

ными изменениями, приводящими к уменьшению слюнообразования и слюновыделения.

3. Что касается влияния атропина, то последний, как известно, стимулирует симпатическую НС, приводящую к образованию густой и вязкой слюны, в связи с чем, мы можем предположить, что уменьшение слюновыделения при атропиновой нагрузке на слюнные железы, связано лишь с тем, что из-за вязкости секретиремой слюны затруднено ее истечение по выводным протокам.

4. При деструктивных изменениях в слюнных железах, приводящих к гипосаливации, лечение должно быть направлено на восстановление структуры слюнных желез с одновременным применением заместительной терапии (искусственной слюны). При разбалансировании вегетативной НС с преобладанием симпатической иннервации лечение, направленное на увеличение слюноотделения, должно быть основано на разжижение секрета на этапе его образования в железах, что обосновывает применение препаратов, стимулирующих парасимпатическую нервную систему.

Список литературы

1. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна / А. Б. Денисов. - М., 2000. - 362 с.
2. Abert O. A. Xerostomia. Causes and effect/ O.A. Abert // J. Prosthet. Dent. - 2006. - Vol. 84, N1. - P. 77-81.
3. Wolf A. Oral mucosal status and major salivary gland function/Wolf A., Fox P.S., Ship J.A. [et al.] // Oral Med. Oral Pathol. - 2005. - Vol. 85, N1. - P. 49-54.
4. Шипский А. В. Ксеростомия, гипосаливация и нарушение экскреторной (эвакуаторной функции) слюнных желез (обзор) / А. В. Шипский // Пародонтология. - 2002. - № 3. - С. 45-50.
5. Гречко В. Е. Неотложная помощь в нейростоматологии / Гречко В. Е. - М: Медицина, 1990. - 312 с.
6. Лесовая И. Г. Состояние вегетативной нервной системы и секреторная активность слюнных желез у больных хроническим синуситом / Інноваційні технології – в стоматологічну практику: матеріали 111 (X) з'їзду Асоціації стоматологів України, (Полтава, 16-18 жовтня 2008 р.) / М-во охорони здоров'я України / И. Г. Лесовая, Т. В. Ткач, Г. Б. Хасанова. - Полтава: «Дивосвіт», 2008. - С. 303.
7. Новицкая И. К. Изучение действия атропина на функциональную активность слюнных желез в эксперименте / И. К. Новицкая // Вісник стоматології. - 2012. - № 2. - С. 20-22.

Поступила 23.07.12

УДК 517.112:612.8+615.462.03

¹И. И. Соколова, д. мед. н., ¹Н. Л. Хлыстун,

³Е. П. Ступак, к. мед. н., ³С. В. Гончарук, к. мед. н.,

¹К. В. Скидан, к. мед. н.

¹ГУ "Харьковский национальный медицинский университет"

²ВГУ "Украинская медицинская стоматологическая академия"

³ГУ "Институт стоматологии НАМН Украины"

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ДЕСНЕ И В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС ПОСЛЕ ОРАЛЬНОЙ АППЛИКАЦИИ ГЕЛЯ С ПРОТАМИНОМ

Аппликация геля с протаминсульфатом (0,25-1,00 мг/мл) на слизистую оболочку полости рта крыс вызывает дозозависимое повышение в деснах уровня маркеров воспаления (МДА, эластазы), активности уреазы и степени дисбиоза, которое сопровождается дозозависимым снижением активности лизоцима и содержания гиалуроновой кислоты. В сыворотке крови достоверно снижается активность лизоцима.

висимое повышение в деснах уровня маркеров воспаления (МДА, эластазы), активности уреазы и степени дисбиоза, которое сопровождается дозозависимым снижением активности лизоцима и содержания гиалуроновой кислоты. В сыворотке крови достоверно снижается активность лизоцима.

Ключевые слова: протамин, десна, ферменты, гиалуроновая кислота, воспаление, дисбиоз.

I. I. Sokolova, N. L. Khlystun, O. P. Stupak, S. V. Goncharuk, K. V. Skydan

ДУ "Харківський національний медичний університет"
ВДУУ "Українська медична стоматологічна академія"
ДУ "Інститут стоматології НАМН України"

БИОХИМИЧНІ ЗМІНИ В ЯСНАХ І В СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОРАЛЬНОЇ АПЛІКАЦІЇ ГЕЛЯ З ПРОТАМІНОМ

Апликацію гелю з протамінсульфатом (0,25-1,00 мг/мл) на слизову оболочку порожнини рота щурів викликає дозозалежне підвищення в яснах рівня маркерів запалення (МДА, еластази), активності уреазы і ступеня дисбіозу, яке супроводжується дозозалежним зниженням активності лізоциму та вмісту гіалуронової кислоти. В сироватці крові достовірно знижується активність лізоциму.

Ключові слова: протамін, ясна, ферменти, гіалуронова кислота, запалення, дисбіоз.

I. I. Sokolova, N. L. Khlystun, E. P. Stupak, S. V. Goncharuk, K. V. Skydan

SE "Kharkiv National Medical University"
HSEE "Ukrainian Medical Dental Academy"
SE "the Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine"

THE BIOCHEMICAL CHANGES IN GUM AND BLOOD SERUM OF RATS AFTER ORAL APPLICATION OF GEL WITH PROTAMINE

The applications of gel with protamine sulfate (0.25-1.00 mg/ml) upon the mucous membrane of oral cavity of rats cause the depending-on-dose growth of the level of inflammatory markers (MDA, elastase), the activity of urease and the degree of disbiosis, which is followed by the depending-on-dose reduction of the activity of lysozyme and contents of hyaluronic acid in gums. The activity of lysozyme truly decreases in blood serum.

Key words: protamine, gum, enzymes, hyaluronic acid, inflammation, disbiosis.

В нашей предыдущей работе [1] было показано, что аппликации на слизистую полости рта крыс геля, содержащей 0,1 мг/мл протаминсульфата, вызывает в десне развитие дисбиоза и воспаления примерно в такой же степени как и при моделировании гингивита с помощью пчелиного яда.

Целью настоящего исследования стало изучение влияния на биохимические маркеры воспаления и дисбиоза в десне и в сыворотке крови крыс разных доз протамин.

© Соколова И. И., Хлыстун Н. Л., Ступак Е. П., Гончарук С. В., Скидан К. В., 2012.

Материалы и методы исследования. В работе были использованы: протамин сульфат, 1 %-ный раствор (производитель ЗАО "Индар", Украина), гиалуроновая кислота натриевая соль (производитель "Sigma", США), овальбумин (производитель "Sigma", США), натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ, Россия).

Гель протамин сульфата готовили на 2,5 %-ном растворе натриевой соли КМЦ, содержащем 0,25; 0,50 или 1,00 мг/мл протамин сульфата.

Эксперименты были проведены на 42 белых крысах линии Вистар (самки, 10 месяцев, средняя живая масса 280 ± 15 г). Все крысы были разделены в 4 группы: 1-ая – норма; 2-ая – получавшие гель протаминсульфата с концентрацией 0,25 мг/мл, 3-я – гель с концентрацией 0,50 мг/мл и 4-я – гель с концентрацией 1,00 мг/мл. Аппликации на слизистую полости рта геля с протамином делали ежедневно в дозе 0,5 мл на крысу. Половина крыс 2-ой, 3-ей и 4-ой групп получали аппликации один раз и умерщвлялись на 2-й день. Вторая половина крыс получала гель три дня и умерщвлялась на 4-й день. Умерщвление крыс осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Иссекали

десну и получали сыворотку крови, которые хранили до исследования при -30°C .

В гомогенате десны (20 мг/мл 0,05М трис-НСІ буфера рН 7,5) и в сыворотке крови определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [2], активность эластазы [2], уреазы [3], лизоцима [3] и каталазы [2]. Кроме того, в гомогенате десны определяли содержание гиалуроновой кислоты нефелометрическим методом по взаимодействию с овальбумином (метод Клемента [4]). По соотношению активности каталазы и концентрации МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [2], а по соотношению активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [3].

Результаты и их обсуждение. В табл. 1 представлены результаты определения уровня биохимических маркеров воспаления [2]: активность эластазы и концентрация МДА, в десне крыс, получавших аппликации геля с разным содержанием протамин. Из этих данных видно, что аппликации протамин на слизистую полости рта достоверно повышают уровень МДА, а также активность эластазы, начиная с концентрации протамин сульфата 0,25 мг/мл, что соответствует дозе около 1 мг/кг.

Таблица 1

Влияние протамин на уровень маркеров воспаления в десне крыс (n=6)

№ п/п	Концентрация протамин сульфата, мг/мл	Эластаза, мк-кат/кг		МДА, ммоль/кг	
		1 сут.	3 сут.	1 сут.	3 сут.
1	Норма	46,0±1,0		13,7±1,5	
2	0,25	51±2 p<0,05	50±3 p>0,05	23,7±2,9 p>0,05	24,7±2,4 p<0,05
3	0,50	55±4 p<0,05	57±2 p<0,05	23,7±2,3 p>0,05	24,9±2,4 p<0,05
4	1,00	56±3 p<0,05	60±2 p<0,05	24,6±2,4 p<0,05	25,6±2,3 p<0,05

Примечание: p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой № 1.

В табл. 2 представлены результаты определения активности уреазы и лизоцима, а также степени дисбиоза в десне крыс, получавших аппликации протамин. Активность уреазы проявляет тенденцию к по-

вышению, активность лизоцима достоверно и дозозависимо снижается. Степень дисбиоза в десне крыс достоверно и дозозависимо увеличивается.

Таблица 2

Влияние протамин на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в десне крыс (n=6)

№ п/п	Концентрация протамин сульфата, мг/мл	Эластаза, мк-кат/кг		Лизоцим, ед/кг		Степень дисбиоза, ед.	
		1 сут.	3 сут.	1 сут.	3 сут.	1 сут.	3 сут.
1	Норма	1,90±0,20		425±21		1,00±0,10	
2	0,25	2,02±0,22 p>0,05	2,05±0,20 p>0,05	208±16 p<0,001	202±19 p<0,001	2,16±0,18 p<0,001	2,30±0,20 p<0,001
3	0,50	2,05±0,19 p>0,05	2,00±0,16 p>0,05	192±26 p<0,001	186±15 p<0,001	2,40±0,21 p<0,001	2,39±0,22 p<0,001
4	1,00	2,24±0,21 p>0,05	2,22±0,18 p>0,05	155±20 p<0,001	145±18 p<0,001	3,28±0,31 p<0,001	3,44±0,30 p<0,001

Примечание: p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой № 1.

В табл. 3 представлены результаты определения активности каталазы и уровень индекса АПИ в десне крыс, получавших аппликации геля с протамином. Независимо от дозы протамин во всех случаях дос-

товерно снижается активность каталазы и индекс АПИ, что свидетельствует о снижении уровня защитных систем организма.

Таблица 3

Влияние протамин на активность каталазы и антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ в десне крыс (n=6)

№ п/п	Концентрация протамин сульфата, мг/мл	Каталаза, мкат/кг		АПИ, ед.	
		1 сут.	3 сут.	1 сут.	3 сут.
1	Норма	9,25±0,22		4,7±0,2	
2	0,25	7,62±0,38 p<0,05	6,40±0,31 p<0,001	3,2±0,3 p<0,001	2,6±0,2 p<0,001
3	0,50	7,54±0,51 p<0,05	6,71±0,36 p<0,01	3,2±0,3 p<0,001	2,7±0,2 p<0,001
4	1,00	7,26±0,31 p<0,05	7,49±0,35 p<0,05	2,9±0,3 p<0,001	2,9±0,3 p<0,001

Примечание: p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой № 1.

В табл. 4 представлены результаты определения содержания гиалуроновой кислоты в десне с протамином. Из этих данных видно, что, начиная с концентрации 0,25 мг/мл, наблюдается дозозависимое снижение содержания гиалуроновой кислоты в десне.

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что протамин вызывает развитие воспаления и дисбиоза в десне, начиная с концентрации 0,25 мг/мл.

В табл. 5 представлены результаты определения в сыворотке крови уровня биохимических маркеров воспаления и дисбиоза. Активность эластазы проявляет явную тенденцию к повышению уже с концентрации протамин 0,25 мг/мл, однако из-за большого разброса данных повышенная активность достоверна лишь для концентрации 1 мг/мл и после трехкратной аппликации.

Таблица 4

Влияние протамин на содержание гиалуроновой кислоты в десне крыс (n=6)

№ п/п	Концентрация протамин сульфата, мг/мл	Гиалуроновая кислота, мг/кг	
		1 сут.	3 сут.
1	Норма	594,8±60,0	
2	0,25	574,7±42,3 p>0,05	517,2±30,8 p>0,05
3	0,50	436,8±23,4 p<0,05	382,2±16,9 p<0,01
4	1,00	356,3±32,9 p<0,01	310,3±33,3 p<0,01

Примечание: p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой № 1.

Таблица 5

Влияние протамин на активность эластазы и лизоцима в сыворотке крови крыс (n=6)

№ п/п	Концентрация протамин сульфата, мг/мл	Эластаза, мк-кат/л		Лизоцим, ед/л	
		1 сут.	3 сут.	1 сут.	3 сут.
1	Норма	186,0±11,5		95±7	
2	0,25	218,8±12,2 p>0,05	220,5±13,1 p>0,05	72±2 p<0,05	68±3 p<0,05
3	0,50	228,8±21,7 p>0,05	217,1±19,2 p>0,05	60±3 p<0,01	66±3 p<0,05
4	1,00	222,7±18,4 p>0,05	266,2±21,7 p<0,05	63±2 p<0,01	62±1 p<0,01

p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой № 1.

В отличие от эластазы, активность лизоцима в сыворотке крови достоверно снижается после аппликаций, уже начиная с концентрации протамина 0,25 мг/мл.

Остальные биохимические показатели сыворотки крови (МДА, уреазы) не претерпели существенных изменений после аппликаций геля с протамином. Лишь активность каталазы достоверно снижалась, начиная с концентрации протамина 0,5 мг/мл.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что протамин оказывает свое провоспалительное и дисбиотическое действие не только локально, в месте нанесения геля, но и дистантно, по-видимому, легко всасываясь в полости рта, поскольку молекулярная масса протамина около 6 кДа [5].

Максимальный провоспалительный и дисбиотический эффект на десну протамин оказал при трехкратной аппликации геля с концентрацией протамин сульфата 1 мг/мл, что соответствует дозе протамин сульфата примерно 4 мг/кг живой массы за одни сутки.

Для ответа на вопрос, каков механизм действия протамина: ингибирование гепарина или другое воздействие на системы организма, еще требуется провести дополнительные исследования.

Список литературы

1. Влияние аппликаций геля с протамином на биохимические показатели воспаления и дисбиоза в десне крыс / А. П. Левицкий, Н. Л. Хлыстун, Е. П. Ступак [и др.] // Вісник стоматології. - 2012. - № 7, спецвип. - С. 9-12.
2. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. - Одесса, 2010. - 16 с.
3. 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. - 26 с.
4. Асатиани В. С. Новые методы биохимической фотометрии / В.С. Асатиани. - М.: Наука, 1965. - 298 с.
5. Гауровиц Ф. Химия и функции белков / Ф. Гауровиц. - М.: Мир, 1965. - 531 с.

Поступила 01.10.12



УДК 517.112:612.8+615.462.03

**А. П. Левицкий, д. биол. н., И. А. Давиденко,
О. Н. Сенников, к. мед. н.**

ГУ "Институт стоматологии АМН Украины"

ВЛИЯНИЕ ГЕЛЯ С МУКОЗИНОМ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА КРЫС С ПРОТАМИНОВЫМ СТОМАТИТОМ

При моделировании протаминового стоматита у крыс аппликации геля с мукозином (препарат слизистой оболочки тонкой кишки свиньи) снижают степень воспаления и дисбиоза в СОПР и увеличивают уровень защитных систем (лизоцима, каталазы, индекса АПИ).

Ключевые слова: протамин, мукозин, стоматит, дисбиоз, ферменты.

А. П. Левицкий, И. А. Давиденко, О. М. Сенников

ДУ «Институт стоматологии НАМН Украины»

ВПЛИВ ГЕЛЯ З МУКОЗИНОМ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ ПОРОЖНИНИ РОТА ЩУРІВ З ПРОТАМІНОВИМ СТОМАТИТОМ

За умов моделювання протамінового стоматиту у щурів аплікації гелю з мукозином (препарат слизової оболонки тонкої кишки свиней) знижують ступінь запалення і дисбіозу в СОПР та збільшують рівень захисних систем (лізоцима, каталази, індекса АПІ).

Ключові слова: протамін, мукозин, стоматит, дисбіоз, ферменти.

A. P. Levitskij, I. A. Davydenko, O. N. Sennikov

SE "the Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine"

THE INFLUENCE OF GEL WITH MUCOSINE UPON BIOCHEMICAL INDICES OF ORAL MUCOUS MEMBRANE IN RATS WITH PROTAMINE STOMATITIS

At the simulation of protamine stomatitis in rats the applications of gel with mucosine (the preparation of mucous membrane of pig's small intestine) reduce the degree of inflammation and disbiosis in OMM and increase the level of protective systems (lysozyme, catalase, index of API).

Key words: protamine, mucosine, stomatitis, disbiosis, enzymes.

Протаминовая модель стоматита имеет ряд отличий от других экспериментальных моделей [1], поскольку связана, прежде всего, с воздействием на обмен гликозамингликанов - гиалуроновой кислоты и хондроитинсульфатов. Сочетание этих двух соединений обеспечивает морфофункциональное состояние тканей, способствующее их устойчивости к действию микробных и провоспалительных факторов [2]. Протамин, как антагонист сульфатированных полисахаридов и, прежде всего, гепарина [3], приводит к активации системы деградации гиалуроновой кислоты под влиянием лейкоцитарной и микробной гиалуронидазы и, тем самым, способствует повышению проницаемости тканей для микробов и лейкоцитов [4, 5].

Цель настоящего исследования. Изучение лечебно-профилактического действия аппликаций геля, содержащего мукозин, на слизистую оболочку полости рта (СОПР) крыс при моделировании протаминового стоматита.

Мукозин представляет собой сухую измельченную слизистую тонкой кишки свиньи. Ранее нами было показано лечебно-профилактическое действие мукозина при экспериментальном сахарном диабете и дисбиозе. В основе такого действия лежат многие факторы, связанные с особенностями химического состава этого препарата: коллаген, гликозаминогликаны, ферменты, кишечинальные гормоны, белковые структуры пробиотических бактерий (из мукозально-био пленки) [6].

© Левицкий А. П., Давиденко И. А., Сенников О. Н., 2012.