

УДК 612.017+616.36

**Н. Л. Хлыстун, М. И. Скидан, К. В. Скидан, к. мед. н.,  
И. И. Соколова, д. мед. н., А. П. Левицкий, д. биол. н.**

Харьковский национальный медицинский университет  
ГУ "Институт стоматологии НАМН Украины"

### СОСТОЯНИЕ ПАРОДОНТА У КРЫС ПОСЛЕ АППЛИКАЦИИ НА ДЕСНУ ГЕЛЯ С ПЧЕЛИНЫМ ЯДОМ

*Апликация пчелиного яда на десну крыс вызывает снижение активности лизоцима, антиоксидантно - прооксидантного индекса АПИ и увеличение степени дисбиоза, а также активности эластазы. В костной ткани пародонта снижается лишь индекс минерализации.*

**Ключевые слова:** десна, пародонт, пчелиный яд, воспаление, дисбиоз, протеолиз, антиоксиданты.

**Л. М. Хлыстун, М. І. Скидан, К. В. Скидан,  
І. І. Соколова, А. П. Левицький**

Харківський національний медичний університет  
ДУ «Інститут стоматології НАМН України»

### СТАН ПАРОДОНТА У ЩУРІВ ПІСЛЯ АПЛІКАЦІЇ НА ЯСНА ГЕЛЯ З БДЖОЛИНОЮ ОТРУТОЮ

*Апликація бджолиної отрути на ясна щурів викликає зниження активності лізоциму, антиоксидантно - прооксидантного індексу АПІ та збільшення ступеню дисбіозу та активності еластази. В кістковій тканині пародонту знижується лише індекс мінералізації.*

**Ключові слова:** ясна, пародонт, бджолина отрута, запалення, дисбіоз, протеоліз, антиоксиданти.

**N. L. Khlystun, M. I. Skidan, K. V. Skidan,  
I. I. Sokolova, A. P. Levitskij**

Kharkiv National Medical University  
SE "The Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine"

### THE STATE OF PERIODONTIUM IN RATS AFTER THE APPLICATION OF GEL WITH APITOXIN ON GUM

*The application of apitoxin on rats' gum causes the reduction of the activity of lysozyme, antioxidant-prooxidant index API and growth of the degree of disbiosis, as well as elastase activity. Only the index of mineralization decreases in osseous tissue of periodontium.*

**Key words:** gum, periodontium, apitoxin, inflammation, disbiosis, proteolysis, antioxidants.

Пчелиный яд содержит ряд биологически активных веществ, обладающих в определенных дозах токсическим действием на организм [1]. Среди этих веществ следует выделить фермент фосфолипазу А<sub>2</sub>, которая вызывает гемолиз [2], и нейротоксический полипептид мелиттин [3]. Ранее в Институте стоматологии был предложен метод воспроизведения стоматита путем аппликации геля пчелиного яда на слизистую оболочку полости рта [4].

**Цель настоящей работы.** Изучение состояния мягких и твердых тканей пародонта при воздействии пчелиного яда.

**Материалы и методы исследования.** В работе был использован фармакопейный препарат пчелиного яда, который вводили в состав 2,5 %-ного геля натриевой соли КМЦ в концентрации 5 мг/мл. Гель с пчелиным ядом в количестве 0,5 мл наносили на десну крыс (крысы линии Вистар, самки, 15 месяцев, живая масса 280±12 г, всего 40 голов). После умерщвления животных под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг), путем тотального кровопускания из сердца, иссекали десну и участок костной ткани альвеолярного отростка нижней челюсти. В гомогенатах десны определяли уровень маркеров воспаления: концентрацию малонового диальдегида (МДА) и активность эластазы [5], активность уреазы (маркера антимикробной обсемененности) и активность лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [6], а также активность антиоксидантного фермента каталазы [5]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза в десне [7], а по соотношению активности каталазы и концентрации МДА – антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [5]. В гомогенате костной ткани альвеолярного отростка определяли общую протеолитическую активность (ОПА) по расщеплению казеина [8], активность эластазы, используя синтетический субстрат [8], а также активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз [8]. По соотношению активностей ОПА и эластазы рассчитывали индекс коллагенообразования (ИКО), а по соотношению ЩФ/КФ - индекс минерализации (ИМ) [9].

**Результаты и их обсуждение.** На рис. 1 представлены результаты определения в десне уровня маркеров воспаления, из которого видно, что воздействие пчелиного яда вызывает разнохарактерные изменения избранных маркеров: быстрое повышение концентрации МДА (1-3 сутки) с последующим спадом активности, однако достоверно превышающем исходный показатель даже на 12-е сутки, и медленное, но поступательное увеличение активности эластазы.

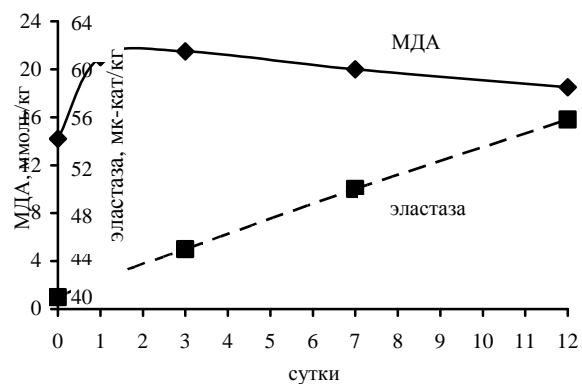


Рис. 1. Уровень маркеров воспаления в десне крыс после аппликации геля с пчелиным ядом.

На рис. 2 представлены результаты определения активности уреазы (маркер микробной обсемененности) и лизоцима (маркер неспецифического иммунитета). Из представленных данных видно, что активность уреазы растет, достигая максимума на 7-е сутки, а затем (на 12-е сутки) практически возвращается к исходному уровню. Напротив, активность лизоцима резко снижается уже в первые сутки и затем продолжает медленно снижаться более, чем в 3 раза ниже исходного уровня.

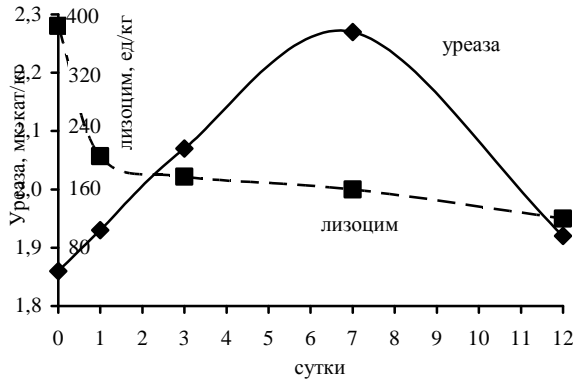


Рис. 2. Активность уреазы и лизоцима в десне крыс после аппликации геля с пчелиным ядом.

На рис. 3 представлены результаты определения индекса АПИ, который отражает баланс антиоксидантных и прооксидантных факторов десны, а также показатель степени дисбиоза этой ткани. Как видно из этих данных, индекс АПИ очень быстро снижается уже в первые сутки воздействия пчелиного яда и далее этот показатель стабилизируется, но на более низком уровне по сравнению с нормой. Напротив, степень дисбиоза быстро увеличивается в первые сутки, а затем медленно нарастает, превышая на 12-й день норму почти в 3,5 раза.

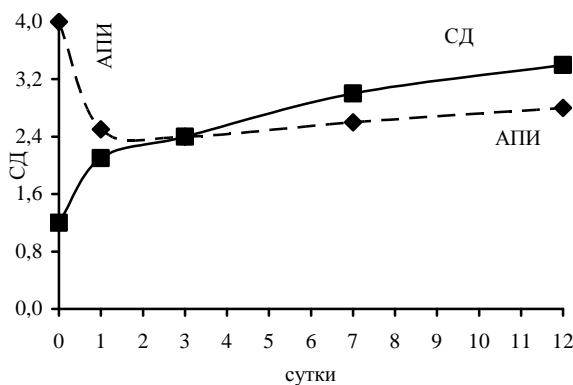


Рис. 3. Степень дисбиоза (СД) и индекс АПИ в десне крыс после аппликации на десну геля, содержащего пчелиный яд.

Таким образом, аппликации геля, содержащего пчелиный яд, вызывают глубокие нарушения в десне, которые заключаются в ослаблении ее защитных систем (снижение активности лизоцима, снижение индекса АПИ) и, как следствие, в увеличении степени дисбиоза и протеолитической активности. Дисбиоз в дальнейшем приводит к микробной интоксикации, а

усиление протеолиза обуславливает деструкцию тканей пародонта.

В отличие от десны, костная ткань пародонта крыс слабо реагирует на аппликацию пчелиного яда, о чем свидетельствуют данные, представленные в таблице. Как видно из этих данных, в костной ткани отсутствуют достоверные изменения активности протеаз и щелочной фосфатазы. Лишь в более поздние сроки (7-12 дни) достоверно возрастает активность кислой фосфатазы. Как следствие, снижается индекс минерализации (рис. 4). При этом индекс коллагенообразования ИКО достоверно не изменяется.

Таблица

**Ферментативные показатели альвеолярной кости нижней челюсти крыс после аппликаций на десну геля с пчелиным ядом**

Срок, сутки	ОПА, мк-кат/кг	Эластаза, мк-кат/кг	ЩФ, мкат/кг	КФ, мкат/кг
0	29,6±2,8	5,97±0,57	28,3±1,8	2,75±0,09
1	38,5±3,9 p>0,05	6,41±0,48 p>0,3	28,0±0,9 p>0,7	3,07±0,17 p>0,1
3	35,5±3,6 p>0,3	7,78±0,81 p>0,05	26,7±1,5 p>0,4	2,92±0,22 p>0,3
7	35,8±4,1 p>0,3	7,15±0,60 p>0,05	26,5±2,1 p>0,4	3,66±0,26 p<0,05
12	34,2±2,2 p>0,3	6,62±0,46 p>0,3	25,8±1,9 p>0,3	3,36±0,21 p<0,05

Примечание: p – показатель достоверности различий с "0" временем

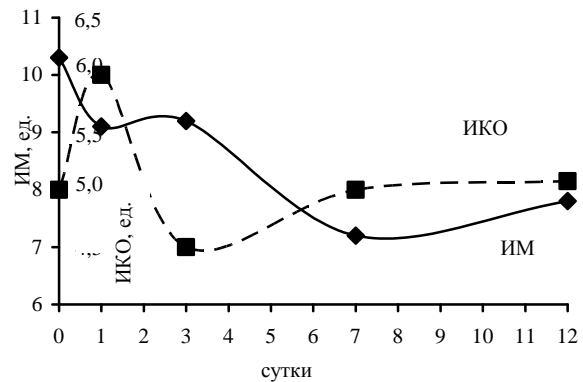


Рис. 4. Уровень индекса коллагенообразования (ИКО) и индекса минерализации (ИМ) в альвеолярной кости крыс после аппликации геля с пчелиным ядом.

Безусловно, развитие микробной интоксикации и тканевого протеолиза в десне рано или поздно приводит к патологическим процессам и в костной ткани пародонта.

Для устранения нарушений в пародонте, развивающихся после воздействия пчелиного яда, необходимо направить усилия на активизацию защитных систем (стимуляция иммунитета, усиление антиоксидантного потенциала) и устранение состояния дисбиоза (применение про- и пребиотиков). Необходимо также ослабить протеолитическую деструкцию (применение ингибиторов протеаз).

**Выводы.** 1. Аппликация пчелиного яда на десну крыс вызывает снижение защитных систем десны и

активізацію провоспалительних процесів протеолітичної деструкції і розвиток дисбіоза.

2. Костна тканина пародонта слабо реагує на аплікацію пчелиного яду, хоча в віддалені терміни після аплікації яду спостерігається зниження індекса мінералізації.

#### Список літератури

1. Сопіна І. Л. Сучасний стан проблеми фармакотерапії отруєнь бджолиною отрутою / І.Л. Сопіна, Л.А. Могиринова, В.С. Даниленко // Ліки. – 1998. – № 1. – С. 47–59.
2. Зубачик В. М. Біологічна роль фосфоліпази А<sub>2</sub> (огляд літератури) / В.М. Зубачик // Журнал АМН України. – 1999. – Т. 5, № 4. – С. 627–642.
3. Демченко А. П. Милиттин: структура, свойства, взаимодействие с мембраной / А.П. Демченко, Е.Г. Кошаржевская // Украинский биохимический журнал. – 1986. – Т. 58, № 5. – С. 92–103.
4. Ткачук Н. И. Биохимические изменения в тканях полости рта крыс при воспроизведении стоматита с помощью пчелиного яда / Н. И. Ткачук, В. Я. Скиба, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2007. – № 6. – С. 16–20.
5. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / [Левицкий А.П., Деняга О.В., Макаренко О.А. и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
6. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: метод. рекомендации / [Левицкий А. П., Макаренко О. А., Селиванская И. А. и др.]. – К.: ГФЦ, 2007. – 22 с.
7. Пат. 43140 Україна, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицкий А.П., Деняга О.В., Селиванська І.О. [та ін.]. – № u200815092. – заявл. 26.12.08; опубл. 10.08.09, Бюл. № 15.
8. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: метод. рекомендации / [Левицкий А. П., Макаренко О. А., Деняга О. В. и др.]. – К.: ГФЦ, 2005. – 30 с.
9. Ферментативный метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2006. – № 3. – С. 17–21.

Надійшла 10.05.12

УДК 616.314.17-008.1.-074:577.1.

**С. І. Паламарчук, А. В. Борисенко**

ДУ "Київський національний медичний університет

### ОСТЕОСТИМУЛЮЮЧА КОМПОЗИЦІЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦІЇ АЛЬВЕОЛЯРНОЇ КІСТКИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

*Запропонована остеостимулююча композиція, яка складається з ентеросгелю, метронідазолу і алфлутопу і яка при усуненні дефекту альвеолярної кістки нижньої щелепи щурів стимулювала процес мінералізації і колагенотворення, не поступаючи стандарту коллапану Л.*

**Ключові слова:** остеогенез, нижня щелепа, остеостимулюючі препарати.

**С. И. Паламарчук, А. В. Борисенко**

ГУ "Киевский национальный медицинский университет

### ОСТЕОСТИМУЛИРУЮЩАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ РЕГЕНЕРАЦИИ АЛЬВЕОЛЯРНОЙ КОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Предложена остеостимулирующая композиция, состоящая из энтеросгеля, метронидазола и алфлутона, которая при*

*замещении дефекта альвеолярной кости нижней челюсти крыс стимулировала процесс минерализации и коллагенообразования, не уступая стандарту коллапану-Л.*

**Ключевые слова:** остеогенез, нижняя челюсть, остеостимулирующие препараты.

**S. I. Palamarchuk, A. V. Borisenko**

SE "Kiev National Medical University

### THE OSTEOSTIMULATING COMPOSITION FOR THE REGENERATION OF ALVEOLAR BONE IN EXPERIMENT

*The osteostimulating composition, containing enterosgel, metronidazole and apluthope, was offered. It stimulated the process of mineralization and collagen formation, not being worse than the standard collapane-L, at the replacement of the defect of alveolar bone of lower jaw in rats.*

**Key words:** osteogenesis, lower jaw, osteostimulating preparations.

Існує велика кількість способів впливу на різні ланцюги репаративної кісткової регенерації: безпосередня стимуляція попередників остеобластів в періоді і ендості, використання поліпотентних стовбурових клітин, трансплантація аутоклітин кістки, імплантація остеокондуктивних матеріалів, застосування факторів росту, ангіогенезу та стимуляторів мікроциркуляції [1-6]. На жаль, майже усі запропоновані остеостимулюючі препарати не задовольняють в достатній мірі вимоги, які необхідні для ефективної регенерації кісткової тканини.

Тому метою нашого дослідження стала розробка нового композиційного остеостимулюючого препарату, до складу якого входять як антимікробні і антитоксичні засоби, так і імуностимулюючі та адаптогенні фактори.

**Матеріали і методи дослідження.** Нами запропонована остеостимулююча оригінальна композиція, яка складається з трьох препаратів: ентеросгелю (Р.П. № UA/4415/02/01), метронідазолу (Р.П. № UA/6100/01/01) і ахфлутопу (Р.П. № UA/6889/01/01). Рецептатура композиції була наступною:

- ентеросгель – 610 мг;
- метронідазол – 500 мг (2 таблетки);
- алфлутоп – 1 мл.

В якості препарату порівняння було використано "Коллапан" (виробник ООО фірма "Интермедпатит", Москва, Росія, Рег. № ФСР 2011/10304, ТУ 9393-003-26948713-2006). Коллапан відноситься до остеопластичних матеріалів, які застосовуються для відновлення кісткової тканини і лікування гнійних ускладнень. До його складу входять: штучний (синтетичний) гідроксипатит, колаген, лінкоміцин [7].

Досліди було проведено на 35 білих щурах лінії Вістар (самці, 13-14 місяців), яких було поділено на 7 груп:

- 1 група — інтактні щури (норма);
- 2 і 3 групи — щури з дефектом кісткової тканини без лікування (евтаназія на 10-й день (гр. № 2) і на 30-й день (гр. № 3);