

Stolyar V. G., Borysenko A. V., Levitsky A. P. Вплив полівалентного орального гелю на біохімічні показники дисбіозу і запалення в яснах щурів з преднізолоновим пародонтитом = The effect of polyvalent oral gel on biochemical parameters of dysbiosis and gum inflammation in the rats with prednisolone-induced periodontitis. Journal of Health Sciences. 2014;04(02):257-268. ISSN 1429-9623 / 2300-665X.

The journal has had 5 points in Ministry of Science and Higher Education of Poland parametric evaluation. Part B item 1107. (17.12.2013).

© The Author (s) 2014;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Radom University in Radom, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

Conflict of interest: None declared. Received: 29.11.2013. Revised 21.12.2013. Accepted: 15.02.2014.

УДК 616.31-089.28:616.314-089123

UDC 616.31-089.28:616.314-089123

ВПЛИВ ПОЛІВАЛЕНТНОГО ОРАЛЬНОГО ГЕЛЮ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ДИСБІОЗУ І ЗАПАЛЕННЯ В ЯСНАХ ЩУРІВ З ПРЕДНІЗОЛОНОВИМ ПАРОДОНТИТОМ

The effect of polyvalent oral gel on biochemical parameters of dysbiosis and gum inflammation in the rats with prednisolone-induced periodontitis

В. Г. Столяр¹, А. В. Борисенко¹, А. П. Левицький²
V. G. Stolyar¹, A. V. Borysenko¹, A. P. Levitsky²

¹Київський національний медичний університет ім. О. О. Богомольця

²ДУ «Інститут стоматології НАМН України» (м. Одеса) e-mail: flavan@mail.ru

¹National Medical University named after O.O. Bogomolets, Kyiv

²SE “The Institute of Stomatology of the NAMS of Ukraine”, Odessa
flavan@mail.ru

Ключевые слова: преднизолон, пародонт, десна, мукозо-адгезивный гель, дисбиоз, воспаление.

Key words: prednisolone, periodontitis, gums, mucous-adhesive gel, dysbiosis, inflammation.

Вступ

Преднізолон викликає суттєві зміни в організмі, які проявляються серйозними порушеннями в кістковій тканині [1, 2], в метаболізмі вуглеводів та жирів [3], в стані імунної системи [4, 5]. За допомогою преднізолону викликають експериментальний остеопороз [1] і пародонтит [2].

Наявність у преднізолону (як і у інших глюкокортикоїдів) широкого спектру біологічної дії обумовлює необхідність для здійснення протидії цій субстанції використовувати полівалентні композиції, що можуть усунути

різноманітні патологічні явища, які розвиваються за умов преднізолонової агресії.

Метою даної роботи стало дослідження лікувально-профілактичної дії полівалентної композиції у вигляді орального мукозо-адгезивного гелю, до складу якого входять прополіс (як джерело біофлавоноїдів), остеовіт (містить соєві ізофлавоїди, сульфат цинку, вітамін Д₃ та цитрат кальцію), метродент (антигрибковий засіб), хлоргексидин (антисептик) та діоксид кремнію (сорбент). Усі ці компоненти були застосовані в однаковій кількості (тобто по 20 %).

Матеріали і методи дослідження

Прополіс використовували у вигляді настоянки виробництва КП «Фармацевтична фабрика», м. Київ, реєстраційне посвідчення № UA/8837/01/01.

Остеовіт – препарат виробництва НВА «Одеська біотехнологія» у відповідності до ТУ У 15.8-13903778-78-2004, гігієнічний висновок МОЗУ № 05.03.02-06/47503 від 25.11.2004 р.

«Метродент» (гель зубний) виробництва «Сінмедик Лабораторіз», Індія, реєстраційне посвідчення № UA/7951/01/01.

Хлоргексидин біглюконат виробництва КП «Луганська обласна фармація», м. Луганськ, реєстраційне посвідчення № UA/8946/01/01.

Діоксид кремнію у вигляді препарату «Атосіл» виробництва ТОВ «Орісіл-Фарм» (м. Калуш, Україна), реєстраційне посвідчення № UA2616/01/01.

Мефенат (мазь) виробництва ПАТ «Фармак», реєстраційне посвідчення № UA/7845/01/01.

Преднізолон-Дарниця – таблетки 5 мг, виробник ПАТ «Фармацевтична фабрика «Дарниця», м. Київ, реєстраційне посвідчення № UA/2587/02/01.

Досліди було проведено на 32 щурах лінії Вістар (самиці, 3 місяці, середня маса 140±10 г), яких було поділено на 4 рівні групи: 1 – норма, 2, 3 і 4 групи отримували преднізолон перших два дні по 10 мг/кг, а потім 12 днів по 5 мг/кг. Преднізолон давали щурам з кормом. Щурі 3 групи отримували щоденно

полівалентний оральний гель у вигляді аплікацій на слизову оболонку порожнини рота в дозі 0,7 мл на щура (0,75 мл/кг). Щурі 4-ої групи отримували мефенат натрію в дозі 0,1 г на щура (0,75 г/кг). Ця група служила контролем (групою порівняння) до 3-ої групи.

Щурі піддавались евтаназії на 15-й день досліджу під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотальної кровотечі із серця. Виділяли ясна, в гомогенаті яких (20 мг/мл 0,05 М трис-НСІ буфера рН 7,5) визначали рівень маркерів запалення [6]: активність еластази [7], вміст малонового діальдегіду (МДА) [8], біохімічний показник мікробного обсіменіння – активність уреазы [9], біохімічний показник стану неспецифічного імунітету – активність лізоциму [10], активність каталази [11], а також вміст гіалуронової кислоти [12]. За співвідношенням активності каталази і вмістом МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [6], а за співвідношенням відносних активностей уреазы та лізоцима розраховували ступінь дисбіозу за Левицьким [13].

Крім того, визначали атрофію альвеолярного відростка за методом [14].

Результати дослідів піддавались статистичній обробці за методом [15].

Результати та їх обговорення

На рис. 1 представлено результати визначення ступіню атрофії альвеолярного відростка нижньої щелепи у щурів з преднізолоновим пародонтитом, які отримували полівалентний оральний гель або мефенат натрію. Як видно з цих даних, преднізолон достовірно збільшує атрофію пародонту, тоді як полівалентний оральний гель і мефенат натрію повертають цей показник до норми, причому запропанований нами гель навіть декілька краще ніж мефенат.

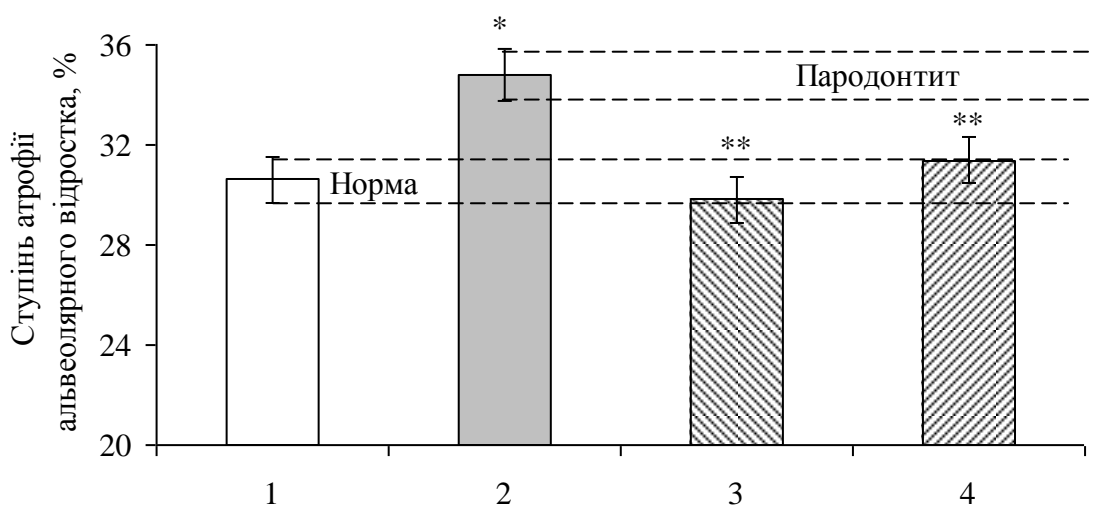


Рис. 1. Вплив оральних гелей на ступінь атрофії альвеолярного відростка у щурів з пародонтитом (1 – норма, 2 – пародонтит (П), 3 – П+ полівалентний оральний гель, 4 – П+мефенат)
*– $p < 0,05$ в порівнянні з гр. № 1; **– $p < 0,05$ в порівнянні з гр. № 2

В таблиці 1 представлено результати визначення в яснах щурів рівня біохімічних маркерів запалення – активності еластази і вмісту МДА. З цих даних видно, що преднізолон достовірно підвищує в яснах рівень маркерів запалення, а використані препарати суттєво його знижують, причому дещо краще – полівалентний оральний гель.

Таблиця 1

Вплив полівалентного орального гелю та мефенату на рівень маркерів запалення в яснах щурів з преднізолоновим пародонти том (в усіх групах $n=8$)

№№ п/п	Групи	Еластаза, мк-кат/кг	МДА, ммоль/кг
1	Норма	0,043±0,002	12,6±1,4
2	Преднізолоновий пародонтит (ПП)	0,058±0,003 $p < 0,01$	18,2±1,1 $p < 0,05$
3	ПП + полівалентний оральний гель	0,048±0,002 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	14,1±1,0 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$
4	ПП + мефенат натрію	0,050±0,001 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	16,2±1,0 $p < 0,05$ $p_1 > 0,1$

Примітки: p – в порівнянні з гр. № 1; p_1 – в порівнянні з гр. № 2.

В таблиці 2 представлено результати визначення в яснах щурів активності уреазі і лізоцима. Як свідчать наведені дані, активність уреазі в яснах щурів, що отримували преднізолон, збільшується в 2 рази, а під дією використаних

препаратів достовірно знижується (практично, до норми). І знову, дещо краще впливає на цей показник запропанований нами гель.

Навпаки, під дією преднізолону активність лізоциму в яснах знижується майже втричі, а під дією полівалентного орального гелю відновлюється практично до норми. На відміну від запропанованого нами гелю, мефенат натрію мало вплинув на знижену активність лізоциму.

Таблиця 2

Вплив полівалентного орального гелю та мефенату на активність уреазі і лізоцима в яснах щурів з преднізолоновим пародонти том (в усіх групах n=8)

№№ п/п	Групи	Уреаза, мк-кат/кг	Лізоцим, од/кг
1	Норма	0,47±0,08	384±29
2	Преднізолоновий пародонтит (ПП)	0,93±0,05 p<0,001	132±19 p<0,001
3	ПП + полівалентний оральний гель	0,50±0,09 p>0,5 p ₁ <0,01	325±30 p>0,1 p ₁ <0,001
4	ПП + мефенат натрію	0,55±0,08 p>0,3 p ₁ <0,01	190±28 p<0,001 p ₁ >0,05

Примітки: см. табл. 1.

Розрахована за показниками активності уреазі та лізоцима ступінь дисбіозу представлена на рис. 2, з якого видно, що за умов дії преднізолону ступінь дисбіозу в яснах збільшується майже у 8 разів, а під впливом запропанованого нами гелю повертається майже до норми. На відміну від нього, препарат порівняння – мефенат, хоча і знизив ступінь дисбіозу, однак не повернув її до норми.

В таблиці 3 представлено результати визначення активності каталази та індекса АПІ. З цих даних видно, що преднізолон достовірно знижує в яснах активність каталази і в ще більшій мірі – рівень індексу АПІ. Застосування полівалентного орального гелю відновлює активність каталази та індексу АПІ. На відміну від нього мефенат в меншій мірі впливає на ці показники.

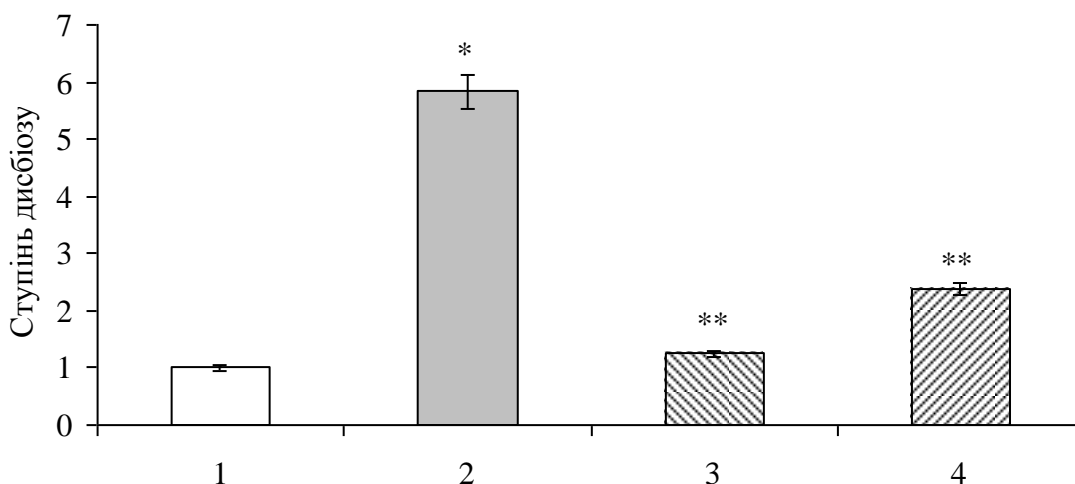


Рис. 2. Вплив оральних гелей на ступінь дисбіозу в яснах шурів з пародонтитом (1 – норма, 2 – пародонтит (П), 3 – П+ полівалентний оральний гель, 4 – П+мефенат)
*– $p < 0,05$ в порівнянні з гр. № 1; **– $p < 0,05$ в порівнянні з гр. № 2

Таблиця 3

Вплив полівалентного орального гелю та мефенату на активність каталази і рівень індексу АПІ в яснах шурів з преднізолоновим пародонти том (в усіх групах $n=8$)

№№ п/п	Групи	Каталаза, мкат/кг	АПІ, од.
1	Норма	$8,54 \pm 0,51$	$6,78 \pm 0,50$
2	Преднізолоновий пародонтит (ПП)	$6,94 \pm 0,45$ $p < 0,05$	$3,76 \pm 0,38$ $p < 0,01$
3	ПП + полівалентний оральний гель	$7,58 \pm 0,45$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$5,38 \pm 0,55$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
4	ПП + мефенат натрію	$7,23 \pm 0,48$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$	$4,49 \pm 0,46$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$

Примітки: см. табл. 1.

На рис. 3 показано результати визначення вмісту в яснах гіалуронової кислоти, яка є міжклітинним «цементом» і відіграє важливу роль в обмеженні транслокації бактерій [16]. З цих даних видно, що преднізолон достовірно знижує вміст гіалуронової кислоти, а обидва застосованих препарати достовірно його підвищують.

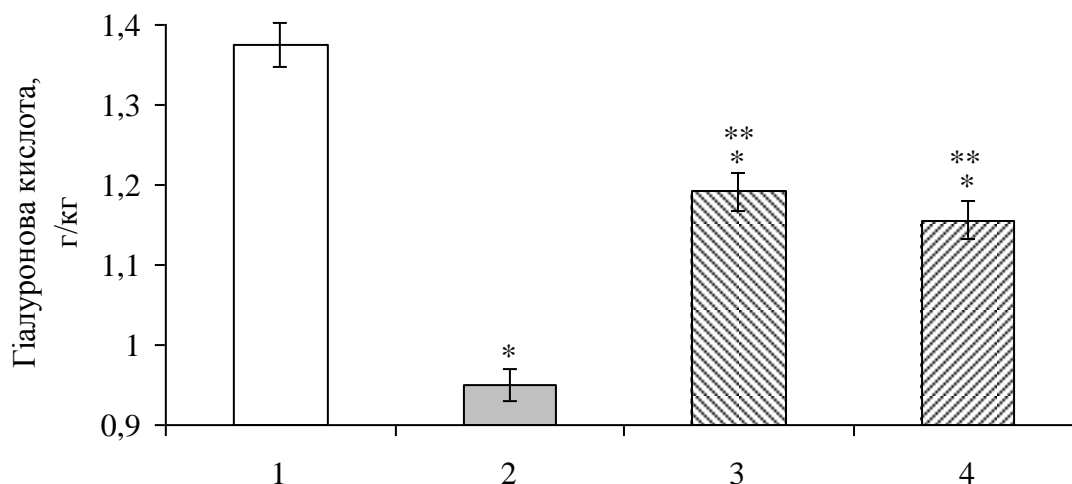


Рис. 3. Вплив оральних гелей на вміст гіалуринової кислоти в яснах щурів з пародонтитом (1 – норма, 2 – пародонтит (П), 3 – П+ полівалентний оральний гель, 4 – П+мефенат)
*– $p < 0,05$ в порівнянні з гр. № 1; **– $p < 0,05$ в порівнянні з гр. № 2

Таким чином, проведене нами дослідження показало, що преднізолон дійсно відтворює пародонтит, про що свідчать: збільшення атрофії пародонта, розвиток запалення в яснах, розвиток дисбіозу в яснах та зниження рівня захисних систем (лізоциму, каталази, гіалуринової кислоти).

Запропанований нами полівалентний оральний гель практично усуває усі патологічні явища, які розвиваються за умов дії преднізолону.

Отримані нами дані дають підстави вважати запропанований гель цілком придатним для проведення клінічних випробувань цього препарату у хворих на пародонтит.

Висновки

1. Преднізолон викликає розвиток пародонтиту.
2. В механізмі пародонтитогенної дії преднізолону лежить його здатність викликати розвиток дисбіозу, знижувати вміст гіалуринової кислоти та рівень захисних систем.
3. Полівалентний оральний гель, який складається з прополісу, остеовіту, метрогілу, хлоргексидину та діоксиду кремнію, попереджає розвиток преднізолонового пародонтиту.

Література

1. Tomita A. Glucocorticoid-induced osteoporosis – mechanisms and preventions / A. Tomita // *Nippon Rinsho*. – 1998. – v. 56, № 6. – P. 1574-1578.
2. Голованова Н. Ю. Стероидный остеопороз при диффузных болезнях соединительной ткани и системных васкулитах у детей / Н. Ю. Голованова, Г. А. Лыскина, А. Г. Ильин // *Российский педиатрический журнал*. – 1998. – № 3. – С. 8-10.
3. Гиперкортицизм и ожирение / Н. А. Кравчун, Л. Г. Полозова, С. С. Попова [и др.] // *Международный эндокринологический журнал*. – 2014. – № 2 (58). – С. 81-84.
4. Быков В. Л. Система иммунокомпетентных клеток десны человека в норме и при воспалительных заболеваниях пародонта / В. Л. Быков // *Арх. патол.* – 2005. – т. 67, № 2. – С. 51-55.
5. Панин Л. Е. Роль глюкокортикоидов и резидентных макрофагов печени в индукции тираминаминотрансферазы / Л. Е. Панин, И. Ф. Усынин // *Биохимия*. – 2008. – т. 73, № 3. – С. 375-380.
6. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2010. – 16 с.
7. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.
8. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии*. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
9. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // *Стоматология*. – 1996. – Спец. вып. – С. 49-50.
10. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

11. Гирин С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45-46.

12. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии / В.С. Асатиани. – М.: Наука, 1965. – С. 298.

13. Пат. на корисну модель 43140 Україна, МПК (2009) G 01 N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А.П., Деньга О.В., Селіванська І.О [та ін.]. – № у 2008 15092; заявл. 26.12.2008; опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.

14. Николаева А. В. Экспериментальные дистрофии тканей пародонта / А. В. Николаева, Е. С. Розовская // БЭБИМ. – 1965. – т. 60, № 7. – С. 46-49.

15. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

16. Максименко А. В. Эффекты гликозаминогликанов в сосудистых событиях / А. В. Максименко // Хим.-фарм. журнал. – 2008. – т. 42, № 10. – С. 3-13.

References

1. Tomita A. Glucocorticoid-induced osteoporosis – mechanisms and preventions. Nippon Rinsho. 1998; 56(6):1574-1578.

2. Golovanova N. Yu., Lyskina G. A., Ilyn A. G. Steroid osteoporosis in diffuse connective tissue diseases and systemic vasculitis in children. Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal. 1998; 3: 8-10.

3. Kravchun N. A., Polozova L. G., Popova S. S. [et al.]. Cushing and obesity. Mezhdunarodnyy endokrinologicheskiy zhurnal. 2012; 2(58): 81-84.

4. Bykov V. L. System immunocompetent cells in normal human gingival and periodontal inflammatory diseases. Arkh. patol. 2005; 67(2): 51-55.

5. Panin L. E., Usynin I. F. Role of glucocorticoids and resident macrophages in the induction of liver tirazinaminotransferase. Biokhimiya. 2008; 73(3): 375-380.

6. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [et al.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010:16.

7. Levitsky A. P., Stefanov A. V. Metodu opredeleniya aktivnosti elastazy I eye inhibitorov: metodicheskie rekomendatsii [Methods for determination of elastase activity and its inhibitors: method guidelines]. Kiyev, GFTS, 2002:15.

8. Stalnaya I. D., Garishvili T. G. Metod opredeleniya malonovogo dialdegida s pomoshchyu tiobarbiturovoy kisloty [The method of revelation of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid]. Moskva, Meditsina, 1977:66-68.

9. Gavrikova L. M., Segen I. T. Urease activity of oral liquid in patients with acute odontogenic infection of maxillo-facial part. Stomatologiya. 1996; The extra issue :49-50.

10. Levitsky A. P. Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005:74

11. Girin S. V. The modification of the method of the determination of catalase activity in biological substrates. Laboratornaya diagnostika. 1999; 4:45-46.

12. Asatiani V. S. Novye metody biokhimicheskoy fotometrii [The new methods in biochemical photometry]. Moskva, Nauka, 1965:298.

13. Levitskiy A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. [et al.]. 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.

14. Nikolaeva A. V. Rozovskaya E. S. Experimental dystrophy of periodontal tissues. BEBIM. 1965; 60(7): 46-49.

15. Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. Statisticheskiye metody v medi-co-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel [Statistical methods in medical and biological research by using Excel]. Kiyev, Morion, 2000: 320.

16. Maksimenko A. V. Effects of glycosaminoglycans in vascular events. Khim.-farm. Zhurnal. 2008; 42(10): 3-13.

Резюме

ВЛИЯНИЕ ПОЛИВАЛЕНТНОГО ОРАЛЬНОГО ГЕЛЯ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ДИСБИОЗА И ВОСПАЛЕНИЯ В ДЕСНЕ КРЫС С ПРЕДНИЗОЛОНОВЫМ ПАРОДОНТИТОМ

В. Г. Столяр, А. В. Борисенко, А. П. Левицкий

Введение крысам с кормом преднизолон в дозе 5 мг/кг в течение двух недель вызывает развитие пародонтита, о чем свидетельствует увеличение атрофии пародонта, повышение степени воспаления и дисбиоза в десне, снижение уровня защитных систем (лизоцима, каталазы, гиалуроновой кислоты). Аппликации на слизистую полости рта поливалентного мукозо-адгезивного геля, содержащего прополис, остеовит, метрогил, хлоргексидин и диоксид кремния, позволило предупредить развитие пародонтита, причем данный гель несколько превосходил гель сравнения, содержащий мефенат натрия.

Ключевые слова: преднизолон, пародонт, десна, мукозо-адгезивный гель, дисбиоз, воспаление.

Summary

THE EFFECT OF POLYVALENT ORAL GEL ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF DYSBIOSIS AND GUM INFLAMMATION IN THE RATS WITH PREDNIZOLONE-INDUCED PERIODONTITIS

V. G. Stolyar, A. V. Borysenko, A. P. Levitsky

The Objective of the study is to provide a tool for prevention of periodontal complications of the action of glucocorticoids.

Materials and Methods. Experiments were performed on 32 Wistar rats which were administered with food prednisolone at 5 mg/kg for 14 days. Part of the rats received daily applications of polyvalent mucouse- adhesive gel containing propolis, osteovit, metrogil, chlorhexidine, silica. The following parameters were investigated: the degree of atrophy of the alveolar process, the level of markers of inflammation in the gums (MDA , elastase) , microbial contamination (urease) , nonspecific immunity

(lysozyme), antioxidant defenses (catalase), permeability of histoheamatic barriers (hyaluronic acid).

Results. A development of periodontitis has been established, as evidenced by: an increased degree of atrophy of the alveolar process, the degree of dysbiosis, inflammation, decreased antioxidant protection, reduction of the levels of hyaluronic acid. Application of the gel to the oral mucosa led to a dramatic reduction in the markers of inflammation in the gums and dysbiosis and reduced the degree of atrophy.

Conclusion. Mucous-adhesive gel reduces the symptoms of periodontitis in rats.

Key words: prednisolone, periodontitis, gums, mucous-adhesive gel, dysbiosis, inflammation.