

УДК 616.314.17.001.57+(612.751.3:599.323.4)

**А. В. Николаева, к. мед. н., С. А. Шнайдер, д. мед. н.,
Е. К. Ткаченко, к. б. н.**

Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»

РАЗРАБОТКА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ПАРОДОНТИТА С ПОМОЩЬЮ ГИАЛУРОНИДАЗЫ

В опытах на 19 крысах-самцах 1-мес. возраста моделировали экспериментальный пародонтит с помощью поддесневого введения лидазы (гиалуронидазы). Моделирование пародонтита вызвало деградацию важнейших компонентов межклеточного матрикса пародонта – его основного вещества и белковых структур. Разрушение основного вещества привело к частичной деградации гелевой основы – гликозаминогликанов, что в свою очередь, вызвало разрушение коллагена десны, в большей степени – костной ткани пародонта.

Ключевые слова: гиалуронидаза, модель пародонтита, гликозаминогликаны, коллаген, оксипролин, ткани пародонта.

Г. В. Николаєва, С. А. Шнайдер, Є. К. Ткаченко

Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

РОЗРОБКА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ МОДЕЛІ ПАРОДОНТИТУ З ВИКОРИСТАННЯМ ГІАЛУРОНІДАЗИ

В дослідях на 19 самцях щурів 1-міс. віку моделювали експериментальний пародонтит за допомогою використання під'ясневого введення лідази (гіалуронідази). Моделювання пародонтиту викликало деградацію компонентів сполучної тканини пародонту – її основної речовини та білкових структур. Руїнування основної речовини призвело до часткової деградації його гелевої основи – глікозаміногліканів, що, в свою чергу, викликало порушення колагену ясен, в більшому ступені – кісткової тканини пародонту.

Ключевые слова: гіалуронідаза, модель пародонтиту, глікозаміноглікани, колаген, оксипролін, тканини пародонту.

A. V. Nikolaeva, S. A. Shnaider, E. K. Tkachenko

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

THE ELABORATION OF THE EXPERIMENTAL SIMULATION OF PERIODONTITIS WITH HYALURONIDASE

ABSTRACT

The aim of the investigation is the simulation of the experimental periodontitis in rats with subgingival introduction of lidase (hyaluronidase), and the study of its influence on the state of metabolism of intracellular matrix of gum and periodontal hard tissues.

The materials and the methods. 25 he-rats of 1 month old were used in the experiment. 10 animals made intact group, 15 ones – the group with simulated periodontitis. The periodontal pathology was simulated with subgingival introduction of lidase solution dosed at 6.4 UA by 0.1 ml in four areas of jaws four times during the experiment. The duration of the experiment made 55 days. The state of the conjunctive tissue of rats was estimated by biochemical indices.

The conclusions. The simulation of periodontitis caused the

degradation of the most important components of intracellular matrix of periodontium – its main substance and protein structures. The destruction of the main substance resulted in the partial degradation of gel basis – glycosaminoglycans, which in its turn, caused the destruction of gingival collagen, in greater degree – periodontal osseous tissue.

Key words: hyaluronidase, simulation of periodontitis, glycosaminoglycans, collagen, oxiprolin, periodontal tissues.

Межклеточное вещество или межклеточный матрикс (МКМ) соединительной ткани (СТ) представлен аморфным компонентом (основным веществом), в которое заключены клетки и волокна (коллагеновые, ретикулярные, эластические). Основное вещество или гель формируется гликозаминогликанами (ГАГ), которые, являясь «опорными» структурами, могут образовывать комплексы с другими молекулами, способны задерживать и освобождать различные вещества. Гиалуроновая кислота (ГК) является «цементирующим» веществом СТ. Гиалуронидаза – гликозидаза, которая разрушает 1,4-гликозидную связь в молекуле гиалуроновой кислоты до гликозамина и глюкуроновой кислоты. При этом резко повышается проницаемость СТ с утратой ею барьерных свойств.

Лидаза – препарат, содержащий фермент гиалуронидазу.

Баланс между деградацией и синтезом МКМ соединительной ткани определяет состояние тканей пародонта при пародонтите. ГАГ обеспечивает защиту тканей пародонта от действия бактериальных и токсических агентов.

Цель настоящего исследования. Моделирование экспериментального пародонтита у крыс с помощью поддесневого введения лидазы (гиалуронидазы), изучение ее влияния на состояние метаболизма МКМ десны и твердых тканей пародонта.

Материалы и методы. В эксперименте использовали 19 крыс-самцов 1-мес. возраста. Интактную группу составили 5 особей (I группа). Во 2-ой группе у 7 крыс моделировали патологию пародонта введением под десну раствора лидазы (Lydasum-Biopharma, ПрАТ «Биофарма», Киев, Украина) в дозе 6,4 ЕД по 0,1 мл в четырех участках челюстей четыре раза в продолжении эксперимента. Длительность проведения опытов составила 55 дней.

Крыс выводили из опытов путем тотального кровопускания из сердца (тиопентал натрия в дозе 40 мг/кг). Предварительно отделив десну, вычленили челюсти, выделяли печень. Выделенные челюсти крыс подвергали морфометрическому исследованию [1].

Объектами биохимических исследований служили сыворотка крови, надосадочная жидкость гомогенатов десны (25 мг/мл), печени и кости альвеолярного отростка (50 мг/мл). Надосадочную жидкость получали путем центрифугирования в центрифуге РС-6 в течение 15 минут при 3000 об/мин при температуре +4°C.

Состояние соединительной ткани крыс оценивали по содержанию сиаловых кислот в сыворотке крови с помощью набора (ЭкоСервис, Россия – сер. 0910), состояние коллагена – по содержанию окси-

пролина (связанного, свободного и общего) [2], гликозаминогликанов (ГАГ) в тканях пародонта [3]. Используя коммерческие наборы реактивов, определяли: активность щелочной фосфатазы (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 44/100); активность кислой фосфатазы (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 20/45); содержание кальция (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 36/200); содержание фосфора (DAC-Spectro-Med, Молдова – сер. 22/200); содержание магния (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. 29/100); содержание цинка (DAC-SpectroMed, Молдова – сер. ZFO111L/50).

Уровень процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в тканях маловольного диальдегида (МДА) тиобарбитуровым методом [4]. Состояние физиологической антиоксидантной системы (ФАС) оценивали по активности глутатион-пероксидазы (ГПО) [5] и каталазы [6].

Результаты экспериментов обрабатывали статистически с использованием t-критерия достоверности по Стьюденту.

Результаты исследований. При поддесневом введении лидазы (гиалуронидазы) существенно увеличивалась степень резорбции кости альвеолярного

отростка нижней и верхней челюстей крыс. Так, усиление резорбции на нижней челюсти составило 18 % ($p=0,03$): $38,8 \pm 1,7$ % против $32,8 \pm 1,6$ % в интактной группе (100 %); на верхней челюсти – 19 % ($p=0,04$): $26,7 \pm 1,6$ % против $22,4 \pm 0,8$ % в интактной группе.

Действие лидазы проявилось снижением содержания гликозаминогликанов: на 27 % ($p=0,09$) в десне: $2,79 \pm 0,51$ мг/г по сравнению с интактной группой: $3,81 \pm 0,23$ мг/г; в кости альвеолярного отростка достоверного изменения уровня ГАГ выявлено не было: $2,50 \pm 0,07$ мг/г по сравнению с интактной группой – $2,20 \pm 0,12$ мг/г.

Влияние лидазы отразилось на состоянии коллагена, определяемого по содержанию свободного, связанного и общего оксипролина. Так, в десне содержание связанного оксипролина снижалось на 41 % ($p<0,001$). Концентрация общего оксипролина в результате поддесневого введения лидазы снижалась на 19 % ($p=0,003$, табл. 1). В костной ткани пародонта моделирование пародонтита вызвало двукратное снижение уровня свободного ($p<0,001$), связанного ($p=0,016$) и общего оксипролина ($p=0,005$; табл. 1).

Таблица 1

Содержание оксипролина в тканях пародонта крыс под действием лидазы ($M \pm m$; p)

Группы животных	Содержание оксипролина (мкмоль/г)		
	свободный	связанный	общий
десна			
Интактная	$3,18 \pm 0,21$	$7,76 \pm 0,00$	$11,3 \pm 0,00$
Модель (лидаза)	$4,59 \pm 0,21$ $p=0,005$	$4,59 \pm 0,21$ $p<0,001$	$9,18 \pm 0,41$ $p=0,003$
кость альвеолярного отростка			
Интактная	$0,71 \pm 0,10$	$1,41 \pm 0,00$	$2,12 \pm 0,10$
Модель (лидаза)	$0,35 \pm 0,00$ $p<0,001$	$0,71 \pm 0,21$ $p=0,016$	$1,06 \pm 0,20$ $p=0,005$

Примечание. в табл. 1 – 4 показатель достоверности p рассчитан относительно интактной группы.

При поддесневом введении лидазы содержание силовых кислот в сыворотке крови экспериментальных животных увеличивалось на 11 % ($p=0,10$): $4,24 \pm 0,20$ ммоль/л по сравнению с интактной группой: $3,83 \pm 0,13$ ммоль/л. Полученные результаты свидетельствуют, с одной стороны, об усилении воспалительных явлений в тканях и, с другой – о частичном распаде под действием нейраминидазы гликопротеинов межклеточного матрикса СТ.

Активность провоспалительного фермента кислой фосфатазы в десне увеличивалась при моделировании пародонтита в 3,3 раза ($p=0,04$): $5,00 \pm 1,32$ мкмоль/сг против $1,50 \pm 0,00$ мкмоль/сг в интактной группе.

Косвенно об усилении воспалительных явлений в кости альвеолярного отростка, а также в печени крыс говорит увеличение содержания МДА ($p=0,11$ и $0,05$, соответственно) (табл. 2).

Увеличение активности каталазы в печени крыс носило, по-видимому, индуктивный характер в результате усиления в этом объекте исследования перекисных процессов. Активность антиоксидантных ферментов – каталазы и ГПО в кости пародонта суще-

ственно не изменялась (табл. 2).

Известно, что при дефиците Mg^{2+} синтез белков в МКМ соединительной ткани замедляется, а активность гиалуронидазы возрастает. При моделировании пародонтита концентрация Mg^{2+} в десне крыс снижалась на 33 % ($p=0,003$); в кости альвеолярного отростка – на 31 % ($p=0,007$; табл. 3).

Концентрация Zn^{2+} в десне снижалась на 28 % ($p=0,005$) по сравнению с интактной группой. В кости пародонта достоверного изменения концентрации Zn^{2+} под действием лидазы выявлено не было (табл. 3).

Введение лидазы (гиалуронидазы) существенно нарушало минеральный обмен в костной ткани пародонта (табл. 4). Так, активность щелочной фосфатазы снижалась в 2,6 раза ($p=0,003$); уровень Ca^{2+} – на 30 % ($p=0,05$; табл. 4).

Выводы. С помощью поддесневого введения лидазы (гиалуронидазы) была воспроизведена экспериментальная модель пародонтита, вызвавшая деградацию важнейших компонентов соединительной ткани пародонта – её основного вещества и белковых структур.

Таблица 2

Содержание МДА и активность антиоксидантных ферментов в тканях крыс под действием лидазы (M±m; p)

Показатели	Группы животных	
	Интактная	Модель (лидаза)
печень		
МДА (нмоль/г)	2,80±0,31	4,19±0,52 p=0,05
каталаза (мкат/г)	98,2±3,56	118±3,63 p=0,005
ГПО (мкмоль/сг)	59,5±4,84	75,1±9,57
десна		
МДА (нмоль/г)	19,9±1,64	18,7±1,54
каталаза (мкат/г)	28,3±4,52	30,5±2,53
ГПО (мкмоль/сг)	99,9±4,54	155±13,2 p=0,004
кость альвеолярного отростка		
МДА (нмоль/г)	0,48±0,015	0,78±0,18 p=0,11
каталаза (мкат/г)	13,0±2,04	13,4±2,04
ГПО (мкмоль/сг)	78,6±6,04	85,5±21,4

Таблица 3

Содержание Mg²⁺ и Zn²⁺ в тканях пародонта крыс под действием лидазы (M±m; p)

Группы животных	Содержание	
	Mg ²⁺ (ммоль/г)	Zn ²⁺ (мкмоль/г)
десна		
Интактная	0,024±0,00076	6,22±0,34
Модель (лидаза)	0,016±0,00019 p=0,003	4,49±0,074 p=0,005
кость альвеолярного отростка		
Интактная	0,16±0,0095	1,44±0,065
Модель (лидаза)	0,11±0,0048 p=0,007	1,85±0,43

Таблица 4

Состояние минерального обмена в кости альвеолярного отростка крыс под действием лидазы (M±m; p)

Группы животных	Активность ЩФ (нмоль/сг)	Содержание	
		Са (ммоль/г)	Р (ммоль/г)
Интактная	0,45±0,026	0,022±0,0020	0,016±0,00076
Модель (лидаза)	0,17±0,044 p=0,003	0,017±0,0014 p=0,05	0,017±0,0033

Разрушение основного вещества межклеточного матрикса соединительной ткани под действием гиалуронидазы привело к частичной деградации его гелевой основы – гликозаминогликанов, что в свою очередь, вызвало разрушение коллагена десны, в большей степени – костной ткани пародонта.

При снижении содержания ионов Mg²⁺ и Zn²⁺ в тканях пародонта происходила активация гиалуронидаз, нарушение функционирования межклеточного матрикса соединительной ткани пародонта. В кости

альвеолярного отростка происходило нарушение минерального обмена, усиливалась резорбция его структур.

Список литературы

1. Николаева А. В. Экспериментальные дистрофии тканей пародонта / А. В. Николаева, Е. С. Розовская – БЭБИМ. – 1965. – т. 60, № 7. – С. 46-49.
2. Шараев П. Н. Метод определения свободного и связанного оксипролина в сыворотке крови. / П. Н. Шараев. // Лабораторное дело. – 1981. – 5. – С. 283-285.
3. Метод определения гликозаминогликанов в биологическом материале.

ких жидкостях. / П. Н. Шараев, В. Н. Пишков, Н. И. Соловьева [и др.] // Лабораторное дело. – 1987. – 5. – С. 330-332.

4. **Стальная И. Д.** Метод определения малонового диальдегида с помощью определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. В. Гаришвили // Современные методы биохимии / [Под ред. В.Н. Ореховича]. – Москва.: Медицина. – 1977. – С. 66-68.

5. **Патент А.С.922637 СССР.** МКИ 01 33/48. Способ определения активности глутатион-пероксидазы в биологических тканях / В. А. Пахомова, Н. П. Козлянина, Г. Н. Крюкова. – Опубл. 25.04.82, Бюл. №15.

6. **Метод** определения активности каталазы / М. А. Королук, Д. И. Иванова, И. Г. Майорова [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.

REFERENCES

1. **Nikolaeva A. V.** Experimental dystrophy of periodontal tissues. *BEVIM.* 1965; 60 (7): 46-49.

2. **Sharaev P. N.** Method of estimation of free and combined oxypurine in blood. *Laboratornoe delo.* 1981; 5:283-285.

3. **Sharaev P. N., Pishkov V. N., Solov'eva N. I.** The method of concentration estimation of glycosaminoglycans in biological liquids. *Laboratornoe delo.* 1987; 5:330-332.

4. **Stal'naya I. D., Garishvili T. V.** Metod opredeleniya malonovogo dialdegida s pomoschu tiobarbiturovoj kisloty [Method of estimation of malonic dialdehyde using thiobarbituric acid]. *Moskva. Meditsina.* 1977; 66-68.

5. **Pahomova V. A., Kozlyatina N. P., Krjukova G. N.** Sposob opredeleniya aktivnosti glutation-peroksidazy v biologicheskikh tkaniakh [Method of estimation of glutathione peroxidase in biological tissues]. *USSR. Patent USSR № A.S.922637;* 1982; 15.

6. **Korolyuk M. A., Ivanova D. I., Majorova I. G., Tokarev V. E.** The method of estimation of catalase activity. *Laboratornoe delo.* 1988; 1: 16-18.

Поступила 27.10.14



УДК: 616.314-002-06:616.316-008.8:616.839-008]-084:582.936.2

**Ю. Г. Романова, д. мед. н., И. В. Лучак, к. мед. н.,
О. В. Гончаренко, к. мед. н.,
О. Н. Давиденко, к. мед. н.**

Одесский национальный медицинский университет

ВЛИЯНИЕ ОТВАРА ЗОЛОТОТЫСЯЧНИКА НА САЛИВАЦИЮ И РАЗВИТИЕ КАРИЕСА У КРЫС

При проведении экспериментальных исследований было установлено, что применение золототысячника у крыс, которым воспроизводили модель гипосаливации, приводит к увеличению скорости слюновыделения. В группе крыс, где золототысячник применяли в виде полосканий, наблюдалось наиболее достоверное увеличение скорости саливации (близкое к показателям интактных животных) и наименьшие показатели распространенности и интенсивности кариеса зубов.

Ключевые слова: эксперимент, слюновыделение, лекарственное растение золототысячник, профилактика кариеса.

**Ю. Г. Романова, И. В. Лучак, О. В. Гончаренко,
О. М. Давиденко**

Одесский национальный медицинский университет

ВПЛИВ ВІДВАРУ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА НА САЛІВАЦІЮ ТА РОЗВИТОК КАРІЕСУ У ЩУРІВ

При проведенні експериментальних досліджень було встановлено, що застосування золототисячника у щурів, яким відтворювали модель гипосаливації, призводить до збільшення швидкості слиновиділення. У групі щурів, де золототисячник застосовували у вигляді полоскань, спостерігалося найбільш достовірне збільшення саливації (близьке до показників інтактних тварин) і найменші показники поширеності та інтенсивності карієсу зубів.

Ключові слова: експеримент, слиновиділення, лікарська рослина Золототисячник, профілактика карієсу.

**J. G. Romanova, I. V. Luchak, O. V. Goncharenko,
O. N. Davidenko**

Odessa National Medical University

INFLUENCE OF DECOCTION OF CENTAURY ON A SIALOSIS AND DEVELOPMENT OF CARIES FOR RATS

ABSTRACT

It was set during realization of experimental researches, that over application of centaury for rats the model of hyposalivation was reproduced that brings to the increase of salivation's speed. In the group of rats, where a centaury was applied as rinses, there were the most reliable increase of sialosis (near to the indexes of intact animals) and the least indexes of prevalence and intensity of tooth decay.

The applications of Centaury tincture on the OMM gives the fast penetration of active components through regional and central blood flow to salivary glands.

The aim of the work is the study of the influence of herb Centaury upon the functional activity of salivary glands.

The materials and the methods of the investigation. 40 white rats were used in the experiment; they were divided into 4 groups, by 10 ones in each.

The findings and their discussion. The conclusion, drawn on the basis of the studies, proves that Centaury herb influences salivary glands, stimulating parasympathetic nervous system, the mediator of which is acetylcholine. This phenomenon results in growth of salivary glands activity with thinner and more ample salivation.

Key words: experiment, salivation, medicinal plant centaury, prevention of dental caries.

Актуальность темы. Деятельность слюнных желез регулируется вегетативной нервной системой: симпатической и парасимпатической. Медиатором симпатической нервной системы является норадреналин, а парасимпатической – ацетилхолин. Активация симпатической нервной системы подавляет генерацию слюны (в основном водной части). При этом слюны выделяется очень мало и она вязкая. Активация парасимпатической НС повышает активность слюнных желез с образованием более жидкой обильной слюны [1, 2].

Была выбрана адекватная модель снижения слюноотделения, связанная с разбалансированием