

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.36–102.2–07:616.–078.33

**А. В. Борисенко, д. мед. н., О. Б. Ткач,
А. П. Левицкий², д. биол. н.**

Киевский национальный медицинский университет
им. Богомольца

Государственное учреждение «Институт стоматологии
национальной академии медицинских наук Украины»

**ВЛИЯНИЕ ОРАЛЬНЫХ АППЛИКАЦИЙ
СИЛИКАГЕЛЯ, СОДЕРЖАЩЕГО
НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА ИЛИ СЕРЕБРА,
НА СТЕПЕНЬ ДИСБИОЗА ДЕСНЫ КРЫС
ПОСЛЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ
ЛИПОПОЛИСАХАРИДА**

Апликации на десну липополисахарида вызывают развитие в десне дисбиоза, который определяли ферментативным методом Левицкого. Предварительные аппликации на десну гелей, содержащих лизоцим (лизоцим + овомукоид) и силикагели с наночастицами золота или серебра, существенно снижают степень дисбиоза, особенно наночастицы золота.

Ключевые слова: десна, липополисахарид, дисбиоз, наночастицы, лизоцим, гели.

А. В. Борисенко, О. Б. Ткач, А. П. Левицкий

Київський національний медичний університет
ім. Богомольця

Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

**ВПЛИВ ОРАЛЬНИХ АПЛІКАЦІЙ
СИЛІКАГЕЛЮ, ЯКИЙ МІСТИТЬ
НАНОЧАСТИНКИ ЗОЛОТА АБО СРІБЛА,
НА СТУПІНЬ ДИСБІОЗУ ЯСЕН ЩУРІВ ПІСЛЯ
ДІЇ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ**

Аплікації на ясна ліпополісахариду викликають розвиток в яснах дисбіозу, який визначали ферментативним методом Левицького. Попередні аплікації на ясна гелів, які містять лізоцим (лізоцим + овомукоїд) і сілікагелі з наночастинами золота або срібла, суттєво знижують ступінь дисбіозу, особливо наночастинок золота.

Ключові слова: ясна, ліпополісахарид, дисбіоз, наночастинки, лізоцим, гелі.

A. V. Borisenko, O. B. Tkach, A. P. Levitskiy

Kyiv National Medical University named after Bogomolets
State Establishment “The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”

**THE INFLUENCE OF ORAL APPLICATIONS
OF SILICAGEL, CONTAINING NANOPARTICLES
OF GOLD AND SILVER, ON THE DEGREE
OF DYSBIOSIS OF GUMS OF RATS AFTER
THE AFFECTION OF LIPOPOLYSACCHARIDE**

ABSTRACT

Lipopolysaccharide (LPS) is a toxin, formed by pathogenous microbes at periodontium; it determines the development of inflammatory-dystrophic processes in periodontium. The complex gels on the basis of silica gel, containing nanoparticles of gold

(Au) or silver (Ag), the presence of which on the surface of sorbent provides with the antimicrobial effect, were elaborated by the scientists from Kyiv National University. The aim of this investigation is to study the antidybiotic influence on periodontium after the affection with LPS mucosal gels, containing nanoparticles of gold or silver on silica gel sorbent.

The mucosal gels were prepared by mixing of 1g of silica gel with Au or Ag with 5 ml of the preparation Lysomucoid (LM), containing lysozyme and ovomucoid, and 95 g of 3%-gel KMC, sodium acid. The experiments were held on 42 white rats of Vistar line. Dysbiosis was caused with the application of 0.5 ml of gel, containing LPS from Salmonella typhi dosed at 75 mcg/kg of live weight on gum for 24 hours. 2 days before this the gels, containing nanoparticles of Au or Ag, dosed at 0.5 ml per rat, were applied on gum. The rats were divided into 7 equal groups. Group 1 (application of the gel with LPS) is the control № 1. Group 3 (gel with LM and LPS) is the control № 2. The rats were amortized on the 4th day of the experiment. The activity of urease and lysozyme were determined in homogenate of gum. The degree of dysbiosis was calculated with the method by Levitskiy. The applications of the gel with LPS on gum cause more than triple growth of urease activity. The preliminary applications of gel with LM on gum really reduce activity of urease, which decrease even more at the combination of LM with silica gels, containing nanoparticles of Au or Ag. The combination with silica gel, containing Au (5nm, 400 mcg/g), turned out the most effective. At the influence of LPS the activity of lysozyme reduces. The applications of gel with LM increase activity of lysozyme a little, and the combination of LM with silica gels, containing Au and Ag, increase the activity even more, especially, the silica gel, containing nanoparticles of Au (5 nm, 500 mcg/g). At the influence of LPS the degree of dysbiosis grows almost by 5 times due to the growth of microbe insemination and the considerable decrease in lysozyme activity. The applications of gel with LM really reduce this index, but the applications of gel, containing in addition to LM the nanoparticles of Au or Ag, reduce it even more, at that the gels with nanoparticles of Au do it more effectively.

The investigations, held by the authors, confirmed the antidybiotic effect of the preparation Lysomucoid, considerably intensified by the combination of LM with nanoparticles of Au or Ag. It is possible to suppose, that the use of the preparations, containing nanoparticles of Au or Ag, as antidybiotic ones can be rather effective in the prevention and treatment of periodontitis.

Key words: gum, lipopolysaccharide, dysbiosis, nanoparticles, lysomucoid, gels.

Липополисахарид (ЛПС), или кишечный эндотоксин, образуемый Грам-отрицательными бактериями, является важнейшим токсином, образуемым пародонтопатогенными микробами и определяющим в значительной степени развитие воспалительно-дистрофических процессов в пародонте [1, 2]. Для снижения патогенного действия ЛПС используют многие средства, в том числе, и сорбенты [3].

На кафедре неорганической химии химического факультета Киевского национального университета разработаны комплексные гели на основе силикагеля, содержащие наночастицы золота (Au) либо серебра (Ag). Наличие таких металлов на поверхности сорбента оказывает антимикробное действие [4, 5].

Цель настоящего исследования. Изучение антидисбиотического действия на пародонт после воздействия липополисахаридом мукозальных гелей, содержащих наночастицы золота или серебра на силикагелевом сорбенте.

Материалы и методы исследования. Образцы силикагелей, содержащих наночастицы золота (Au) или серебра (Ag), были представлены кафедрой неорганической химии КНУ им. Т. Г. Шевченко. Мукозальные гели готовили путем смешивания 1 г силикагеля с Au или Ag с 5 мл препарата Лизомукоид, содержащего 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.

Опыты были проведены на 42 белых крысах линии Вистар (самцы, 4 месяца, средняя живая масса 180±10 г). Дисбиоз вызывали у крыс путем аппликации на десну 0,5 мл геля, содержащего ЛПС из *Salmonella typhi* (препарат «Пирогенал» производства «Медгамал», Россия) в дозе 75 мкг/кг живой массы на срок 24 часа. За 2 дня до этого на десну наносили гели, содержащие наночастицы Au или Ag, в количестве 0,5 мл на крысу.

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 гель с Лизомукоидом (ЛМ) и ЛПС, служила контролем № 2.

Крыс умерщвляли на 4-й день опыта (3 суток аппликаций мукозальных гелей и 1 сутки действия ЛПС) под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Иссекали десну, в гомогенате которой определяли активность уреазы (маркер микробного обсеменения) [6] и лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [6]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по А.П. Левицкому [7].

Результаты и их обсуждение. В таблице представлены результаты определения в десне активности уреазы и лизоцима. Как видно из этих данных, аппликации на десну геля с ЛПС вызывают более, чем 3-кратное увеличение активности уреазы, что свидетельствует о значительном росте микробной обсемененности десны. Предварительные аппликации на десну геля с Лизомукоидом достоверно снижают активность уреазы, которая еще больше понижается при сочетании Лизомукоида с силикагелями, содержащими наночастицы золота или серебра, причем наиболее эффективным выявилось сочетание с силикагелем, содержащим Au (5 мкм, 400 мкг/г).

При действии ЛПС активность лизоцима, напротив, снижается, что свидетельствует об ослаблении неспецифического иммунитета [7]. Аппликации геля с ЛМ несколько повышают активность лизоцима, а сочетание ЛМ с силикагелями, содержащими Au или Ag, повышает активность еще больше, особенно, силикагель, содержащий наночастицы золота (5 нм, 500 мкг/г).

Рассчитанные по этим данным показатели степени дисбиоза ткани десны представлены на рисунке. Из этих данных видно, что при действии ЛПС степень дисбиоза возрастает почти в 5 раз как за счет роста

микробной обсемененности, так и за счет существенного снижения активности лизоцима.

Таблица

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

Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1. Норма	0,72±0,10	310±48
2. ЛПС – контроль 1	2,35±0,13 p<0,001	209±20 p<0,05
3. ЛПС+Лизомукоид (ЛМ) – контроль 2	1,54±0,08 p<0,001 p ₁ <0,01	227±37 p>0,05 p ₁ >0,3
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	1,45±0,10 p<0,001 p ₁ <0,001 p ₂ >0,3	279±17 p>0,3 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	1,29±0,08 p<0,01 p ₁ <0,01 p ₂ <0,05	248±28 p>0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,3
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	1,35±0,11 p<0,01 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	233±26 p>0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,5
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	1,38±0,09 p<0,01 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05	248±22 p>0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,4

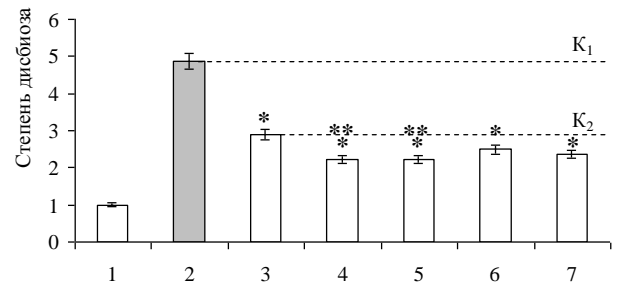


Рис. Влияние гелей с Au и Ag на степень дисбиоза десны крыс после воздействия ЛПС

Аппликации геля с ЛМ достоверно снижают этот показатель, но еще больше его снижают аппликации гелей, содержащих дополнительно к ЛМ наночастицы золота или серебра, причем более эффективными выявились гели с наночастицами золота.

Таким образом, проведенные нами исследования подтвердили антидисбиотическое действие препарата Лизомукоида [8], которое существенно усиливается сочетанием ЛМ с наночастицами Au и Ag.

Учитывая, что оральная дисбиоз является патогенетической основой развития воспалительно-дистрофических заболеваний пародонта [9], можно полагать, что применение в качестве антидисбиотических средств препаратов, содержащих наночастицы золота или серебра, может оказаться весьма эффективным в профилактике и лечении пародонтитов.

Список литературы

1. **Lipopolysaccharides** of *Bacteroides intermedius* (*Prerotella intermedia*) and *Bacteroides* (*Porphyromonas*) *gingivalis* induce interleukine-8 gene expression in human gingival fibroblast culture / V. Tamura, M. Tocado, S. Nagaoka [et al.] // *Infect. immunal.* – 1992. – v. 60, N 11. – P. 4932-4937.
2. **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.
3. **Кукурудз Н. І.** Клініко-мікробіологічна ефективність застосування композиції амізон-етоній, імобілізованої на кремнеземі «Силлард-П», у лікуванні генералізованого пародонтиту / Н. І. Кукурудз, Р. В. Куцик, В. І. Герелюк // *Ліки.* – 2006. – № 3-4. – С. 93-102.
4. **Борисенко А. В.** Мікробіологічне обґрунтування застосування наночасток 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.
5. **Борисенко А. В.** Изучение влияния препаратов наночастиц золота на условно патогенную микрофлору корневого канала / А. В. Борисенко, О. Б. Ткач, О. М. Волощук // *Соврем. стоматология.* – 2013. – № 1 (65). – С. 11.
6. **Ферментативний** 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.
7. **Патент** на корисну модель № 43140, МПК (2009) G01N 33/48 Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Денга О. В., Селіванська І. О. [та ін.] – № u200815092; заявл. 26.12.2008; опубл. 10.08.2009. Бюл. № 15.
8. **Левицький А. П.** Лизосим вместо антибиотиков / А. П. Левицький. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
9. **Дисбиотические** аспекты патогенеза, профилактики и лечения стоматологических заболеваний / А. П. Левицький, А. К. Николішин, Е. П. Ступак [и др.] // *Проблеми екології та медицини.* – 2011. – т. 15, № 3-4 (додаток 1). – С. 103.

REFERENCES

1. **Tamura V., Tocado M., Nagaoka S. [et al.]**. Lipopolysaccharides of *Bacteroides intermedius* (*Prerotella intermedia*) and *Bacteroides* (*Porphyromonas*) *gingivalis* induce interleukine-8 gene expression in human gingival fibroblast culture. *Infect. immunal.* 1992;60 (11): 4932-4937.
2. **Levitskiy A. P., Demyanenko S. O., Makarenko O. A. [ta in.]**. The anti-inflammatory effect of lipopolysaccharide upon oral mucous membrane of rats. *Odeskiy medychnyy zhurnal.* 2010; 2 (118): 9-11.
3. **Kukurudz N.I., Kutsyk R.V., Gerelyuk V.I.** The clinico-microbiological effectiveness of the use of the composition amizon-ethonium, immobilized on silica “Sillard-P”, in the treatment of generalized periodontitis. *Liky.* 2006; 3-4: 93-102.
4. **Borisenko A.V., Tkach O.B., Voloshchuk O.M.** The clinico-microbiological effectiveness of the use of the composition amizon-ethonium, immobilized on silica “Sillard-P”, in the treatment of generalized periodontitis. *Nauk. visnyk nats. med. un-tu im. O.O. Bogomoltsya.* 2012; 1-2 (36-37): 21-26.
5. **Borisenko A.V., Tkach O.B., Voloshchuk O.M.** The study of the influence of the preparations of nanoparticles of gold on the conditionally pathogenous microflora of root canal. *Sovrem. stomatologiya.* 2013; 1 (65): 11.
6. **Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [i dr.]** 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: 26.
7. **Levitskiy A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. [i dr.]**. 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.
8. **Levitskiy A. P.** Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005:74.
9. **Levitskiy A. P., Nikolishyn E. P., Stupak E. P.** The dysbiotic aspects of pathogenesis, prevention and treatment of dental diseases. *Problemy ekologii ta meditsiny.* 2011; 15 (3-4):103.

Поступила 31.07.13

УДК 616.31-092:612.017.11-078-73

**Т. В. Томилина, к. мед. н., О. А. Макаренко, д. биол. н.,
И. А. Селиванская, к. тех. н.,
Л. Н. Хромагина, к. биол. н., О. Э. Кнава**

Государственное учреждение «Харьковский национальный
медицинский университет»

Государственное учреждение «Институт стоматологии
национальной академии медицинских наук Украины»

АНТИДИСБИОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ КВЕРТУЛИНА НА ДЕСНУ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ

*При иммунодефиците, вызываемом с помощью циклофосфана, наблюдалось развитие дисбиоза в десне, которое значительно снижалось при пероральном введении Квертулина (кверцетин+инулин+цитрат кальция) в дозе 150 мг/кг.
Ключевые слова: иммунодефицит, дисбиоз, десна, Квертулин.*

**Т. В. Томіліна, О. А. Макаренко, І. О. Селіванська,
Л. М. Хромагіна, О. Е. Кнава**

Державна установа «Харківський національний медичний
університет»

Державна установа «Інститут стоматології НАМН»

АНТИДИСБИОТИЧНА ДІЯ КВЕРТУЛІНА НА ЯСНА ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ

*У щурів з імунодефіцитом, який викликали за допомогою циклофосфану, спостерігали розвиток дисбіозу в яснах. Пероральне введення Квертуліну (кверцетин+инулін+цитрат кальцію) в дозі 150 мг/кг значно знижувало ступінь дисбіозу.
Ключові слова: імунодефіцит, дисбіоз, ясна, Квертулін.*

**T. V. Tomilina, O. A. Makarenko, I. A. Selivanskaya,
L. N. Khromagina, O. E. Knava**

State Establishment “Kharkov National Medical University”
State Establishment “The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”

THE ANTIDYSBIOTIC EFFECT OF QUERTHULIN UPON GUM OF RATS WITH EXPERIMENTAL IMMUNODEFICIENCY

ABSTRACT

Prebiotics and hepatoprotectors are known among the most effective antidysbiotic preparations. The aim of this investigation was to study the antidysbiotic effect of the preparation “Querthulin”, into the composition of which the prebiotic inulin and hepatoprotector quercethin as well as calcium citrate enter. The experiments were held with 18 white rats of Vistar line. In 12 of them the experimental immunodeficiency (ID) was restored by two intraperitoneal introductions (with two days interval) of cyclophosphan dosed at 45 mg/kg per injection. Six of these very rats were given 150 mg/kg “Querthulin” each with the feed. Leukocytosis, conditioned mainly by the growth of the contents of neutrophils, was observed in 14 days after cyclophosphan introduction. The contents of lymphocytes, on the contrary, reduce. The increase in the contents of leukocytes mostly at the expense of lymphocytes is found in the group of rats with ID, given “Querthulin”. At ID the activity of urease, speaking of the growth of microbe insemination, is increasing

© Томилина Т. В., Макаренко О. А., Хромагина Л. Н.,
Кнава О. Э., 2013.