

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.731-07.23.008+612.045.11

**О. А. Макаренко¹, д. биол. н., А. В. Скиба¹, к. мед. н.,
Е. П. Ступак², к. мед. н.,**

¹Государственное учреждение «Институт стоматологии
Национальной академии медицинских наук Украины»

²Высшее государственное учебное учреждение Украины
«Украинская медицинская стоматологическая академия» МЗ Украины

**МУКОЗОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ
АНТИГИАУЛОРНИДАЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА**

В эксперименте на крысах, которым моделировали сахарный диабет 2 типа, проведена коррекция выявленных нарушений с помощью антигиалуронидазных препаратов. Показано, что используемые препараты оказывают противовоспалительное действие и снижают проницаемость слизистой оболочки для микрофлоры и токсинов, что указывает на ведущую роль дисбиотического фактора в патогенезе стоматологических осложнений при сахарном диабете.

Ключевые слова: диабет, слизистая оболочка щеки и языка, антиоксиданты

О. А. Макаренко¹, О. В. Скиба¹, О. П. Ступак²

¹Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

²Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія» МОЗ України

**МУКОЗОПРОТЕКТОРНА ДІЯ
АНТИГІАУЛОРНІДАЗНИХ ПРЕПАРАТІВ
ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТІ 2 ТИПУ**

В експерименті на щурах, котрим моделювали цукровий діабет 2 типу, проведена корекція встановлених порушень за допомогою антигіалуронідазних препаратів. Показано, що використані препарати роблять протизапальну дію і знижують проникність слизової оболонки для мікрофлори і токсинів, що вказує на провідну роль дисбіотичного фактору в патогенезі стоматологічних ускладнень при цукровому діабеті.

Ключові слова: діабет, слизова оболонка щоки і і язика, антиоксиданти

O. A. Makarenko¹, A. V. Skyba¹, E. P. Stupak²

¹State Establishment “The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”

²Higher State Educational Institution of Ukraine
“Ukrainian Medical Stomatological Academy” MH of Ukraine

**THE MUCOUSPROTECTIVE EFFECTS
OF ANTIHYALURONIDASE PREPARATIONS
IN EXPERIMENTAL II TYPE DIABETES**

The held investigations have shown that at II type DM the inflammatory-dystrophic processes develop in oral mucous membrane; the growth of the level of inflammatory biochemical markers (elastase and MDA) speaks of it.

One of the reasons of the development of the inflammation in oral mucous membrane at diabetes can be the misbalance in antioxidant-prooxidant systems for benefit of the last. However, that is not the only reason of the development of the inflammation in oral mucosa. The fact, that antihyaluronidase preparations have anti-inflammatory effect and reduce the permeability of the mucous membrane for the toxins microflora, points at the leading role of dysbiotic factor in the pathogenesis of the stomatological complications of diabetes mellitus.

The aim of the given investigation is the comparative study of the influence of different preparations of prebiotics upon the level of inflammatory reaction and the state of antioxidant system in mucous membrane of oral cavity in rats with the experimental II type diabetes mellitus.

The held investigations have shown that at DM II the inflammatory-dystrophic processes develop in mucous membrane of oral cavity; the growth of the level of biochemical markers of inflammation (elastase and MDA) speak of this phenomenon.

The results of the investigations help to hope that the combination of different prebiotics can be very effective for prevention and treatment of patients with diabetes mellitus.

Key words: *diabetes, mucous membrane of cheek and tongue, antioxidants,*

Известно, что при сахарном диабете развиваются в слизистой оболочке полости рта воспалительно-дистрофические процессы [1-3]. При этом многие авторы отмечают усиление перекисного окисления липидов [4, 5] и снижение уровня антиоксидантной защиты [6, 7].

Вместе с тем, в последние годы получены убедительные данные, свидетельствующие о важной роли дисбиотических явлений в полости рта в развитии воспалительно-дистрофических процессов дисбиотического генеза [8, 9].

Эти данные послужили основанием для использования лечебно-профилактических средств при сахарном диабете [10].

Целью настоящего исследования стало сравнительное изучение действия различных препаратов пребиотиков на уровень воспалительной реакции и состояние антиоксидантной системы в слизистой полости рта крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа.

Материалы и методы исследования. Исследования были проведены на 49 белых крысах линии Вистар (самцы, 5 месяцев, масса 260±10 г). 7 крыс служили контролем (норма), а

у 42 крыс моделировали сахарный диабет 2 типа (СД 2) по методу [11], путем внутримышечного введения протамин сульфата в дозе 4,5 мг/кг 2 раза в день.

Все крысы были распределены в 7 групп по 7 крыс в каждой (табл. 1). Крысы 2-ой группы получали аппликации на слизистую полости рта чистого геля карбоксиметилцеллюлозы (Na-соль) с концентрацией 2,5 % в дозе 0,5 мл на крысу. Крысы 3-й группы получали аппликации геля с лизоцимом (препарат "Afilact" производства фирмы "CHR Hangen", Дания), крысы 4-й группы получали аппликации геля с кверцетином (фарм-препарат, производство фирмы "Merck", Германия, крысы 5-й группы получали аппликации геля с виноградной мукой (сухие измельченные листья винограда сорта "Изабелла", крысы 6-й группы получали с питьевой водой водный экстракт из ягод черники с концентрацией экстрактивных веществ 4,5 % и крысы 7-й группы получали аппликации геля с мукозином (ацетоновый порошок слизистой оболочки тонкой кишки свины).

Таблица 1

Характеристика групп крыс СД 2 типа, получавших лечебно-профилактические препараты (во всех группах n=7)

№ п/п	Группы	Препарат	Доза на 1 крысу
1	Норма (интактные)	--	
2	СД 2 типа + плацебо	гель КМЦ	0,5 мл
3	СД 2 типа + лизоцим	гель + яичный лизоцим	0,5 мл 1 мг
4	СД 2 типа + кверцетин	гель + кверцетин	0,5 мл 1 мг
5	СД 2 типа + виноградная мука	гель + виноградная мука	0,5 мл 10 мг
6	СД 2 типа + водный экстракт из ягод черники	гель + водный экстракт из ягод черники	2 мл
7	СД 2 типа + мукозин	гель + мукозин	0,5 мл 10 мг

Препараты пребиотиков начинали вводить с первого дня опыта в течение двух недель. Умерщвление животных осуществляли на 14-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем

тотального кровопускания из сердца. Иссекали слизистую щеки и языка и готовили из них гомогенаты на 0,05М трис-НСI буфера рН 7,5 с концентрацией 20 и 50 мг/мл соответственно. Для

биохимических исследований использовали надосадочную жидкость после центрифугирования гомогенатов при 2500 g в течение 15 минут при температуре +4°C.

Воспалительную реакцию слизистой оболочки полости рта оценивали по приросту содержания (МДА) [12] и увеличению активности эластазы [13]. Состояние антиоксидантной системы оценивали по активности каталазы [14] и по уровню антиоксидантно-прооксидантного индекса АПИ (соотношение активности каталазы и концентрации МДА [13]).

Результаты исследования и их обсуждение. В табл. 2 представлены результаты определения одного из биохимических маркеров воспаления активности эластазы, источником которой являются, главным образом, лейкоциты [13]. Как видно из представленных данных, активность эластазы достоверно возрастает в слизистой полости рта крыс с СД 2. Все изученные препараты пребиотиков снижают активность эластазы, однако достоверно лишь виноградная мука, водный экстракт из ягод черники и мукозин (да и то лишь в слизистой щеки).

Таблица 2

Влияние лечебно-профилактических препаратов на активность эластазы в слизистой щеки и языка крыс с СД 2 типа

№ п/п	Группы	Активность эластазы, мк-кат/кг	
		щека	язык
1	Норма (интактные)	38 ± 3	53 ± 2
2	СД 2 типа + плацебо	55 ± 4 p < 0,01	62 ± 4 p < 0,05
3	СД 2 типа + лизоцим	48 ± 2 p < 0,05 p ₁ > 0,05	54 ± 4 p > 0,7 p ₁ > 0,1
4	СД 2 типа + кверцетин	46 ± 4 p > 0,05 p ₁ > 0,05	55 ± 4 p > 0,7 p ₁ > 0,1
5	СД 2 типа + виноградная мука	46 ± 2 p < 0,05 p ₁ < 0,05	56 ± 5 p > 0,5 p ₁ > 0,3
6	СД 2 типа + водный экстракт из ягод черники	43 ± 3 p > 0,05 p ₁ < 0,05	55 ± 2 p > 0,3 p ₁ > 0,2
7	СД 2 типа + мукозин	43 ± 3 p > 0,05 p ₁ < 0,05	56 ± 4 p > 0,5 p ₁ > 0,3

Примечание: p - по сравнению с группой № 1; p₁ - по сравнению с группой № 2.

В табл. 3 представлены результаты определения содержания МДА - второго биохимического маркера воспалительной реакции [13]. Как видно из этих данных, при СД 2 достоверно возрастает содержание в слизистой полости рта МДА (p < 0,001). Все испытанные препараты пребиотиков, за исключением лизоцима, достоверно снижают содержание МДА в слизистой полости рта. Эти данные свидетельствуют о том, что в механизме антидисбиотического действия лизоцима действует иной механизм, не связанный с образованием кислородсодержащих бактерицидных соединений. Возможно, в механизме антидисбиотического действия лизоцима задействованы его иммуностимулирующие и прямые антиэндотоксиновые свойства [15].

В табл. 4 представлены результаты определения в слизистой полости рта активности антиоксидантного фермента каталазы. Как видно из этих данных, у крыс с СД 2 типа активность каталазы мало изменяется. Почти не влияют на этот показатель испытанные препараты пребиотиков, за исключением кверцетина, который достоверно увеличивает каталазную активность. Эти данные могут свидетельствовать о том, что биофлавоноиды усиливают систему антиоксидантной защиты как за счет прямого антиоксидантного действия, так и за счет индукции антиоксидантных ферментов.

Таблица 3

**Влияние лечебно-профилактических препаратов на содержание МДА
в слизистой щеки и языка крыс с СД 2 типа**

№ п/п	Группы	Содержание МДА, ммоль/кг	
		щека	язык
1	Норма (интактные)	27,84 ± 0,64	5,28 ± 0,24
2	СД 2 типа + плацебо	37,27 ± 1,26 p < 0,001	9,85 ± 0,33 p < 0,001
3	СД 2 типа + лизоцим	35,74 ± 1,47 p < 0,01 p ₁ > 0,1	9,29 ± 0,19 p < 0,01 p ₁ > 0,05
4	СД 2 типа + кверцетин	29,31 ± 0,74 p > 0,05 p ₁ < 0,01	6,50 ± 0,48 p < 0,05 p ₁ < 0,05
5	СД 2 типа + виноградная мука	30,34 ± 0,61 p < 0,05 p ₁ < 0,1	8,10 ± 0,29 p < 0,001 p ₁ < 0,05
6	СД 2 типа + водный экстракт из ягод черники	31,94 ± 0,64 p < 0,05 p ₁ < 0,01	6,41 ± 0,28 p < 0,05 p ₁ < 0,05
7	СД 2 типа + мукозин	30,98 ± 0,77 p < 0,05 p ₁ < 0,01	7,60 ± 0,29 p < 0,02 p ₁ < 0,05

Примечание: p - по сравнению с группой № 1; p₁ - по сравнению с группой № 2

Таблица 4

**Влияние лечебно-профилактических препаратов
на активность каталазы в слизистой щеки и языка крыс с СД 2 типа**

№ п/п	Группы	Активность каталазы, мкат/кг	
		щека	язык
1	Норма (интактные)	5,06 ± 0,16	4,06 ± 0,11
2	СД 2 типа + плацебо	4,82 ± 0,26 p > 0,05	3,80 ± 0,10 p > 0,05
3	СД 2 типа + лизоцим	5,01 ± 0,21 p > 0,6 p ₁ > 0,3	4,08 ± 0,12 p > 0,6 p ₁ > 0,05
4	СД 2 типа + кверцетин	5,73 ± 0,25 p < 0,05 p ₁ < 0,05	4,12 ± 0,10 p > 0,3 p ₁ < 0,05
5	СД 2 типа + виноградная мука	5,02 ± 0,21 p > 0,6 p ₁ > 0,3	3,89 ± 0,16 p > 0,3 p ₁ > 0,1
6	СД 2 типа + водный экстракт из ягод черники	5,41 ± 0,28 p > 0,3 p ₁ > 0,2	4,08 ± 0,07 p > 0,08 p ₁ > 0,05
7	СД 2 типа + мукозин	5,01 ± 0,25 p > 0,6 p ₁ > 0,3	3,98 ± 0,08 p > 0,3 p ₁ > 0,3

Примечание: p - по сравнению с группой № 1; p₁ - по сравнению с группой № 2.

Баланс прооксидантной и антиоксидантной систем организма отражает индекс АПИ, результаты определения которого представлены в табл. 5. Как видно из этих данных, у крыс с СД 2 в слизистой полости рта снижается индекс АПИ,

главным образом, за счет увеличения содержания МДА. Применение пребиотиков оказало стимулирующий эффект на индекс АПИ, однако разные участки слизистой отреагировали по-разному. Так, если в слизистой щеки стимули-

рующее действие всех пребиотиков (за исключением кверцетина) оказалось статистически недостоверным, то в слизистой языка все пребиотики (кроме лизоцима) достоверно повысили ин-

декс АПИ, хотя и не вернули его к показателю нормы. Больше всего повышали индекс АПИ в слизистой языка такие препараты как виноградная мука и водный экстракт из ягод черники.

Таблица 5

**Влияние лечебно-профилактических препаратов на индекс АПИ
в слизистой щеки и языка крыс с СД 2 типа**

№ п/п	Группы	АПИ	
		щека	язык
1	Норма (интактные)	1,82 ± 0,15	7,69 ± 0,73
2	СД 2 типа + плацебо	1,29 ± 0,11 p < 0,05	3,86 ± 0,41 p < 0,01
3	СД 2 типа + лизоцим	1,40 ± 0,10 p < 0,05 p ₁ > 0,5	4,39 ± 0,43 p < 0,01 p ₁ > 0,1
4	СД 2 типа + кверцетин	1,95 ± 0,17 p > 0,3 p ₁ < 0,01	4,93 ± 0,39 p < 0,01 p ₁ < 0,05
5	СД 2 типа + виноградная мука	1,62 ± 0,14 p > 0,1 p ₁ > 0,1	6,33 ± 0,64 p > 0,05 p ₁ < 0,05
6	СД 2 типа + водный экстракт из ягод черники	1,69 ± 0,16 p > 0,3 p ₁ > 0,05	6,37 ± 0,59 p > 0,05 p ₁ < 0,01
7	СД 2 типа + мукозин	1,62 ± 0,13 p < 0,01 p ₁ > 0,3	5,39 ± 0,48 p < 0,05 p ₁ < 0,05

Примечание: p - по сравнению с группой № 1; p₁ - по сравнению с группой № 2.

Таким образом, проведенные исследования показали, что при СД 2 в слизистой полости рта развиваются воспалительно-дистрофические процессы, о чем свидетельствует повышение уровня биохимических маркеров воспаления (эластазы и МДА). Одной из причин развития воспаления в слизистой полости рта при диабете может быть нарушение баланса антиоксидантно-прооксидантных систем в пользу последних. Однако это не единственная причина развития воспаления в слизистой полости рта. То обстоятельство, что пребиотики оказывают противовоспалительный эффект может указывать на ведущую роль дисбиотического фактора в патогенезе стоматологических осложнений сахарного диабета. Результаты наших исследований дают основания надеяться на то, что сочетание разных пребиотиков может оказаться весьма эффективным способом профилактики и лечения больных сахарным диабетом.

Список литературы

1. **Орехова А. Ю.** Особенности клинических проявлений патологии слизистой оболочки полости рта у больных сахарным диабетом (обзор литературы) / А. Ю. Орехова, Э. С. Силина, Т. В. Демченко, Н. В. Цыбульская // Пародонтология. – 2003. – № 4 (29). – С. 14-18.

2. **Безкорвайна М. З.** Історичні та сучасні погляди на морфолого-функціональний стан слинних залоз, слини, зубів і пародонта на тлі цукрового діабету / М. З. Безкорвайна, М. М. Якимець // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2006. – № 2. – С. 17-21.

3. **Сахарный диабет** и воспалительные процессы в полости рта / М. А. Райан, Р. Вильямс, С. Гросси [и др.] // Пародонтология. – 2006. – № 4 (40). – С. 62-65.

4. **Петрович Ю. А.** Исследование окислительно-восстановительных процессов и углеводного обмена по параметрам смешанной слюны и десневой жидкости при пародонтите и сахарном диабете / Ю. А. Петрович, С. М. Киченко, Р. П. Подорожная, М. Запрялова // Российский стоматологический журнал. – 2002. – № 5. – С. 11-14.

5. **Сергеева-Кондраченко М. Ю.** Клинико-патогенетические аспекты развития осложнений при сахарном диабете 1 типа и возможности их коррекции / М. Ю. Сергеева-Кондраченко // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – № 6 (12). – С. 26-34.

6. **Роль антиоксидантных ферментов и антиоксиданта пробуккола в антирадикальной защите β-клеток поджелудочной железы при аллоксановом диабете** / В. З. Ланкин, В. И. Корчин, Г. Г. Коновалова [и др.] // БЭБИМ. – 2004. – Т. 137, № 1. – С. 27-30.

7. **Балаболкин М. И.** Роль окислительного стресса в патогенезе сосудистых осложнений сахар-

ного диабета и применение витаминов и микроэлементов для их лечения и профилактики / М. И. Балаболкин // Реф. сборник "Новости науки и техники". – Серия "Медицина". – вып. "Клин. Эндокринология". – 2006. – № 6. – С. 1-7.

8. **Прозапальна** дія ліпополісахариду на слизову оболонку порожнини рота щурів / Левицький А.П., Дем'яненко С.О., Макаренко О.А. [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2010. – № 2 (118). – С. 9-11.

9. **Ступак Е. П.** Развитие дисбиоза и воспаления в десне крыс с аллоксановым диабетом / Е. П. Ступак, А. К. Николишин, О.А. Макаренко, И. А. Селиванская // Вісник стоматології. – 2012. – № 6 (спецвыпуск). – С. 127.

10. **Ульянов А. М.** Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина / А. М. Ульянов, Ю. А. Тарасов // Вопросы медицинской химии. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 149-154.

11. **Стальная И. Д.** Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: "Современные методы в биохимии" / И. Д.

Стальная, Т. Г. Гаришвили – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

12. **Биохимические** маркеры воспаления тканей ротовой полости: Метод, рекомендации / Левицкий А.П., Денга О.В., Макаренко О.А. [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.

13. **Гири С. В.** Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гири // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45-46.

14. **Левицкий А. П.** Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

15. **Ступак Е. П.** Влияние пробиотиков на биохимические маркеры воспаления и антиоксидантной защиты в десне крыс с экспериментальным диабетом 2 типа / Е. П. Ступак // Укр. стомат. альманах. – 2012. – № 4. – С. 10-14.



УДК 611.018.4+616.716.4

**З. Ш. Какабадзе¹⁻³, д. мед. н., Г.Т. Менабде², д. мед. н., М. З. Какабадзе¹,
И. Д. Амиранашвили², д. мед. н.,
А. Н. Мачавариани², К. М. Мазмишвили²,
Т. М. Грдзелидзе², К. С. Шанава¹,
К. Ш. Чуткерашвили¹, Е.Р. Беришвили¹⁻³, д. мед. н.**

¹Кафедра клинической анатомии Тбилисского Государственного медицинского университета

²Научно-исследовательский медицинский институт Государственного университета им. Ильи

³Отделение трансплантации клеток и тканей Грузинского национального Института медицинских исследований г. Тбилиси, Грузия

ВОЗМОЖНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ДЕЦЕЛЮЛЯРИЗОВАННОГО, ЛИОФИЛИЗИРОВАННОГО И РЕЦЕЛЮЛЯРИЗОВАННОГО КОСТНОГО МАТРИКСА ДЛЯ ЗАМЕЩЕНИЯ ДЕФЕКТОВ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ У КРЫС

Представленная работа касается возможности применения децелюляризованного, лиофилизированного и рецелюляризованного костного матрикса для хирургического лечения обширных костных дефектов.

Эксперимент проведен на крысах линии Lewis. В качестве костного матрикса для заполнения дефекта кости нижней челюсти использовали алло-трансплантат, полученный от крыс-доноров. После децелюляризации и лиофилизации рецелюляризацию костного матрикса проводили стволовыми клетками костного мозга.

Проведенные исследования показали, что через 1 месяц после трансплантации костный дефект был полностью закрыт вновь образованной костной тканью.

Ключевые слова: децелюляризация, рецелюляризация, костная ткань.