

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.36.102.2-07:616-078.33

О. Б. Ткач

Киевский национальный медицинский университет
им. Богомольца

ВЛИЯНИЕ ГЕЛЕЙ С НАНОЧАСТИЦАМИ ЗОЛОТА ИЛИ СЕРЕБРА НА СТЕПЕНЬ ДИСБИОЗА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ЩЕКИ КРЫС ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

Гели, содержащие 5 % силикагелевого сорбента с включением наночастиц золота или серебра, снижают степень дисбиоза в слизистой оболочке щеки крыс после аппликаций липополисахарида. В наибольшей степени антидисбиотического действие проявили наночастицы золота.

Ключевые слова: наночастицы, золото, серебро, липополисахарид, дисбиоз, щека.

О. Б. Ткач

Київський національний медичний університет
ім. Богомольця

ВПЛИВ ГЕЛІВ З НАНОЧАСТИНКАМИ ЗОЛОТА АБО СРІБЛА НА СТУПЕНЬ ДИСБІОЗУ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ЩОКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ДІЇ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ

Гелі, які містять 5 % силикагелевого сорбенту з включенням наночастинок золота або срібла, знижують ступень дисбіозу в слизовій оболонці щоки щурів, після аплікації ліпополісахариду. В найбільшій мірі антидисбіотичну дію виявили наночастинок золота.

Ключові слова: наночастинок, золото, срібло, ліпополісахарид, дисбіоз, щока.

О. В. Tkach

Kyiv National Medical University named after Bogomolets

THE INFLUENCE OF GELS WITH NANOPARTICLES OF GOLD AND SILVER ON THE DEGREE OF DYSBIOSIS OF MUCOUS MEMBRANE OF CHEEK OF RATS AFTER THE AFFECTION OF LIPOPOLYSACCHARIDE

ABSTRACT

Microbe toxin lipopolysaccharide causes the development of dysbiosis, at which microbe insemation grows and the level of nonspecific immunity reduces, in oral mucous membrane. Sorbents are recommended to eliminate the phenomena of dysbiosis.

The aim of this investigation is the study of the influence on the state of dysbiosis in cheek mucous membrane of rats after the affection with lipopolysaccharide of the complex sorbents on the basis of silica gels, containing nanoparticles of gold or silver. These sorbents were obtained at the Department of Inorganic Chemistry of Kyiv National University named after Shevchenko T.G.

Materials and methods. 4 sorbents with nanoparticles of gold or silver of different size, from which mucosal gels were prepared by combination with the preparation Lysomucoid and 3% gel of carboxymethylcellulose, were used. The experiment was held on he-rats of Vistar line, dysbiosis in which was caused by

the application of gel with lipopolysaccharide from *Salmonella typhi* dosed at 75mcg/kg on oral mucous membrane for 24 hours. Lipopolysaccharide was applied on oral mucous membrane of rats 2 days before the application of gels with nanoparticles of gold and silver. The last ones were used for three days. Mucous membrane of cheek, in homogenate of which the degree of dysbiosis was determined by the correlation of relative activities of urease (marker of microbe insemation) and lysozyme (the index of nonspecific immunity) was excised in rats in 4 days.

Results. Gels, containing 5% of silica gel sorbent with nanoparticles of gold and silver, reduce the degree of dysbiosis in oral mucous membrane of rats after lipopolysaccharide applications. Nanoparticles of gold with the size of 5nm had the greatest antidysbiotic effect.

Key words: nanoparticles, gold, silver, lipopolysaccharide, dysbiosis, cheek.

Микробный фактор играет решающую роль в патогенезе большинства стоматологических заболеваний, определяя развитие воспалительно-дистрофических процессов за счёт действия микробных токсинов [1, 2]. Большинство исследователей связывают патологические изменения в тканях полости рта с воздействием на них липополисахарида (ЛПС), образуемого грамотрицательными бактериями [3, 4]. ЛПС, или кишечный эндотоксин, взаимодействует со многими клетками, особенно с лейкоцитами, возбуждая их и вызывая секрецию провоспалительных цитокинов (ФНО α , ИЛ-1, ИЛ-6 и др.) [5, 6]. В результате этого возникает большинство патологических реакций, наблюдаемых при пародонтите и стоматите [7]. Особенностью ЛПС является его способность легко проникать через гисто-гематические барьеры и оказывать своё биологическое действие в чрезвычайно малых (микрограммовых) концентрациях [8].

Одним из проявлений действия ЛПС является развитие в слизистой оболочке полости рта дисбиоза, при котором увеличивается микробная обсеменённость и снижается уровень неспецифического иммунитета [6]. Для устранения явлений дисбиоза ряд авторов рекомендует использовать сорбенты [9, 10].

Цель настоящего исследования. Изучение влияния на состояние дисбиоза в слизистой щеки крыс после воздействия ЛПС нового класса комплексных сорбентов на основе силикагеля, содержащих наночастицы золота или серебра. Такие сорбенты были получены на кафедре неорганической химии химического факультета Киевского национального университета им. Тараса Шевченко [11]. Нами ранее было показано наличие антимикробных свойств у этих сорбентов [12].

Материалы и методы исследования. В исследовании были использованы 4 образца комплексных сорбентов на основе силикагеля, содержащих наночастицы золота (Au) или серебра (Ag) разного размера, которые были представлены разработчиком проф. А. К. Трохимчуком. Из этих образцов были приготовлены 4 мукозальных геля путём смешивания 1 г силикагеля с Au или Ag с 5 мл препарата Лизомукоид, со-

держашего лизоцим и овомукоид (РЦ У 24.5-13903778-37/1:2005. Заключение МЗУ № 05.03.02-07/29066 от 04.07.2005), и 95 г 3 %-ного геля карбоксиметилцеллюлозы, натриевой соли.

В эксперименте было использовано 42 белых крысы линии Вистар (самцы, 4 месяца, средней массой 180 ± 10 г). Дисбиоз у животных вызывали путём аппликации на слизистую полости рта 0,5 мл геля, содержащего ЛПС из *Salmonella typhi* (препарат «Пирогенал» производства «Медгамал», Россия) в дозе 75 мкг/кг массы на срок 24 часа.

Все крысы были распределены в 7 равных групп по 6 голов в каждой. Группа 2, получавшая лишь аппликации геля с ЛПС, служила контролем № 1. Группа 3, получавшая за два дня до ЛПС гель с Лизомукоидом, служила контролем 2. Остальным четырём группам крыс за 2 дня до ЛПС на слизистую полости рта наносили аппликации гелей, содержащих силикагели с наночастицами Au или Ag, в количестве 0,5 мл на крысу ежедневно в течение 3 дней.

Крыс умерщвляли на 4-й день опыта (3 суток аппликаций мукозальных гелей и 1 сутки действия ЛПС) под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путём тотального кровопускания из сердца. Иссекали слизистую щеки, в гомогенате которой определяли степень дисбиоза по А. П. Левицкому [13] по соотношению относительных активностей уреазы (маркер микробного обсеменения) [14] и лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [15].

Результаты исследования и их обсуждение. В таблице представлены результаты определения активности ферментов в слизистой щеки крыс после воздействия ЛПС и гелей с наночастицами золота и серебра. Как видно из этих данных, ЛПС более чем в 3,5 раза увеличивает в слизистой щеки активность уреазы, что свидетельствует о росте микробной обсеменности ткани. Под влиянием геля с Лизомукоидом активность уреазы снижается, однако не достигает нормы. Аналогичное действие оказывают и гели, содержащие наночастицы золота и серебра.

Таблица

Влияние гелей с наночастицами золота и серебра на активность уреазы и лизоцима в слизистой щеки крыс после воздействия ЛПС

Группы	Активность уреазы, мк-кат/кг	Активность лизоцима, ед/кг
1. Норма	$0,43 \pm 0,12$	310 ± 34
2. ЛПС (контроль 1)	$1,41 \pm 0,05$ $P < 0,001$	196 ± 20 $p < 0,01$
3. ЛПС + Лизомукоид (контроль 2)	$1,21 \pm 0,05$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	217 ± 31 $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$
4. ЛПС + Лизомукоид + Au (5 нм, 500 мкг/г)	$1,22 \pm 0,06$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,9$	248 ± 22 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 > 0,3$
5. ЛПС+ Лизомукоид + Au (5 мкм, 400 мкг/г)	$1,35 \pm 0,12$ $p < 0,001$ $p_1 > 0,3$ $p_2 > 0,2$	207 ± 21 $p < 0,05$ $p_1 > 0,4$ $p_2 > 0,5$
6. ЛПС+ Лизомукоид + Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	$1,09 \pm 0,12$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,3$	206 ± 25 $p < 0,05$ $p_1 > 0,4$ $p_2 > 0,5$
7. ЛПС+ Лизомукоид + Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	$1,09 \pm 0,11$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,3$	206 ± 25 $p < 0,05$ $p_1 > 0,4$ $p_2 > 0,5$

Примечание: p – показатель достоверности различий с гр. № 1; p_1 – показатель достоверности различий с гр. № 2; p_2 – показатель достоверности различий с гр. № 3.

В отличие от уреазы активность лизоцима в слизистой щеки экспериментальных животных после аппликаций ЛПС существенно снижается, а под влиянием аппликаций гелей, содержащих Лизомукоид и наночастицы золота или серебра, повышается, причём в наибольшей степени после нанесения геля с наночастицами золота размером 5 нм.

На рисунке представлены результаты определения степени дисбиоза в слизистой щеки крыс. Из этих данных видно, что ЛПС увеличивает степень дисбиоза более, чем в 5 раз. Предварительные аппликации

гелей с Лизомукоидом и наночастицами Au или Ag снижает степень дисбиоза, причём наиболее выражено после нанесения геля с наночастицами золота 5 нм.

Таким образом, проведенные исследования показали, что предложенные нами комплексные мукозальные гели, содержащие сорбенты с наночастицами золота или серебра, оказывают антидисбиотический эффект при токсическом воздействии ЛПС, причём наиболее эффективным оказался гель, содержащий наночастицы золота размером 5 нм.

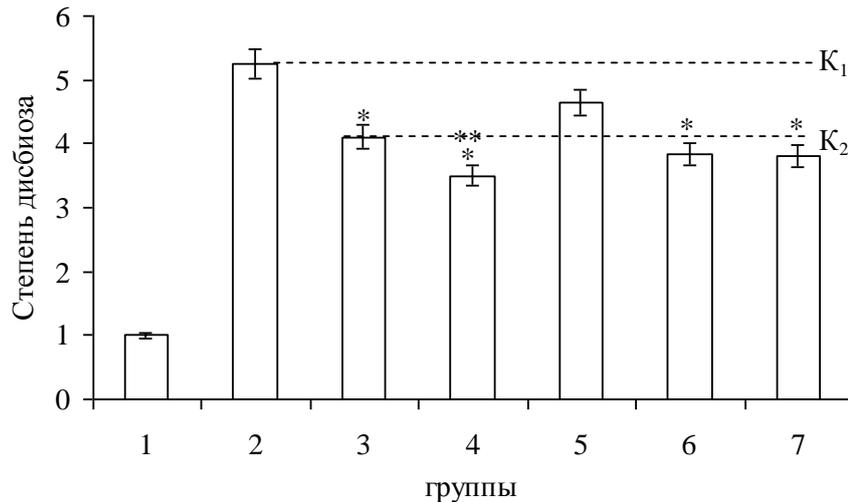


Рис. Влияние гелей с наночастицами золота и серебра на степень дисбиоза в слизистой щеки крыс после воздействия ЛПС.

Список литературы

1. Почтарь В. Н. Дисбиотические механизмы патогенеза токсических стоматитов / В. Н. Почтарь // Вісник стоматології. – 2012. – № 2(79). – С. 46-49.
2. Давыдова Т. Р. К проблеме дисбактериоза в стоматологической практике / Т. Р. Давыдова, Я. Н. Карасенкова, Е. Ю. Хавкина // Стоматология. – 2001. – № 2. – С. 23-24.
3. Яковлев М. Ю. Элементы эндотоксикологической теории в физиологии и патологии человека / М. Ю. Яковлев // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, № 4. – С. 98-109.
4. Новак В. Л. Синдром эндогенной интоксикации, сепсис и полиорганная недостаточность: патофизиологические и клинические аспекты проблемы (обзор литературы) / В. Л. Новак, О. М. Оборин // Журн. АМН Украины. – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 263-275.
5. Lipopolysaccharid-induced elevation and secretion of interleukine-1 β in the submandibular gland of mice / C. Yao, X. Li, K. Murdinstati [et al.] // Immunology. – 2005. – V. 116. – P. 213-222.
6. Прозапальна дія ліпополісахариду на слизову оболонку порожнини рота шурів / А.П. Левицький, С.О. Дем'яненко, О.А. Макаренко [та ін.] // Одеський мед. журн. – 2010. – № 2 (118). – С. 9-11.
7. Левицький А. П. Гепато-оральный синдром / А. П. Левицький, С. А. Дем'яненко. – Симферополь: ПП «Видавництво «Тарпан», 2012. – 140 с.
8. Рябиченко Е. В. Роль кишечной бактериальной аутофлоры и её эндотоксина в патологии человека / Е. В. Рябиченко, В. М. Бондаренко // ЖМЭН. – 2007. – № 3. – С. 103-111.
9. Вивчення фармакологічної активності та безпечності препарату «Ентеросгель» / Н. О. Горчакова, І. С. Чекман, В. В. Бабак [та ін.] // Мистецтво лікування. – 2005. – № 6. – С. 76-77.
10. Влияние энтеросорбции на функциональную активность факторов антимикробной резистентности у больных с тяжелыми ожогами / Б. С. Шейман, О. И. Осадчая, Г. М. Боярская, Н. А. Волошина // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. – 2007. – № 4 (09). – С. 61-63.
11. Формирование наночастиц благородных металлов в пористых кремнеземах и биологических матрицах / А. К. Трохимчук, А. В. Легенчук, В. И. Подольская [и др.] // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнологии. Сборник научных работ. – 2008. – Т. 6, вып. 2. – С. 509-527.
12. Борисенко А. В. Мікробіологічне обґрунтування застосування наночастинок золота та срібла для лікування періодонтитів / А. В. Борисенко, О. Б. Ткач, О. М. Волощук // Наук. вісник нац. мед. ун-ту ім. О.О. Богомольця. – 2012. – № 1-2 (36-37). – С. 21-26.
13. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков (метод. рекомендации) / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.] – К.: ГФЦ, 2007. – 26 с.
14. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой и одонтогенной инфекцией челюстно-

лицевой области Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спец. выпуск. – С. 49-50.

15. Левицький А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицький. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

REFERENCES

1. Pochtar V. N. The disbiotic mechanisms of the pathogenesis of toxic stomatitis. *Visnyk stomatologiyi*. 2012; 2 (79): 46-49.
2. Davydova T. P., Karasenkova Ya. N., Khavkina E. Yu. The problem of dysbiosis in dental practice. *Stomatologiya*. 2001; 2: 23-24.
3. Yakovlev M. Yu. Elements of the theory of endotoxin in human physiology and pathology. *Fiziologiya cheloveka*. 2003; 29 (4): 98-109.
4. Novak V. L., Oborin O. M. Endogenous intoxication syndrome, sepsis and polyorgan failure: pathophysiological and clinical aspects (review of the literature). *Zhurnal Akademii Meditsinskikh Nauk Ukrainy*. 2009; 15 (2): 263-275.
5. Yao C., Li X., Murdinstati K. [et al.] Lipopolysaccharid-induced elevation and secretion of interleukine-1 β in the submandibular gland of mice. *Immunology*. 2005; 116: 213-222.
6. Levitskiy A. P., Demyanenko S. O., Makarenko O. A. [ta in.]. The anti-inflammatory effect of lipopolysaccharide upon oral mucous membrane of rats. *Odeskiy medychny zhurnal*. 2010; 2 (118): 9-11.
7. Levitskiy A. P., Dem'yanenko S. A. *Gepato-oralnyi sindrom* [Hepato-oral syndrome]. Simferopol, PP «Vydavnytvo Tarpan»; 2012: 140.
8. Ryabichenko E. V., Bondarenko V. M. The role of intestinal bacterial autoflora and its endotoxin in pathology of human. *GMEN*. 2007; 3: 103-111.
9. Gorchakova N. O., Chekman I. S., Babak V. V. [ta in.]. The study of pharmacological activity and safety of the drug "Enterogel". *Mistetstvo likuvannya*. 2005; 6: 76-77.
10. Sheyman B. C., Osadchaya O. I., Boyarskaya G. M., Voloshina N. A. Influence of enterosorption on functional activity of antimicrobial resistance factors in patients with severe burns. *Klinichna imunologiya. Alergologiya. Infektologiya*. 2007; 4 (9): 61-63.
11. Trokhimchuk A. K., Legenchuk A. V., Podolskaya V. I. [i dr.]. Formation of nanoparticles of noble metals in porous silicas and biological matrices. *Nanosistemy, nanomaterialy, nanotechnologiy. Zbirnik naukovykh prats*. 2008; 6 (2): 509-527.
12. Borisenko A. V., Tkach O. B., Voloshchuk O. M. The microbiological rationale of the use of nanoparticles of gold and silver in the treatment of periodontitis. *Nauk. visnyk nats. med. un-tu im. O.O. Bogomoltsya*. 2012; 1-2 (36-37): 21-26.
13. 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 skrininga pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendatsii* [Enzymatic methods for determination of oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics: method guidelines]. Kiev, GFC, 2007: 22.

14. **Gavrikova L. M., Segen I. T.** Urease activity of the oral fluid of patients with acute odontogenic infection and maxillofacial. *Stomatologiya*. 1996; *spetsvyppusk*: 49-50.

15. **Levitskiy A. P.** *Lizotsym vmesto antibiotikov* [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005:74.

Поступила 16.10.13



УДК 616.08.-031.81.-577.15.001.57+616.311.2

**Т. В. Томила, к. мед.н.¹, С. А. Шнайдер, д. мед.н.²,
О. А. Макаренко, д. биол.н.³**

¹ Государственное учреждение «Харьковский национальный медицинский университет»

² Государственное учреждение «Одесский национальный медицинский университет»

³ Государственное учреждение «Институт стоматологии Национальной академии медицинских наук Украины»

АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНАЯ СИСТЕМА ДЕСНЫ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ЛИНКОМИЦИН

Антибиотик линкомицин снижает активность антиоксидантной системы десны крыс и нарушает баланс антиоксидантов и прооксидантов в пародонте, что требует использования стимуляторов антиоксидантной системы.

Ключевые слова: линкомицин, десна, антиоксидантно-прооксидантная система.

Т. В. Томила¹, С. А. Шнайдер², О. А. Макаренко³

¹ Державна установа «Харківський національний медичний університет»

² Державна установа «Одеський національний медичний університет»

³ Державна установа «Інститут стоматології Національної академії медичних наук України»

АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНА СИСТЕМА ЯСЕН ЩУРІВ, ЯКІ ОТРИМУВАЛИ ЛІНКОМІЦИН

Антибіотик лінкоміцин знижує активність антиоксидантної системи ясен щурів і порушує баланс антиоксидантів і прооксидантів в пародонті, що вимагає використання стимуляторів антиоксидантної системи.

Ключові слова: лінкоміцин, ясна, антиоксидантно-прооксидантна система.

T. V. Tomilina¹, S. A. Shnyder², O. A. Makarenko³

¹ State Establishment «Kharkov National Medical University»

² State Establishment «Odessa National Medical University»

³ State Establishment «The Institute of Stomatology of the National academy of medical science of Ukraine»

THE ANTIOXIDANT-PRO-OXIDANT SYSTEM OF GINGIVA OF RATS THAT RECEIVED LINCAMYCIN

ABSTRACT

Any pathological processes in tissues are accompanied by the activation of the processes of free-radical oxidation, including

lipids peroxide oxidation. The periodontal tissues are not exceptions.

The aim of this investigation is the study of the state of lipids peroxide oxidation and antioxidant protection in gum of rats, which got antibiotic lincomycin for a long time. This preparation, being the broad spectrum antibiotic, depresses the growth of prebiotic bacteria, causing the development of dysbiosis in organism and oral tissues.

The materials and methods. 77 he-rats of Vistar line were used in the work. The animals got lincomycin («Farmatsevticheskaja kompanija «Zdorovye», Kharkiv) dosed at 30, 50 or 70 mg/kg during 5, 10 or 15 days with table water. In homogenates of gum (20 mg/ml 0.05 M tris-HCl buffer pH 7.5) the contents of malonic dialdehyde, catalase activity were determined and according to their correlation the antioxidant-prooxidant index was calculated.

Antibiotic lincomycin reduces the activity of antioxidant system of rats and distorts the balance of antioxidants and pro-oxidants in periodontium. That is why the use of stimulators of antioxidant system is needed.

Key words: lincomycin, gum, antioxidant-prooxidant system.

Установлено, що будь-які патологічні процеси в тканих супроводжуються активацією процесів вільно-радикального окислення, в том числі і перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) [1, 2]. Не являються виключенням в цьому плані і ткани пародонта [3, 4]. Як відомо, продукти, що утворюються в результаті ПОЛ, мають токсичним впливом на організм, викликаючи пошкодження клітинних мембран, інактивацію ферментів, руйнування ДНК, угнетення клітинного поділу [5].

В якості захисту від пошкоджуючого впливу продуктів ПОЛ в тканих організму має антиоксидантна система (АОС), представлена ферментами (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза, каталаза), вітамінами-антиоксидантами (токоферол, аскорбинова кислота, біофлавоноїди), пептидами (глутатион), мікроелементами (селен) [6]. В тканих здорового організму завжди підтримується баланс прооксидантних і антиоксидантних факторів, забезпечуючий швидку інактивацію утворюючихся при дії різних патогенів продуктів ПОЛ [7].

Цель настоящего исследования. Изучение состояния процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в десне крыс, получавших длительное время антибиотик линкомицин. Последний в силу своего широкого спектра действия угнетает рост не только патогенных, но и пробиотических бактерий (бифидумбактерий и лактобацилл) [8], приводя к развитию дисбиоза в организме, в том числе, и в тканях полости рта [10]. В качестве биохимического маркера продуктов ПОЛ обычно используют малоновый диальдегид (МДА) [11], в качестве биохимического маркера ферментативной антиоксидантной системы – фермент каталазу [11].

Материалы и методы исследования. В работе было использовано 77 белых крыс линии Вистар (самцы, 1,5 месяца, средней массой 100 ± 8 г). Из этого числа 63 крысы получали с питьевой водой антибиотик линкомицин (препарат «Линкомицин – Здоровье» производства ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», г. Харьков) в дозе 30, 50 или 70 мг/кг