

УДК 661.311.21-085.262.55]-092.9

В.М. Зубачик, М.О. Іськів

БІОХІМІЧНІ АСПЕКТИ ВПЛИВУ ПРЕПАРАТІВ АКВАЛІФТ І ДМАЕ НА СПОЛУЧНУ ТКАНИНУ ЯСЕН ЩУРІВ ЗІ ЗМОДЕЛЬОВАНОЮ РЕЦЕСІЄЮ ЯСЕН

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Актуальність дослідження.

Актуальним питанням сучасної стоматології залишається відновлення тканин маргінального пародонта внаслідок рецесії ясен шляхом контурної пластики м'яких тканин. Основним методом лікування цього захворювання є хірургічний (препарування вільного слизового чи сполучнотканинного трансплантата [5; 6; 7], а також рухомого клаптя [8; 9], однак при початкових ступенях пропонуємо терапевтичний підхід. Для усунення естетичного дефекту застосовували низку препаратів, для ін'єкцій у маргінальний край ясен у ділянці нижніх різців порожнини рота щурів на основі сполук синтетичного походження, які сприяли ліфтингу сполучнотканинного шару, тим самим відновлюючи втрачені тканини.

Мета роботи. Моделювання рецесії ясен і вибір препарату для відновлення маргінального краю з наступним з'ясуванням його ефективності - ліфтингового ефекту та впливу на зміну біохімічних показників у сполучній тканині ясен.

Матеріал і методи дослідження.

Дослідження було виконано в експерименті на щурах віком 9-10 тижнів, стадного розведення, масою 210-230 г. Під час роботи зі щурами дотримувалися Міжнародних рекомендацій щодо медико-біологічних досліджень із використанням тварин [10]. Моделювання рецесії ясен проводили під наркозом. Після знеболювання скальпелем витинали маргінальний край ясен у ділянці різців нижньої щелепи для оголення кісткової тканини пародонта. Процедуру виконували при постійному зрошенні операційної рани стерильним фізіологічним розчином. Після хірургічного втручання тварин утримували на щадному раціоні віварію. Стан тканин пародонта оцінювали візуально й інструментально, зміни фіксували шляхом фотографування.

Після змодельованої патології пародонта тварин було поділено на дослідні групи: 6 особин слугували контролем; другій групі (7 тварин) внутрішньослизиво вводили гідрогель акваліфт; у третій групі (7 щурів) застосовували препарат 2-диметиламіноетанол 4-ацетоамінобензоат 6% (ДМАЕ). Тваринам двічі з інтервалом у 10 днів ін'єкційно вводили у м'які тканин маргінальних ясен відповідний препарат. Перед проведенням маніпуляцій тварин обстежували. На 30 добу експерименту проводили евтаназію щурів шляхом передозування діетилового ефіру.

Із тканин ясен щурів готували гомогенати у

співвідношенні маса тканини до об'єму фізіологічного розчину 1:40. Гомогенати при +4°C центрифугували при 2500g упродовж 30 хв.

Для біохімічних досліджень ясен використовували надосадову рідину гомогенату ясен, в якій визначали активність лужної (ЛФ) та кислотної фосфатази (КФ), каталази, вміст малонового діальдегіду (МДА), білковозв'язаного (БЗО) та вільного оксипроліну (ВО), глікозамінгліканів. Активність ЛФ і КФ характеризували колориметрично за гідролізом, р-нітрофенілфосфату та 1-нафтилфосфату, відповідно, за допомогою біохімічного аналізатора «Humalyzer-2000». Активність каталази визначали методом М.А. Корольок і співавт. [3], який ґрунтується на здатності пероксиду водню утворювати із солями молібдену стійкий кольоровий комплекс. Уміст МДА встановлювали колірною реакцією з тіобарбітуровою кислотою [4]. Стан антиоксидантної системи виражали антиоксидантно-прооксидантним індексом (АПІ), який відображає баланс анти- й прооксидантних систем органів і тканин [1]. Обмін колагенових компонентів волокнистих структур сполучної тканини слизової оболонки ясен у щурів вивчали за вмістом у гомогенатах вільного (ВО) та білковозв'язаного оксипроліну (БЗО). Стан біополімерів основної речовини сполучної тканини ясен оцінювали за вмістом глікозамінгліканів - компонентів протеогліканів, які виражали через гексуронові кислоти [2].

Результати дослідження та їх обговорення.

За результатами біохімічних досліджень активність ЛФ у гомогенатах слизової оболонки ясен щурів була найнижча в щурів, яким вводили акваліфт, і становила $3,98 \pm 0,49$ мккат/г. Натомість у щурів після введення ДМАЕ залишалася на рівні $4,59 \pm 0,34$ мккат/г. Зниження активності ЛФ можна пояснити зниженням міграції лейкоцитів у тканини пародонта, які, як відомо, мають дуже високу активність цього ферменту.

Активність КФ у 3 групі була в межах статистичної похибки порівняно з результатами групи контролю, що становило $0,91 \pm 0,05$ мккат/г ($p > 0,05$). Якщо зростання активності КФ пояснюється порушенням цілісності лізосомальних мембран, що має місце при будь-якому запальному процесі, то певна тенденція до активізації ферменту засвідчує посилений метаболізм у досліджуваних тканинах. Натомість зниження активності КФ спостерігали у 2 групі, де вона склала $0,76 \pm 0,05$ мккат/г.

Аналізуючи результати каталазної активності в гомогенатах слизової оболонки ясен щурів усіх дослідних груп порівняно з інтактними тваринами,

можна помітити її практично достовірне зростання ($p < 0,001$) у відповідь на інтенсифікацію процесів ПОЛ. Так, найбільш значущі показники отримані в щурів із препаратом ДМАЕ, де активність даного ензиму складала $31,9 \pm 2,5$ мккат/г, що в 4 рази перевищувало результати групи контролю, які становили $7,94 \pm 0,32$ мккат/г.

Аналіз стану ПОЛ ліпідів засвідчив, що в щурів 2-3 груп уміст МДА у гомогенатах слизової оболонки ясен був найвищим і коливався в межах від $18,6 \pm 2,2$ мкмоль/г до $20,1 \pm 2,5$ мкмоль/г, що в 1,4-1,5 рази вище цього показника в тканинах ясен щурів контрольної групи ($p < 0,001-0,01$). Підвищення вмісту МДА в гомогенатах слизової оболонки ясен дослідних тварин можна пов'язувати з нівелюванням градієнта концентрації води та кисню клітинами епітелію.

Наочніше стан антиоксидантно-прооксидантних систем ясен засвідчує індекс АПІ (антиоксидантно-пероксидантний індекс). При введенні в ясна препарату ДМАЕ окисно-відновні процеси є достатньо активними з вираженням антиоксидантним захистом біоструктур і складають $16,3 \pm 1,2$ од. При цьому така ж висока ефективність при застосуванні препарату акваліфт ($11,6 \pm 1,1$ од.), хоча потенціал метаболічної активності значно нижчий. Аналізуючи стан процесів ПОЛ, слід зазначити, що застосування всіх досліджуваних препаратів зумовлює антиоксидантну дію, беручи активну участь у окисно-відновних процесах у організмі шляхом підвищення активності каталази, що, у свою чергу, сприяє підвищенню антиоксидантного потенціалу організму в цілому. Підвищення вмісту МДА при одночасному підвищенні рівня каталази свідчить про відносну компенсацію і напруженість антипероксидного захисту.

Після застосування препарату ДМАЕ зріс уміст ВО на 18,5 % відносно контролю, так і його утворення – на 12,5 % зріс БЗО. Натомість після застосування препарату акваліфт змін практично не відбулося.

Висновок.

Аналіз результатів біохімічного дослідження засвідчив високу метаболічну активність у тканинах ясен після внутрішньослизового введення пластикоконтуруючих препаратів, що супроводжувалося напруженістю і посиленням антиоксидантного захисту субклітинних структур.

Резюме

Актуальним питанням у стоматології, в пародонтології зокрема, залишається проблема рецесії ясен, основним методом лікування якої є хірургічний. При початкових ступенях автори пропонують терапевтичний підхід за допомогою ін'єкційного введення синтетичних препаратів із метою відновлення втрачених м'яких тканин шляхом ліфтингу. Для виявлення змін, які відбувалися в сполучній тканині, використовували біохімічне дослідження, яке показало високу метаболічну активність у тканинах ясен після внутрішньослизового введення пластикоконтуруючих препаратів.

Ключові слова: акваліфт, диметиламіноетанол (ДМАЕ), ліфтинг, рецесія ясен, сполучна тканина.

Резюме

Актуальным вопросом в стоматологии, в пародонтологии в частности, остается проблема рецессии десны, основным методом лечения которой является хирургический. При начальных степенях авторы предлагают терапевтический подход с помощью инъекционного введения синтетических препаратов с

Перспективи подальших досліджень.

Розглядаємо перспективи застосування лікарських засобів для ремоделювання м'яких тканин пародонта при початкових ступенях рецесії ясен, які б сприяли ліфтингу, відновлюючи контур втрачених тканин маргінальних ясен.

Література

1. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами / [А.П. Левицький, В.М. Почтар, А.О. Макаренко, Л.І. Грідіна] // Одеський медичний журнал. – 2006. – № 1. – С. 22-25.
2. Биохимические методы анализа показателей обмена биополимеров соединительной ткани / П.Н. Шараев, В.Н. Пишков, О.Н. Зубарев [и др.]. - Ижевск: Ижевский государственный медицинский институт, 1990. - 14 с.
3. Метод определения активности каталазы / [М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев] // Лабораторное дело. - 1988. - № 1. - С. 16-18.
4. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии ; под. ред. В.Н. Ореховича. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
5. Holbrook T. Complete coverage of the denuded root surface with a one-stage gingival graft / T. Holbrook, C. Ochsenbein // Int. J. Periodontics Restorative Dent. - 1983.- Vol. 3, № 3. - P. 9-27.
6. Miller P.D. Root coverage using a free soft tissue autogenous graft following citric acid application. I Technique Int. / P.D. Miller // J. Periodont. Rest. Dent. - 1982. - № 2. - P. 65-70.
7. Sullivan H.C. Free autogenous gingival grafts. III. Utilization of grafts in the treatment of gingival recession / H.C. Sullivan, J.H. Atkins // J. Periodontics. - 1968. - № 6. - P. 60-152.
8. Стерретт Д. Устранение рецессий большого размера с помощью соединительнотканного трансплантата с участком эпителия / Д. Стерретт // Peno IQ. – 2009. – № 17. – С. 91-96.
9. Oates T. Surgical therapies for the treatment of gingival recession. A systematic review / T. Oates, M. Robinson, J. Gunsolley // Annals of Periodontology. – 2003. – Vol. 1, № 8. – P. 303-320.
10. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. - 2003. - № 2 (22). - С. 108-109.

**Стаття надійшла
12.02.2016 р.**

целью восстановления утраченных мягких тканей путем лифтинга. Для выявления изменений, которые происходили в соединительной ткани, использовали биохимическое исследование, показавшее высокую метаболическую активность в тканях десны после внутрислизистого введения пластикоконтурирующих препаратов.

Ключевые слова: аквалифт, диметиламиноэтанол (DMAЭ), лифтинг, рецессия десен, соединительная ткань.

UDC 661.311.21-085.262.55]-092.9

BIOCHEMICAL ASPECTS INFLUENCE REMEDIES AQUALIFT AND DMAE ON SOFT TISSUES AFTER MODELING RECESSION GUMS ON THE RATS

Volodymyr Zubachyk, Mariana Iskiv

Danylo Halytskyi National Medical University in Lviv

Summary

Aesthetic aspects remains the actual issue of dentistry, especially periodontology. It concerns not only the harmony in shape, size and color of teeth, but also the outline of lips and gums. Gum recession mainly is being treated by means of surgery. At the initial stages we have proposed to use the therapeutic approach using injection of synthetic drugs in order to recover lost soft tissue by lifting. The injection of drugs has been conducted after modelling the gum recession of rats in order to create a pathological condition similar to humans. When working with rats we have followed the international recommendations on biomedical research using animals. To eliminate the simulated aesthetic defect there have been used drugs to being injected based on synthetic compounds: hydrogel aqualift and 2- dimethylaminoethanol 4-acetoaminobenzoat 6% (DMAE), into marginal edge of the gums in the area of the lower incisors of the oral cavity of rats. The animals got injections of appropriate medication into soft tissue of marginal gum twice with interval of 10 days. The experiment lasted for 30 days, after which the euthanasia of rats was performed by means of overdose of diethyl ether.

Using the rat gingival tissue there have been prepared homogenates in the ratio of the mass of tissue to volume of saline 1:40. At + 4 ° C the homogenates were centrifuged at 2500g for 30 min. To identify the changes occurring in the connective tissue there were used biochemical research: there was measured the activity of alkaline (ALP) acid phosphatase, and catalase; protein-bound (PB) and free oxyproline (FO), glycosaminoglycans; in order to assess the intensity of lipid peroxidation in the gingival epithelial tissues in case of experimental recession in rats and following injections of medicines there have been assessed by accumulation of secondary products, such as the activity of malon dialdehyde (MDA). Condition of the antioxidant system was expressed by antioxidant-prooxidant index (API). The research showed high metabolic activity in the gingival tissue after introduction of internal mucosal plastic and contouring drugs.

Key words: aqualift, demethylaminomethanol (DMAE), lifting, recessing gums, connective tissue.