

О. Б. Ткач¹, А. К. Трохимчук,² А. П. Левицкий.³

**БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И
АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТКАНЯХ ПОЛОСТИ РТА КРЫС ПРИ
ВОЗДЕЙСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА И НАНОЧАСТИЦ
ЗОЛОТА И СЕРЕБРА**

¹Киевский национальный медицинский университет им. Богомольца

²Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко

³ГУ «Институт стоматологии НАМН», г. Одесса

Реферат. О. Б. Ткач, А. К. Трохимчук, А. П. Левицкий. **БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В ТКАНЯХ ПОЛОСТИ РТА КРЫС ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА И НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА И СЕРЕБРА.** Аппликации геля с липополисахаридом (ЛПС) на слизистую полости рта крыс вызывают увеличение в тканях активности эластазы и содержание МДА, что свидетельствует о развитии воспаления. Аппликации гелей, содержащих Лизомукоид (ЛМ) либо ЛМ + кремнезем с наночастицами золота (Au) или серебра (Ag), снижают уровень биохимических маркеров воспаления, но только в слизистой щеки. Активность каталазы, снижающаяся при действии ЛПС, существенно повышается как в десне, так и в слизистой щеки. Включение в состав геля с ЛМ препаратов с наночастицами Au или Ag существенно повышает активность каталазы и антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ в обеих тканях.

Ключевые слова: полость рта, липополисахарид, наночастицы, воспаление, антиоксиданты, гели, лизомукоид.

Реферат. О. Б. Ткач, А. К. Трохимчук, А. П. Левицкий **БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ЗАПАЛЕННЯ І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ТКАНИНАХ ПОРОЖНИНИ РОТА ЩУРІВ ЗА ДІЇ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ ТА НАНОЧАСТОК ЗОЛОТА І СРІБЛА.** Аплікації гелю з ліпополісахаридом (ЛПС) на слизову порожнини рота щурів викликають підвищення в тканинах активності еластази та вмісту МДА, що свідчить про розвиток запалення. Аплікації гелів, які містять Лізомукоїд (ЛМ) або ЛМ + силікагель з наночастками золота (Au) або срібла (Ag) знижують рівень біохімічних маркерів запалення, але тільки в слизовій щоки. Активність каталази, яка знижується за дії ЛПС, суттєво підвищується як в яснах, так і в слизовій щоки. Включення до складу гелю з ЛМ препаратів з наночастками Au або Ag суттєво підвищує активність каталази та антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ в обох тканинах.

Ключові слова: порожнина рота, ліпополісахарид, наночастинки, запалення, антиоксиданти, гелі, лізомукоїд.

Summary. O. B. Tkach, A. K. Trokhimchuk, A. P. Levitskij. **THE BIOCHEMICAL MARKERS OF INFLAMMATION AND ANTIOXIDANT PROTECTION IN ORAL TISSUES OF RATS AT THE INFLEUNCE OF LIPOPOLYSACCHARIDE AND NANOPARTICLES OF GOLD AND SILVER.** The applications of the gel with lipopolysaccharide (LPS) on the oral mucous membrane of rats cause the growth of the activity of elastase and contents of MDA, that speaks of the development of inflammation, in tissues. The applications of gel, containing Lysomucooid (LM) or LM + silica with nanoparticles of gold (Au) or silver (Ag), reduce the level of biochemical markers of inflammation, but in cheek mucosa only.

The activity of catalase, decreasing under the influence of LPS, grows considerably in gum as well as in cheek mucous membrane. The inclusion of the preparations with nanoparticles of Au or Ag into the contents of the gel with LM increases considerably the activity of catalase and antioxidant-prooxidant index of API in both tissues.

Key words: oral cavity, lipopolysaccharide, nanoparticles, inflammation, antioxidants, gels, lysomucoid.

Наночастицы обладают уникальными химическими и биологическими свойствами, лежащими в основе их лечебно-профилактических эффектов [1, 2].

В Киевском национальном университете им. Т. Г. Шевченко на кафедре неорганической химии разработана технология получения наночастиц золота и серебра, адсорбированных на мелкопористом кремнеземе [3].

Ранее нами было показано бактерицидное действие этих препаратов [4, 5], а также их способность усиливать антидисбиотическое действие Лизомукоида, препарата, содержащего лизоцим и ингибитор протеаз овомукоид [6].

Целью настоящего исследования стало изучение противовоспалительного и антиоксидантного действия гелей, содержащих наночастицы золота или серебра, на ткани полости рта крыс, подвергнутых локальному воздействию кишечного эндотоксина – липополисахарида (ЛПС).

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 наночастицами Au или Ag с 5 мл препарата Лизомукоид (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). Воспаление вызывали у крыс путем аппликации на слизистую полости рта (СОПР) 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 СОПР 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 и слизистую щеки, в гомогенате которых определяли активность биохимических маркеров воспаления – активность эластазы [7] и содержание малонового диальдегида (МДА) [7], а также активность антиоксидантного фермента каталазы [7]. По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [7].

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 представлены результаты определения в десне уровня биохимических маркеров воспаления. Из этих данных видно, что ЛПС вызывает достоверное увеличение уровня обоих маркеров воспаления, которое снижается после воздействия геля, содержащего Лизомукоид. Включение в состав геля наночастиц золота или серебра не оказало существенного влияния на уровень маркеров воспаления в десне, возможно, из-за кратковременности действия (всего 3 дня) либо недостаточной дозы препаратов.

Аналогичные показатели, но только для слизистой щеки, представлены в таблице 2, из которой видно, что ЛПС достоверно увеличивает и активность эластазы, и концентрацию МДА. Аппликация геля, содержащего Лизомукоид, снижают в малой степени уровень этих маркеров, тогда как включение в состав гелей кремнезема с наночастицами золота или

серебра заметно усиливает противовоспалительное действие Лизомукоида, особенно в отношении эластазы.

Таблица 1

Влияние гелей с наночастицами золота или серебра на уровень биохимических маркеров воспаления в десне крыс после воздействия ЛПС (во всех группах n=6)

Группы	Эластаза, мк-кат/кг	МДА, ммоль/кг
1. Норма	41 ± 6	13,4 ± 0,8
2. ЛПС – контроль 1	62 ± 2 p<0,01	20,7 ± 2,8 p<0,05
3. ЛПС+Лизомукоид (ЛМ) – контроль 2	57 ± 2 p<0,05 p ₁ >0,05	14,7 ± 1,2 p>0,3 p ₁ <0,05
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	57 ± 2 p<0,05 p ₁ >0,05 p ₂ =1	17,5 ± 1,8 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,2
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	60 ± 3 p<0,05 p ₁ >0,5 p ₂ >0,3	15,0 ± 1,4 p>0,3 p ₁ <0,05 p ₂ >0,5
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	59 ± 3 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,3	16,3 ± 1,4 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ >0,3
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	59 ± 2 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,3	13,8 ± 1,0 p>0,5 p ₁ <0,05 p ₂ >0,3

Примечания. p – показатель достоверности различий с гр. № 1; p₁ – показатель достоверности различий с гр. № 2; p₂ – показатель достоверности различий с гр. № 3.

В таблице 3 представлены результаты определения активности антиоксидантного фермента каталазы в тканях полости рта крыс после воздействия ЛПС и гелей с наночастицами Au или Ag.

При действии ЛПС активность каталазы, в отличие от биохимических маркеров воспаления, снижается, причем достоверно и в десне, и в слизистой щеки. Аппликации геля с Лизомукоидом несколько увеличивают активность каталазы, однако в обоих случаях p>0,05.

Включение в состав геля с Лизомукоидом наночастиц Au или Ag, адсорбированных на кремнеземе, значительно повышает активность каталазы в обеих тканях, причем во всех случаях p<0,05. Наиболее сильное активирующее действие на каталазу оказал гель, содержащий дополнительно к Лизомукоиду наночастицы серебра.

На основании результатов определения активности каталазы и содержания МДА были рассчитаны значения индекса АПИ, которые представлены на рисунке. Из этих данных видно, что индекс АПИ, отражающий баланс антиоксидантных и прооксидантных систем ткани, значительно (более, чем в 2 раза) снижается при воздействии ЛПС.

Аппликации геля, содержащего Лизомукоид, повышают индекс АПИ, а включение в состав геля препаратов с наночастицами Au или Ag значительно усиливают антиоксидантное действие Лизомукоида. Наиболее сильный активирующий эффект оказал препарат, содержащий наночастицы Ag размером 10 мкм (гр. № 7).

Таким образом, проведенные нами исследования подтвердили противовоспалительные и антиоксидантные свойства уже известного препарата Лизомукоид, которые можно значительно усилить с помощью гелей, содержащих наночастицы золота или серебра. Дальнейшие исследования должны определить

оптимальные эффективные дозы препаратов наночастиц золота и серебра и возможные механизмы их лечебно-профилактического действия при стоматологических заболеваниях.

Таблица 2

Влияние гелей с наночастицами золота или серебра на уровень биохимических маркеров воспаления в слизистой щеки крыс после воздействия ЛПС (во всех группах n=6)

Группы	Эластаза, мк-кат/кг	МДА, ммоль/кг
1. Норма	51 ± 3	13,1 ± 1,2
2. ЛПС – контроль 1	69 ± 2 p<0,01	21,3 ± 1,9 p<0,05
3. ЛПС+Лизомукоид (ЛМ) – контроль 2	66 ± 11 p>0,05 p ₁ >0,5	19,7 ± 1,6 p<0,05 p ₁ >0,3
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	61 ± 4 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,3	19,0 ± 2,1 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,5
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	62 ± 2 p<0,05 p ₁ <0,05 p ₂ >0,3	18,0 ± 1,7 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,5
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	60 ± 6 p>0,05 p ₁ >0,05 p ₂ >0,3	19,4 ± 1,4 p<0,05 p ₁ >0,3 p ₂ >0,5
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	57 ± 6 p>0,3 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05	17,6 ± 1,4 p<0,05 p ₁ >0,05 p ₂ >0,3

Примечания. p – показатель достоверности различий с гр. № 1; p₁ – показатель достоверности различий с гр. № 2; p₂ – показатель достоверности различий с гр. № 3.

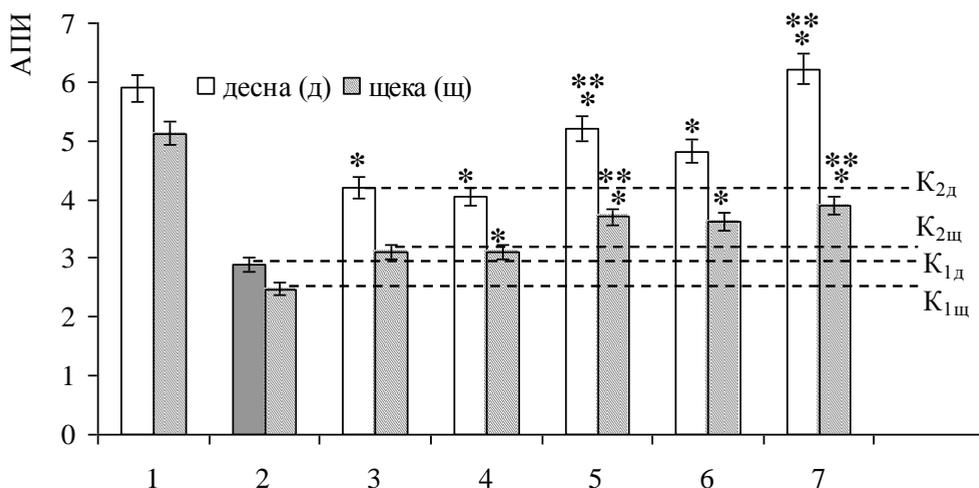


Рис. Влияние гелей с Au и Ag на индекс АПИ десны и слизистой щеки крыс после воздействия ЛПС (1-7 – группы крыс)

(* – p<0,05 в сравнении с контролем № 1 (гр. № 2),

** – p<0,05 в сравнении с контролем № 2 (гр. № 3)

Влияние гелей с наночастицами золота и серебра на активность каталазы (мк-кат/кг) в десне и слизистой щеки крыс после воздействия ЛПС (во всех группах n=6)

Группы	Десна	Щека
1. Норма	7,85 ± 0,42	6,97 ± 0,47
2. ЛПС – контроль 1	6,03 ± 0,22 p<0,01	5,22 ± 0,52 p<0,05
3. ЛПС+Лизомукоид (ЛМ) – контроль 2	6,14 ± 0,87 p<0,05 p ₁ >0,5	6,00 ± 0,37 p>0,05 p ₁ >0,05
4. ЛПС+ЛМ+Au (5 нм, 500 мкг/г)	7,10 ± 0,53 p>0,1 p ₁ <0,05 p ₂ >0,3	6,45 ± 0,29 p>0,1 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05
5. ЛПС+ЛМ+Au (5 мкм, 400 мкг/г)	7,83 ± 0,40 p>0,8 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01	6,62 ± 0,33 p>0,3 p ₁ <0,05 p ₂ >0,2
6. ЛПС+ЛМ+Ag (5 мкм, 400 мкг/г)	7,84 ± 0,71 p>0,9 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01	6,96 ± 0,32 p>0,9 p ₁ <0,01 p ₂ >0,05
7. ЛПС+ЛМ+Ag (10 мкм, 400 мкг/г)	8,58 ± 0,14 p>0,05 p ₁ <0,01 p ₂ <0,01	6,92 ± 0,44 p>0,8 p ₁ <0,05 p ₂ >0,05

Примечания. p – показатель достоверности различий с гр. № 1; p₁ – показатель достоверности различий с гр. № 2; p₂ – показатель достоверности различий с гр. № 3.

Литература:

1. Nanotechnology and its role in the management of periodontal diseases / L. X. Kong, Z. Peng, S.-D. Li [et al.] // Periodontology 2000. – 2006. – V. 40, N 1. – P. 184-196/
2. Mitra S. B. An application of nanotechnology in advanced dental materials / S. B. Mitra, D. Wu, B. N. Holmes // J. Amer. Dent. Assoc. – 2003. – V. 134. – P. 1382-1390.
3. Формирование наночастиц благородных металлов в пористых кремнезёмах и биологических матрицах / А. К. Трохимчук, А. В. Легенчук, В. И. Подольская [и др.] // Наносистемы, наноматериалы, нанотехнології. Збірник наукових праць. – 2008. – Т. 6, вип. 2. – С. 509-527.
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 // Современ. стоматология. – 2013. – № 1 (65). – С. 11.
6. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
7. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации // А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.] – Одесса: КП ОГТ, 2010 – 16 с.

Работа поступила в редакцию 17.09.2013 года.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования