO dependens.

Álműtött állatokban lokális capsaicin adagolás az albumin kiáramlást a kontrol értékhez képest jelentősen fokozta ( $458,2 \pm 50,3$  vs  $295,0 \pm 7,4$ ;  $p < 0,01$ ). A szájnyalkahártya capsaicin stimulációját különböző időpontokkal megelőzően alkalmazott n. ischiadicus ingerlés a gingivomucosalis érfalpermeabilitás fokozódást az idő függvényében befolyásolta (5 perc:  $291,0 \pm 15$ ;  $p < 0,01$ ; 10 perc:  $370,8 \pm 13,5$ ; 15 perc:  $445,0 \pm 26,7$ ). NOS előkezelés a capsaicin lokális hatását nem befolyásolta. Változatlan volt a capsaicin hatása a n. ischiadicus stimulált (5 perc) állatcsoportban is. Eredményeink azt mutatják, hogy az antidrómos ingerléssel kiváltott neurogén gyulladás gyulladásgátló hatása a gingivomucosalis nyálkahártyában kimutatható. A gyulladásgátló hatás kifejlődésében a nitrogénoxid szerepe valószínűsíthető. Fenti kísérletekben az érfalpermeabilitás változás mérésére a  $^{125}\text{I}$ -albumin módszert állítottuk be és alkalmaztuk sikerrel.

A gyomornedvből izolált BPC157 jelentős gyulladásgátló és citoprotektív hatással bír a különböző kísérleti modellekben. Kísérleteinkben arra kerestük a választ, van-e hatása a BPC157 szisztémás és lokális alkalmazásának az egészséges, illetve a gyulladt fogínyre. Szisztémás adagolását követően sem a szisztémás (vérnyomás, szívfrekvencia), sem a lokális (gingiva véráramlása, érelenállása) keringési paraméterekben nem tapasztaltunk szignifikáns változást. Ugyanakkor a lokálisan alkalmazott BPC157 az egészséges ínyen vazokonstriktiót okozott. Kísérletes parodontitisben a  $10 \mu\text{g}/\text{kg}$  dózisban adagolt BPC157 jelentősen redukálta a gyulladással extravazáció mértékét a kontroll csoporthoz viszonyítva, míg a  $100 \text{ ng}/\text{kg}$  dózisú csoportban nem tapasztaltunk változást. Fentiek szerint BPC157 krónikus alkalmazása kísérletes parodontitisben létrejött gingivitisnél gyulladáscsökkentő hatással bír. A klinikai gyakorlatban lehetőséget látunk fogágybetegség esetén adjuváns gyógyszerként való alkalmazására.

MikroCT segítségével felvett morфомetriai paraméterek értékelésével megvizsgáltuk továbbiakban BPC157 hatását a kísérletes fogágybetegségben megfigyelhető csontelváltozásokra is. Meghatároztuk a fog kerületének több pontjában a csontpusztulás mértékét, ill. vizsgáltuk a csontszerkezet változásában kialakuló esetleges különbségeket. Kísérleteinket altatott patkányokon végeztük. Ligatúrával kiváltott parodontitisben, 12 napon keresztül, napi egyszeri ip. fiziológiás sóoldat ( $n=6$ , kontroll), vagy BPC157 ( $10 \mu\text{g}/\text{tskg}$ ,  $n=6$ ) beadás után az alveoláris csontpusztulás mértékét tanulmányoztuk mikroCT leképezéssel. A beállításból adódóan  $10 \mu\text{m}$ -es pixel felbontást értünk el. Az első alsó moláris fog körül a zománc-cement határ (CEJ) és a crista alveolaris távolságát buccalisan,

mesialisan, lingualisan, mesiolingualisan és mesiobuccalisan mértük. Vizsgáltuk továbbá a két csoport közötti különbséget a trabecula mintázottság, trabecula vastagság, trabecula szeparáció, trabecula szám, átlagos excentrikusság, Euler-szám, inercia nyomaték és a MIL anizotrópia tekintetében. Eredményeink szerint BPC157 hatására a csontszint redukció a fog buccalis, mesiolingualis, ill. lingualis oldalán egyaránt szignifikánsan csökkent ( $p < 0,05$ ). A mikroCT-vel történő csontanalízis arra utal, hogy BPC157 fogágybetegségben az alveoláris csontállományra protektív hatása bír.

Fogpótlások készítésekor, a pontos lenyomat biztosításához az ínyszerű (gingivalis sulcus) feltárására van szükség. Erre a célra klinikumban leggyakrabban használatos eljárás annak kemomechanikai tágítása, melynek során különböző vérzéscsillapító, ill. adstringens oldatokba mártott, vagy ezekkel előzetesen átitatott fonalakat helyeznek be az ínyszerűbe. Előkísérleteink során vizsgálatokat folytattunk e fonalak maximális telítődési idejének meghatározására, valamint a folyadékfelszívás ütemének standardizálására. Három különböző vastagságú retrakciós fonal folyadékfelvő képességét tanulmányoztuk négyféle sulcustágító oldat esetében. Eredményeink szerint a felszívódás kinetikája az idő függvényében, lineáris rendszerben logaritmikus összefüggéssel az alábbi egyenlettel írható le:  $y = k + k' \times \lg x$ , ahol  $k$  és  $k'$  a retrakciós fonal és a sulcustágító folyadék minőségétől függő empirikus állandók. Kimutattuk továbbá, hogy a méretre vágott fonalakat felhasználás előtt a sulcustágító folyadékban legalább 20 percig áztatni kell. A folyamat standardizálásához a felszívódási művelet előtt a száraz fonalakban levő légbuborék zárványokat manuális préssel el kell távolítani.

A parodontium/gingiva egészségi állapotát a fogorvosi restauráció procedurája jelentősen befolyásolhatja. Ilyen klinikai beavatkozás a fent említett ínyszerű tágítás, melynek során a barázda feltárása mellett törekszünk arra is hogy vértelen, ill. a crevicularis (sulcus) folyadék (CF) szekréció gátlódásának következtében száraz legyen. Mint azt munkacsoportunk már korábban kimutatta, fiziológiás sóoldattal átitatott fonal eltávolítás után a marginális gingivában reaktív hyperémia, valamint fokozott CF elválasztás jelentkezik, mely változásokat adrenalin retrakciós folyadék használatával kivédhetünk. Az alkalmazott adrenalin koncentrációjától függően azonban számolni kell annak esetleges lokális, ill. szisztémás káros hatásával is. Az elvégzett kísérletsorozatban ennek megfelelően kerestük azt a hatékony adrenalin koncentrációt, mely felfüggeszti a reaktív szöveti hyperémiát, minimalizálja a CF elválasztást anélkül, hogy szisztémás, ill. lokális mellékhatása lenne. Megállapítottuk, hogy a retrakciós fonalak eltávolításakor észlelt, tartósan fokozott CT szekréció, valamint hyperémia 0,01 %-os adrenalin oldat alkalmazásával minden mellékhatás nélkül elkerülhető.

A fogorvosi ténykedés során alkalmazott barázdatágítás hatékonyságát a sulcus horizontális, valamint vertikális tágasságával jellemezhetjük. Kísérleteket folytattunk ezért, hogy kiválasszuk azt a retrakciós oldatot, amely a leghosszabb ideig a legtágasabb sulcust biztosítja a lenyomatvétel számára. Replica technikával nyert mérési eredményeink alapján úgy látjuk, hogy a barázda tágassága szempontjából a vizsgált fiziológiás sóoldat, alumínium-klorid, vas-szulfát, valamint 0,01 %-os adrenalin oldatok közül az utóbbi a leghatékonyabb.

A parodontium pusztulásának egyik fontos jele a marginális ínyszerű retrakciója, azaz a „tapadásvesztés”. A megbetegedett parodontális szövetek gyógyításának ígéretes lehetősége pulpalis vagy parodontális progenitor/össejtek alkalmazása. Eltávolított bölcsességfogak pulpájából, ill. parodontális szövetekből tenyésztéssel sejt kultúrát nyertünk, egyebek mellett multipotenciális össejtek előállítására. E sejt kultúrákon tanulmányoztuk a fogászatban használatos különböző anyagok (adstringensek, adrenalin, Emdogain stb.) sejtproliferációra gyakorolt, ill. toxikus hatását is. STRO-1 immunreaktivitás észlelésével

saját sejt kultúráinkban valószínűsítettük a mesenchymalis őssejtek jelenlétét. A sejt kultúrában a vizsgált hemosztatikumok, ill. retrakciós szerek klinikumban használt koncentrációi toxikusnak bizonyultak. Emdogain a sejtproliferációt fokozta.