

УДК 616.36–102.2–07:616.–078.33

ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ГЕЛЯ С НАНОЗОЛОТОМ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАРОДОНТИТЕ

Левицкий А.П.¹, Борисенко А.В.², Ткач О.Б.²

¹ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины» (г. Одесса)

²Киевский национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца; e-mail: flavan@mail.ru

Моделирование пародонтита у крыс с помощью аппликаций геля с протамин-сульфатом вызывает в десне развитие дисбиоза, снижает содержание гиалуроновой кислоты и повышает степень атрофии альвеолярного отростка. Аппликации геля с сорбентом, содержащим наночастицы золота (5 нм, 500 мкг/г) снижают степень дисбиоза, увеличивают содержание гиалуроновой кислоты и нормализуют показатель атрофии альвеолярного отростка.

Ключевые слова: нанозолото, мукозальные гели, десна, пародонтит, дисбиоз, гиалуроновая кислота

Введение

Ранее нами была показана способность мукозальных гелей, содержащих наночастицы золота или серебра на силикагелевом носителе, оказывать положительное действие на ткань десны крыс после воздействия кишечного эндотоксина (липополисахарида, ЛПС) [1].

Целью настоящей работы стало изучение пародонтопротекторного действия геля, содержащего наночастицы золота, при моделировании протаминового пародонтита.

Выбор нанозолота сделан по той причине, что именно наночастицы золота в наибольшей степени восстанавливали активность лизоцима, сниженную при действии ЛПС [1].

Что же касается протаминовой модели пародонтита, то она выбрана в связи с тем, что протамин, как ингибитор гепарина, активирует гиалуронидазу, которая повышает проницаемость гисто-гематических барьеров и является провоспалительным фактором [2].

Материалы и методы исследования

В работе был использован мукозальный 3 %-ный гель КМЦ (карбоксиметилцеллюлоза, натриевая соль), содержащий 5 % силикагеля с включением 500 мкг/г наночастиц золота размера 5 нм [1, 3]. Для сравнения исполь-

зовали также мукозальный гель КМЦ без сорбента («пустой» гель) и мукозальный гель, содержащий 5 % силикагеля (препарат сравнения).

Протаминовый пародонтит воспроизводили у крыс путем трехдневного нанесения на десну по 0,5 мл геля КМЦ, содержащего 10 % раствора протамин сульфата в концентрации 10 мг/мл [4].

Эксперименты были проведены на 35 белых крысах линии Вистар (самки, 5 месяцев, средняя живая масса 230 ± 15 г). Все крысы были распределены в 5 равных групп: 1-ая – норма, 2-ая – пародонтит (без лечения), 3-я – пародонтит + «пустой» гель, начиная с 5 дня опыта в течение 5 дней, 4-ая – пародонтит + гель, содержащий 5 % силикагеля и 5-ая – пародонтит + гель с наночастицами золота.

Все лечебные гели наносили на десну в количестве 0,5 мл один раз в день после еды в течение 5 дней.

Эвтаназию животных осуществляли на 13-й день от начала опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Иссекали десну и альвеолярный отросток нижней челюсти. Ткани до исследования хранили при -30°C .

В гомогенатах десны (20 мг/мл

0,05 М трис-НСI буфера, рН 7,5) определяли активность уреазы [5], лизоцима [5], эластазы [6], каталазы [6], содержание малонового диальдегида (МДА) [6] и концентрацию гиалуроновой кислоты [7]. По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-про-

оксидантный индекс АПИ [6], а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [8].

В гомогенате костной ткани альвеолярного отростка определяли активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз [9]. По соотношению ЩФ/КФ рассчитывали индекс минерализующей способности костной ткани пародонта (ИМ) [10].

Степень атрофии альвеолярного отростка определяли по методу [11].

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты определения в десне активности уреазы (биохимический маркер микробной обсемененности) и лизоцима (показатель неспецифического иммунитета). Как видно из этих данных, при моделировании пародонтита активность уреазы возрастает в 1,7 раза (хотя $p > 0,05$), что свидетельствует об увеличении микробной обсемененности десны. Аппликации геля с нанозолотом снижают этот показатель в 1,5 раза.

Напротив, активность лизоцима в десне крыс с пародонтитом снижается в 1,9 раза, тогда как у крыс, получавших аппликации гелей с силикагелем или с нанозолотом, активность лизоцима

Влияние геля с нанозолотом на активность уреазы и лизоцима в десне крыс с экспериментальным пародонтитом (во всех группах $n = 7$)

№№ гр.	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1.	Норма	0,38 ± 0,10	252 ± 39
2.	Пародонтит	0,63 ± 0,10 $p > 0,05$	132 ± 45 $p > 0,05$
3.	Пародонтит + гель «пустой»	0,63 ± 0,12 $p > 0,05$	149 ± 55 $p > 0,05$
4.	Пародонтит + гель с сорбентом	0,62 ± 0,10 $p > 0,05$ $p_1 > 0,8$	202 ± 47 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$
5.	Пародонтит + гель с нанозолотом	0,42 ± 0,12 $p > 0,5$ $p_1 > 0,05$	202 ± 57 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$

Примечания. p – показатель достоверности различий с гр. № 1; p_1 – показатель достоверности различий с гр. № 3.

снижается лишь в 1,2 раза.

Рассчитанная по этим показателям степень дисбиоза десны представлена на рис. 1, из которого видно, что этот показатель у крыс с пародонтитом возрастает более чем в 3 раза и достоверно снижается после аппликаций гелей с силикагелем и, особенно, с нанозолотом. В последнем случае степень дисбиоза десны снижается почти до нормы.

В табл. 2 представлены результаты определения уровня маркеров воспаления – активность эластазы и содержание МДА. Как видно из этих данных, при пародонтите увеличивается уровень обоих маркеров, что свидетельствует о начинающемся воспалении в десне (гингивит). Аппликации геля с сорбентом и геля с нанозолотом снижают уровень эластазы (однако, $p > 0,05$).

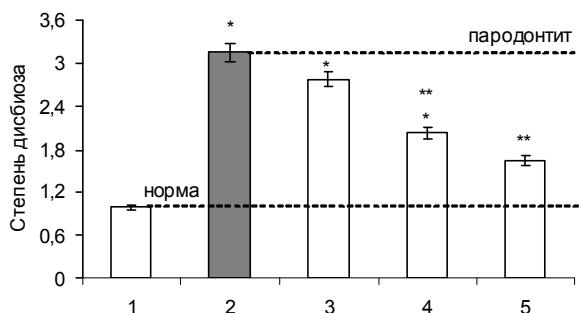


Рис. 1. Влияние геля с нанозолотом на степень дисбиоза десны крыс с экспериментальным пародонтитом (1 – норма, 2 – пародонтит (П), 3 – П + гель «пустой», 4 – П + гель с сорбентом, 5 – П + гель с нанозолотом)

* – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 1; ** – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 3

В табл. 3 представлены результаты определения активности каталазы и индекса АПИ в десне крыс с экспериментальным пародонтитом. Хотя активность каталазы при пародонтите снижается, а под влиянием мукозальных гелей несколько увеличивается, однако из-за большого разброса данных p во всех случаях больше 0,05.

В отличие от активности каталазы, индекс АПИ при пародонтите снижается достоверно, однако аппликации гелей с силикагелем или с нанозолотом практически его не изменяют.

На рис. 2 представлены результаты определения содержания гиалуроновой кислоты в десне крыс с пародонтитом. Как известно, гиалуроновая кислота – это межклеточный «цемент», который снижает проницаемость гистогематических барьеров и тем самым оказывает противовоспалительное действие [2]. При моделировании пародонтита содержание гиалуроновой кислоты в десне существенно снижается и лишь после аппликаций геля с нанозолотом достоверно возрастает, хотя и не до нормы.

Таблица 2

Влияние геля с нанозолотом на уровень маркеров воспаления в десне крыс с экспериментальным пародонтитом (во всех группах $n = 7$)

№№ гр.	Группы	Эластаза, мк-кат/кг	МДА, мкмоль/кг
1.	Норма	31 ± 4	13,0 ± 1,3
2.	Пародонтит	38 ± 3 $p > 0,05$	16,3 ± 0,6 $p < 0,05$
3.	Пародонтит + гель «пустой»	37 ± 3 $p > 0,05$	15,6 ± 1,0 $p > 0,05$
4.	Пародонтит + гель с сорбентом	33 ± 2 $p > 0,3$ $p_1 > 0,1$	15,7 ± 1,4 $p > 0,05$ $p_1 > 0,9$
5.	Пародонтит + гель с нанозолотом	30 ± 4 $p > 0,8$ $p_1 > 0,3$	15,6 ± 1,6 $p > 0,05$ $p_1 > 0,9$

Примечания. p и p_1 – см. табл. 1.

Таблица 3

Влияние геля с нанозолотом на активность каталазы и индекс АПИ в десне крыс с экспериментальным пародонтитом (во всех группах $n = 7$)

№№ гр.	Группы	Каталаза, мкат/кг	АПИ
1.	Норма	7,33 ± 0,92	5,64 ± 0,52
2.	Пародонтит	6,36 ± 0,51 $p > 0,3$	3,90 ± 0,31 $p < 0,05$
3.	Пародонтит + гель «пустой»	6,70 ± 0,30 $p > 0,1$	4,29 ± 0,30 $p < 0,05$
4.	Пародонтит + гель с сорбентом	6,82 ± 0,23 $p > 0,1$ $p_1 > 0,3$	4,34 ± 0,31 $p < 0,05$ $p_1 > 0,5$
5.	Пародонтит + гель с нанозолотом	6,85 ± 0,37 $p > 0,05$ $p_1 > 0,03$	4,39 ± 0,34 $p < 0,05$ $p_1 > 0,5$

Примечания. p и p_1 – см. табл. 1.

Таблица 4

Влияние геля с нанозолотом на активность фосфатаз и индекс минерализации костной ткани пародонта крыс с экспериментальным пародонтитом (во всех группах $n = 7$)

№№ гр.	Группы	ЩФ, нкат/кг	КФ, нкат/кг	ИМ
1.	Норма	120,9 ± 14,6	1,99 ± 0,22	60,7 ± 1,9
2.	Пародонтит	123,0 ± 9,4 $p > 0,6$	2,16 ± 0,05 $p > 0,3$	56,9 ± 1,7 $p > 0,3$
3.	Пародонтит + гель «пустой»	88,9 ± 7,0 $p < 0,05$	2,13 ± 0,18 $p > 0,3$	41,7 ± 1,4 $p < 0,05$
4.	Пародонтит + гель с сорбентом	97,0 ± 7,2 $p > 0,05$ $p_1 > 0,2$	2,130 ± 0,12 $p > 0,3$ $p_1 = 1$	45,5 ± 1,5 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$
5.	Пародонтит + гель с нанозолотом	108,9 ± 10,1 $p > 0,3$ $p_1 > 0,05$	2,15 ± 0,12 $p > 0,3$ $p_1 > 0,7$	50,6 ± 3,1 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примечания. p и p_1 – см. табл. 1.

На рис. 3 показано, как изменяется степень атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти крыс с экспериментальным пародонтитом. Видно, что при пародонтите достоверно возрастает степень атрофии, а под влиянием апплика-

ции гелей с силикагелем или с нанозолотом степень атрофии костной ткани достоверно снижается, причем после аппликаций геля с нанозолотом – до нормы.

В табл. 4 представлены результаты определения в костной ткани пародонта активности фосфатаз и индекса минерализации (ИМ). Видно, что достоверно снижается лишь индекс ИМ, причем аппликации гелей даже несколько усугубляют состояние минерализации. Однако, если индекс минерализации сравнивать с аналогичным показателем 3-й группы (группа сравнения), то гель с нанозолотом достоверно увеличивает минерализующую способность костной ткани пародонта, причем, главным образом, за счет роста активности ЩФ, которая является маркером остеобластов [10].

Выводы

1. Моделирование пародонтита с помощью протамина увеличивает степень дисбиоза десны за счет увеличения микробной обсемененности и снижения уровня неспецифического иммунитета.
2. Развитие дисбиоза в десне снижает содержание гиалуроновой кислоты и увеличивает степень атрофии альвеолярного отростка.
3. Аппликации на десну геля с нанозолотом снижают степень дисбиоза, увеличивают содержание гиалуроновой кислоты и нормализуют показатель атрофии альвеолярного отростка.

Литература

1. Борисенко А.В., Ткач О.Б., Левицкий А.П. Влияние оральных аппликаций силикагеля, содержащего наночастицы золота или серебра на степень дисбиоза десны

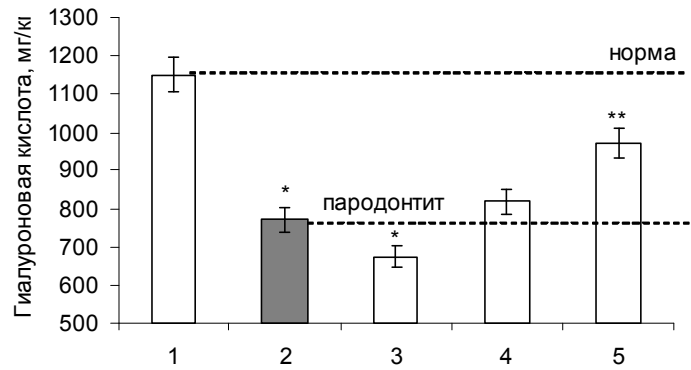


Рис. 2. Влияние геля с нанозолотом на содержание гиалуроновой кислоты в десне крыс с экспериментальным пародонтитом (1-5 – см. рис. 1)

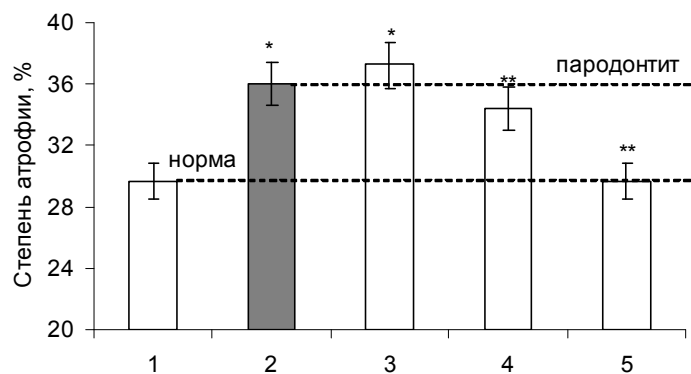


Рис. 3. Влияние геля с наночастицами золота на степень атрофии альвеолярного отростка нижней челюсти крыс с экспериментальным пародонтитом (1-5 – см. рис. 1)

крыс после воздействия липополисахарида // Вісник стоматології. – 2013. – № 3 (84). – С. 2-4.

2. Соколова И.И., Хлыстун Н.Л., Левицкий А.П. Роль гиалуронидазы в патогенезе дистрофически-воспалительных заболеваний пародонта // Вісник стоматології. – 2012. – Спец. выпуск № 6. – С. 125.
3. Трохимчук А.К., Легенчук А.В., Подольская В.И., Войтенко Е.Ю., Овечко В.С., Щур А.В. Формирование наночастиц благородных металлов в пористых кремнеземах и биологических матрицах // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнології. – Збірник наукових праць. – 2008. – т. 6, вип. 2. – С. 509-527.
4. Левицкий А.П., Хлыстун Н.Л., Ступак Е.П., Гончарук С.В., Скидан К.В. Влияние аппликаций геля с протамином на биохимические показатели воспаления и дисбиоза в десне крыс // Вісник стоматології. – 2012. – Спец. выпуск № 7 – С. 9-12.

5. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков (метод. рекомендации) / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.] – К.: ГФЦ, 2007. – 23 с.
 6. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости (метод. рекомендации) / А.П. Левицкий, О.В. Деньга, О.А. Макаренко [и др.] – Одесса: КП ОГТ, 2010. – 16 с.
 7. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии – М., 1965. – 298 с.
 8. Патент на корисну модель № 43140, МПК (2009) G01N 33/48 Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Деньга О. В., Селіванська І. О. [та ін.] – № u200815092; заявл. 26.12.2008; опубл. 10.08.2009. Бюл. № 15.
 9. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза (метод. рекомендации) / А.П. Левицкий, О.А. Макаренко, О.В. Деньга [и др.] – К.: ГФЦ, 2005. – 50 с.
 10. Левицький А.П., Макаренко О.А., Ходаков І.В., Зеленина Ю.В. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини // Одеський мед. журн. – 2006. – № 3. – С. 17-21.
 11. Николаева А.В. Макро-микроскопические исследования зубо-челюстной системы крыс при воздействии на верхний шейный симпатический узел / В кн.: Материалы к макро-микроскопической анатомии. – Киев, 1965. Вып. 3. – С. 96-101.
- References**
1. Borisenko A.V., Tkach O.B., Levitsky A.P. The influence of oral applications of silicagel, containing nanoparticles of gold and silver upon the degree of dysbiosis of gum of rats after the influence of lipopolysaccharide. *Visnyk stomatologiy.* 2013; 3(84):2-4.
 2. Sokolova I.I., Khlystun N.L., Levitskiy A.P. The role of hyaluronidase at the pathogenesis of inflammatory and destructive diseases of periodontium. *Visnyk stomatologiy.* 2012; 6 (The extra issue):125.
 3. Trokhimchuk A.K., Legenchuk A.V., Podolskaya V.I., Voytenko E.Yu., Ovechko V.S., Shchur A.V. The formation of nanoparticles of precious metals in porous silica and biological matrixes. *Nanosystemy, nanomaterialy, nanotekhnologii.* Zbirnyk naukovykh prats. 2008; 6(2): 509-527.
 4. Levitskiy A.P., Khlystun N.L., Stupak E.P., Goncharuk S.V., Skidan K.V. The influence of applications of gel with protamine upon the biochemical indices of inflammation and dysbiosis in rat's gum. *Visnyk stomatologiy.* 2012; 7 (The extra issue):9-12.
 5. Levitskiy A.P., Makarenko O.A., Selivanskaya I.A., Rossachanova L.N., Denga O.V., Pochtar V.N., Skidan K.V., Goncharuk S.V. Fermentativnyy metod opredeleniya disbioza polosti rta dlya skringa pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendatsii [Enzymatic methods for determination of oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics: method guidelines]. Kiev, GFC, 2007: 22.
 6. Levitskiy A.P., Denga O.V., Makarenko O.A., Dem'yanenko S.A., Rossachanova L.N., Knava O.E. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010:16.
 7. Asatiani V.S. Novye metody biokhimicheskoy fotometrii [The new methods in biochemical photometry]. Moskva, Nauka, 1965:298.
 8. Levitskiy A.P., Denga O.V., Selivanskaya I.A., Makarenko O.A., Demyanenko S.A., Tsiselskiy Yu.V. The method of estimation of the degree of dysbiosis (dysbacteriosis) of organs and tissues. Patent of Ukraine 43140. IPC (2009) G01N 33/48. Application number u 200815092. Date of filling: 26.12.2008. Publ.: 10.08.2009. Bul. № 15.
 9. Levitskiy A.P., Makarenko O.A., Denga O.V., Sukmanskiy O.I., Podorozhnaya R.P., Rossachanova L.N., Khodakov I.V., Zelenina Yu.V. Eksperimentalnye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendatsii [The experimental methods of the study of osteogenesis stimulators]. Kiev, GFK, 2005:50.
 10. Levitskiy A.P., Makarenko O.A., Khodakov I.V., Zelenina Yu.V. The enzymatic method of the estimation of the state of osseous tissue. *Odeskiy medychnyy zhurnal.* 2006; 3:17-21.
 11. Nikolaeva A.V. Makro-mikroskopicheskiye issledovaniya zubo-chelustnoy sistemy krys pri vozdeystvii na verkhniy sheynny simpaticheskiy uzul [Macro-microscopic studies of maxillo-dental system of rats at the influence on upper cervical ganglion]. V kn.:

Materialu k macro-mikroskopicheskoj anatomii. Kiev, 1965: 96-101.

Резюме

ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНА ДІЯ
ГЕЛЯ З НАНОЗОЛОТОМ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ПАРОДОНТИТІ

*Левицький А.П., Борисенко А.В.,
Ткач О.Б.*

Моделювання пародонтиту у щурів за допомогою аплікацій гелю з протамін-сульфатом викликає в яснах розвиток дисбіоза, знижує вміст гіалуронової кислоти і підвищує ступінь атрофії альвеолярного відростка. Аплікації гелю з сорбентом, який містить наночастки золота (5 нм, 500 мкг/г) знижують ступінь дисбіоза, підвищують вміст гіалуронової кислоти та нормалізують показник атрофії альвеолярного відростка.

Ключові слова: нанозолото, мукозальні гелі, ясна, пародонтит, дисбіоз, гіалуронова кислота.

УДК 57.085.23

THE EFFECTS OF ANTIOXIDANTS ON DIABETIC DAMAGE WITH A TOBACCO SMOKE IN BOVINE LENSES

Bormusov E.A., Reznick A.Z.

*Rappaport Faculty of Medicine, Technion — Israel Institute of Technology, Haifa,
Israel bormusov@tx.technion.co.il; ebormusova@gmail.com*

Investigated the mechanisms involved in the effects of preventing cataract and cigarette smoking (CS) when exposed to the lens antioxidants. Bovine lenses were removed in organ culture for 12 days, exposed to glucose 450 mg % for antioxidants including-Desferioxamine (DFO) and cysteine N-acetyl-L-(NAC). Treated lenses were 4 days in culture medium saturated with cigarette smoke daily dose at 500 psi. The use of laser-lens optical quality was assessed daily. At the end of the incubation period, lenses were analyzed using an inverted microscopy as epithelial layer was used for histochemical assessment method Einarson nucleic acids -RNA-DNA staining.

Reactive Oxygen Species (ROS) were evaluated C6827, to measure the level of cellular oxidation in the epithelial cells of the lens relative to the control cultures by fluorescence microscopy. High glucose with a smoke causes optical and morphological changes in epithelial cells (hypertrophy, hyperplasia). Antioxidants reduce the damage caused by high glucose and CS, to protect the lens from high glucose, reduce cell damage, prevent the increased activity of ROS. NAC protected the lens from damage high glucose better than DFO. We suggest that NAC can serve as an effective advocate for the lens of the eye against damage from smoking diabetics.

Keywords: antioxidants, cigarette smoking, cataract diabetes, culture lens, Nucleic acids, ROS.

Summary

THE THERAPEUTIC-PREVENTIVE EFFECT
OF THE GEL WITH NANOGOLD AT THE
EXPERIMENTAL PERIODONTITIS

*Levitsky A.P., Borisenko A.V.,
Tkach O.B.*

The simulation of periodontitis in rats with the applications of gel with protamine sulfate causes the development of dysbiosis in gum, reduces the contents of hyaluronic acid and increases the degree of atrophy of alveolar appendage. The applications of gel with the sorbent, containing nanoparticles of gold (5nm, 500 mg/kg) reduce the degree of dysbiosis, increase the contents of hyaluronic acid and normalize the index of alveolar appendage atrophy.

Key words: nanogold, mucosal gels, gum, periodontitis, dysbiosis, hyaluronic acid.

*Впервые поступила в редакцию 25.02.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*