

13. **Korolyuk M. A.** Method for determining the activity of catalase. *Laboratornoe delo*. 1988;1:16-18.
14. **Nikolaeva A.V.** Vliyanie nekotorykh nejtrotropnykh sredstv na sostoyanie tkanej pri razdrazhenii verkhnego shejnogo simpaticeskogo uzla [The effect of some neurotropic drugs on the state of tissues with irritation of the upper cervical sympathetic ganglion]. Abstract of a candidate's thesis of medical sciences. *Kharkov*. 1967: 29.

Поступила 15.04.2020



DOI 10.35220/2078-8916-2020-36-2-22-26

УДК 616.314-089.23:[599.323.45+57.084.1+616.379-008.64]

***П.Д. Рожко, к. мед. н., О.В. Деньга, д. мед. н.,
О.А. Макаренко, д. биол. н.
С.А. Шнайдер, д. мед. н.**

*Одесский национальный медицинский университет
Государственное учреждение «Институт
стоматологии и челюстно-лицевой хирургии
Национальной академии медицинских наук Украины»

ВЛИЯНИЕ МОДЕЛИРОВАНИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА И ФИКСАЦИИ ИМПЛАНТАТОВ НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА КРЫС

В результате проведенного биохимического анализа десны экспериментальных животных можно сделать вывод, что развитие сахарного диабета 2 типа индуцирует снижение неспецифической антимикробной и антиоксидантной защиты тканей десны, что, в свою очередь, приводит к развитию воспаления, увеличению проницаемости слизистой оболочки, усилению контаминации десны условно патогенными бактериями, активации перекисного окисления липидов в полости рта. Фиксация в челюсти крыс имплантатов в условиях сахарного диабета 2 типа привела к более значительному угнетению антимикробной защиты (активности лизоцима) и интенсификации воспаления и перекисного окисления липидов, повышению степени дисбиоза в десне за счёт количественного увеличения условно-патогенной микробиоты в ротовой полости животных. При этом установка имплантатов не повлияла на активность антиоксидантной системы (активность каталазы) и уровень гиалуроновой кислоты в десне крыс. Проведенные исследования показали также высокую профилактическую противовоспалительную, антиоксидантную и антимикробную эффективность комплекса препаратов, который применяли у крыс в процессе эксперимента.

Ключевые слова: крысы, ткани десны, сахарный диабет, имплантаты, профилактический комплекс.

***П.Д. Рожко, О.В. Деньга, О.А. Макаренко,
С.А. Шнайдер**

*Одеський національний медичний університет
Державна установа «Інститут стоматології
та щелепно-лицевої хірургії
Національної академії медичних наук України»

ВПЛИВ МОДЕЛЮВАННЯ ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ 2 ТИПУ ТА ФІКСАЦІЇ ІМПЛАНТАТІВ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТКАНИН ПАРОДОНТА ЩУРІВ

В результаті проведеного біохімічного аналізу ясен експериментальних тварин можна зробити висновок, що розвиток цукрового діабету 2 типу індукує зниження неспецифічного антимікробного і антиоксидантного захисту тканин ясен, що, в свою чергу, призводить до розвитку запалення, збільшення проникності слизової оболонки, посилення контамінації ясен умовно-патогенними бактеріями, активації перекисного окислення ліпідів в порожнині рота. Фіксація в щелепах щурів імплантатів в умовах цукрового діабету 2 типу призвела в яснах до більш значного пригнічення антимікробного захисту (активності лізоциму) і інтенсифікації запалення і перекисного окислення ліпідів, підвищенню ступеня дисбіозу за рахунок кількісного збільшення умовно-патогенної мікробіоти в ротовій порожнині тварин. При цьому установка імплантатів не вплинула на активність антиоксидантної системи (активність каталази) і рівень гіалуронової кислоти в яснах щурів. Проведені дослідження показали також високу профілактичну протизапальну, антиоксидантну та антимікробну ефективність комплексу препаратів, який застосовували у щурів в процесі експерименту.

Ключові слова: щури, тканини ясен, цукровий діабет, імплантати, профілактичний комплекс.

***P.D. Rozhko, O.V. Denga, O.A. Makarenko,
S.A. Shnaider**

*Odessa National Medical University
State Establishment «The Institute of Stomatology
and Maxillo-Facial Surgery National Academy
of Medical Science of Ukraine»

INFLUENCE ON BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RATS PERIODONTAL TISSUES DENTAL IMPLANTATION WITH MODELING TYPE 2 DIABETES MELLITUS

ABSTRACT

As a result of experimental animals gums biochemical analysis can be concluded that development of type 2 diabetes mellitus induces a decrease in nonspecific antimicrobial and antioxidant protection of gum tissue, which, in turn, leads to development of inflammation, an increase in permeability of mucous membrane and an increase in contamination opportunistic bacteria in gum, activation of lipid peroxidation in the oral cavity. Dental implantation under conditions of type 2 diabetes mellitus

© Рожко П.Д., Деньга О.В., Макаренко О.А., Шнайдер С.А., 2020.

led to a more significant inhibition of antimicrobial defense (lysozyme activity) and intensification of inflammation and lipid peroxidation, an increase in the degree of dysbiosis of gums due to a quantitative increase in opportunistic microbiota in the oral cavity of animals. At the same time, the implantation did not affect the activity of antioxidant system (catalase activity) and level of hyaluronic acid in the gums of rats. The studies carried out also showed a high prophylactic anti-inflammatory, antioxidant and antimicrobial efficacy of prophylactic complex that were used during the experiment.

Key words: rats, gum tissue, diabetes mellitus, implants, prophylactic complex.

При планировании дентальной имплантации необходимо учитывать наличие абсолютных и относительных противопоказаний [1].

Среди факторов риска и относительных противопоказаний к оперативным вмешательствам, в том числе к дентальной имплантации, первоочередным является сахарный диабет (СД) [2, 3, 4]. При этом большое значение приобретает процесс адекватного ремоделирования кости. Именно эти процессы обеспечивают долговременную остеоинтеграцию и стабильность имплантата [5].

Ремоделирование представляет собой тонкое равновесие между формированием и деградацией тканей, контролируемое активностью протеолитических ферментов. Анализ влияния сахарного диабета на воспалительные процессы в полости рта и остеоинтеграцию имплантата выявил изменение процессов ремоделирования кости и недостаточную её минерализацию, что приводит к замедлению процесса остеоинтеграции [6,7].

Материалы и методы. В эксперименте использовали 24 самки белых крыс линии Вистар стадного разведения в возрасте 10 месяцев, массой 230 ± 38 г. При работе с животными руководствовались Законом Украины «О защите животных от жестокого обращения» (№ 1759-VI от 15.12.2009 г.) с учётом правил Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях («European Convention», Страсбург, 1986). Животные были распределены на 4 группы по 6 крыс в каждой:

- 1 – Интактная,
- 2 – СД 2 типа,
- 3 – СД 2 типа + установка имплантатов,
- 4 – СД 2 типа + установка имплантатов + ЛПК.

Воспроизведение сахарного диабета 2 типа (СД 2 типа) у крыс 2, 3 и 4 групп осуществляли при помощи внутримышечного введения протамин сульфата («Merck», Германия) в дозе 18 мг/кг ежедневно дважды в день в течение 5 дней и после двух дней перерыва – ещё в течение по-

следующих 5 дней [8].

Профилактику комплексом препаратов 4-й группе крыс начинали проводить ежедневно с первого дня моделирования СД 2 типа. ЛПК, вводимый животным, включал из расчёта на 1 кг массы тела: комплекс биологически активных веществ растительного происхождения «ПОИС ультра» (150 мг/кг), регулирующий углеводный обмен; фитоэкстракт «Иммуником» (5 капель/кг) – адаптоген, усиливающий иммунитет и резистентность в полости рта; «Селен + Цинк актив» (25 мг/кг – 0,9 мг/кг цинка и 4,5 мкг/кг селена) – препарат антиоксидантного и остеотропного характера действия; «Алфавит» (таблетка №2, 40 мг/кг) – нормализует костный метаболизм. Местно в виде орошения использовали «Экстракт гинкго билобы и виноградных косточек», регулирующий микробиоценоз, улучшающий кровообращение в дёснах и уменьшающий воспаление (1/10 с водой). Орошение полости рта крыс проводилось 1 раз в сутки утром за 30 мин. до кормления.

Всем животным опытных групп под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) фиксировали имплантат. С помощью фигурного бора диаметром 1 мм на верхней челюсти в точке на расстоянии 1,5 мм от моляров с заходом на акуловую кость на 1-1,5 мм, делали канал глубиной 2 мм под углом 120° к плоскости моляров и вкручивали имплантат диаметром 1,2 мм и длиной 4 мм (используется в ортодонтии в качестве анкера).

Животных выводили из эксперимента также под тиопенталовым наркозом (40 мг/кг) через 2 недели после установки имплантатов (или 4 недели от начала эксперимента и моделирования СД 2 типа). Общая продолжительность эксперимента составила 28 дней.

Для исследования иссекали десну животных и хранили её при температуре -30°C . Из тканей готовили гомогенаты из расчёта 20-50 мг/мл 0,05 М трис-НСI-буфера pH 7,5. Для биохимических исследований использовали надосадочную жидкость, получаемую после центрифугирования гомогенатов при 2500 g в течение 15 минут при $+4^\circ\text{C}$. В десне крыс проводили исследования активности эластазы, уреазы, лизоцима, каталазы, содержания гиалуроновой кислоты и степени дисбиоза, уровня малонового диальдегида (МДА) и антиоксидантно-прооксидантного индекса (АПИ).

Результаты исследования и их обсуждение. Воспроизведение СД 2 типа при помощи многократных инъекций протамин привело к выраженным метаболическим сдвигам в десне крыс. Как видно из приведенных данных развитие СД 2 типа способствует интенсификации воспаления в десне экспериментальных живот-

ных, о чем говорит значительное повышение активности эластазы на 55,5 %. Установка имплантатов животным 3-й группы вызвала еще более выраженное увеличение активности эластазы в десне – на 71,8 % (табл. 1).

В десне крыс 4-й группы, которой проводили комплексную профилактику препаратами перед фиксацией имплантатов, активность эласта-

зы, а значит и интенсивность воспаления, снизилась достоверно по отношению к показателям во 2-й и 3-й группах, но одновременно сохранялась высокой по сравнению с нормальными значениями в интактной группе. Полученные результаты свидетельствуют о противовоспалительных свойствах разрабатываемого комплекса препаратов (табл. 1).

Таблица 1

Влияние экспериментального сахарного диабета 2 типа и установки имплантатов на активность эластазы и содержание гиалуроновой кислоты в десне крыс

Группы экспериментальных животных	Активность эластазы, мк-кат/кг	Содержание гиалуроновой кислоты мг/кг
Интактная	23,8 ± 1,3	635 ± 59
СД 2 типа	37,0 ± 1,6 p < 0,001	489 ± 51 p < 0,05
СД 2 типа + фиксация имплантатов	40,9 ± 0,5 p < 0,001 p ₁ > 0,05	526 ± 38 p > 0,05 p ₁ > 0,05
СД 2 типа + фиксация имплантатов + профилактика	32,5 ± 1,2 p < 0,001 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,001	586 ± 43 p > 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05

Примечание: p – показатель достоверности отличий от интактной группы;
p₁ – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа»;
p₂ – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа + фиксация имплантатов».

С одновременным развитием воспаления в десне крыс с СД2 выявлено снижение уровня гиалуроновой кислоты. Этот показатель уменьшился в десне крыс 2-й группы на 23,0 %. Полученные данные свидетельствуют об увеличении проницаемости слизистой оболочки полости рта животных при развитии у них СД 2 типа, поскольку гиалуроновая кислота выполняет функцию межклеточного «цемента». Фиксация имплантатов крысам 3-й группы не повлияла на уровень гиалуроновой кислоты в их десне. Проведение профилактики 4-й группе перед установкой имплантатов предотвращало снижение уровня гиалуроновой кислоты в десне крыс с СД 2 типа и способствовало сохранению ее нормального уровня (табл. 1).

В общем, результаты показывают, что СД 2 типа индуцирует воспалительные процессы, и, как следствие, увеличение проницаемости слизистой оболочки в ротовой полости экспериментальных животных. Фиксация имплантатов усиливает интенсивность воспаления и не влияет на уровень гиалуроновой кислоты. Предлагаемая схема профилактики эффективно предотвращает развитие воспаления и снижение содержания гиалуроновой кислоты в десне животных с СД 2 типа и после установки имплантатов (табл. 1).

Интенсификация воспаления при развитии СД 2 типа влечет за собой увеличение контами-

нации условно-патогенных и патогенных бактерий на десне крыс 2-й группы, которой моделировали СД 2 типа. Об этом заключили по повышению активности уреазы на 69,4 %. Фиксация имплантатов вызвала более значительное повышение активности фермента, продуцируемого условно-патогенной микробиотой полости рта – на 138,8 % по сравнению с нормальным уровнем и на 41,0 % по отношению к показателю в десне крыс 2-й группы. Профилактический комплекс оказал выраженное антимикробное действие: активность уреазы в десне животных 4-й группы достоверно снизилась и соответствовала значениям в десне интактных крыс (табл. 2).

Усиленное размножение условно-патогенных бактерий в десне крыс с СД 2 типа могло быть следствием как развития воспаления, так и снижения антимикробной защиты ткани десны, о чем свидетельствует уменьшение активности лизоцима на 23,5 % в десне животных 2-й группы. Фиксация имплантатов привела к более выраженному снижению активности лизоцима в десне крыс 3-й группы – на 37,1 %. Введение профилактических препаратов животным 4-й группы перед установкой имплантатов способствовало сохранению активности лизоцима на высоком уровне, достоверно низком по отношению к показателю во 2-й и 3-й группах (табл. 2).

Таблиця 2

Влияние экспериментального сахарного диабета 2 типа и установки имплантатов на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в десне крыс

Группы	Показатели	Активность уреазы, мк-кат/кг	Активность лизоцима, ед/кг	Степень дисбиоза
Интактная		0,49 ± 0,07	132 ± 9	1,05 ± 0,1
СД 2 типа		0,83 ± 0,10 p = 0,05	101 ± 4 p < 0,005	2,19 ± 0,25 p < 0,001
СД 2 типа + фиксация имплантатов		1,17 ± 0,14 p < 0,01 p ₁ = 0,05	83 ± 5 p < 0,001 p ₁ < 0,05	3,79 ± 0,27 p < 0,001 p ₁ < 0,001
СД 2 типа + фиксация имплантатов + профилактика		0,68 ± 0,09 p > 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ > 0,05	121 ± 4 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,001	1,51 ± 0,14 p < 0,05 p ₁ < 0,001 p ₂ < 0,001

Примечание: p – показатель достоверности отличий от интактной группы;
p₁ – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа»;
p₂ – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа + фиксация имплантатов».

Результатом снижения антимикробной защиты и увеличения контаминации условно-патогенных бактерий на десне крыс 2-й группы, которым моделировали СД 2 типа, степень дисбиоза возросла в 2,1 раза. Это говорит о нарушении микробиоценоза в полости рта на фоне развития СД 2 типа. Фиксация имплантатов в челюсть крыс с СД 2 типа привела к увеличению степени дисбиоза в 3,6 раза по сравнению с показателем в интактной группе и в 1,7 раза по отно-

шению к уровню этого маркера в десне крыс 2-й группы с СД 2 типа. Профилактические средства, применяемые в 4-й группе крыс, благодаря стимуляции неспецифической антимикробной защиты в тканях десны и проявлению антибактериального действия способствовали существенному снижению степени дисбиоза в полости рта животных несмотря на то, что этот показатель превышал нормальные значения (табл. 2).

Таблиця 3

Влияние экспериментального сахарного диабета 2 типа и установки имплантатов на активность каталазы, уровень МДА и индекс АПИ в десне крыс

Группы	Показатели	Активность каталазы, мкат/кг	МДА, ммоль/кг	Индекс АПИ
Интактная		7,6 ± 0,2	9,0 ± 0,8	8,4 ± 0,9
СД 2 типа		6,5 ± 0,3 p < 0,01	12,5 ± 0,6 p < 0,003	5,2 ± 0,7 p < 0,005
СД 2 типа + фиксация имплантатов		7,2 ± 0,4 p > 0,05 p ₁ > 0,05	16,0 ± 0,8 p < 0,001 p ₁ < 0,005	4,5 ± 0,6 p < 0,001 p ₁ > 0,05
СД 2 типа + фиксация имплантатов + профилактика		8,1 ± 0,2 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05	10,4 ± 0,6 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,001	7,9 ± 0,8 p > 0,05 p ₁ < 0,05 p ₂ < 0,05

Примечание: p – показатель достоверности отличий от интактной группы;
p₁ – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа»;
p₂ – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа + фиксация имплантатов».

Моделирование СД 2 типа при помощи инъекций протамина вызвало в десне крыс угнетение не только антимикробной защиты, но и активности антиоксидантной системы. Об этом заключили по уменьшению активности одного из основных ферментов этой системы каталазы в десне крыс 2-й группы на 14,6 %, что демонстрируют данные таблицы 3. Такое снижение ан-

тиоксидантной защиты ведет к интенсификации перекисных процессов в тканях, что и подтвердило достоверное повышение уровня малонового диальдегида (МДА) – конечного продукта перекисного окисления липидов (ПОЛ). Этот параметр увеличился в десне крыс 2-й группы на 38,9 %. В результате сдвига равновесия «антиоксиданты-оксиданты» в сторону последних индекс

АПИ уменьшился на 38,1 % (табл. 3).

Установка имплантатов в челюсти крыс 3-й группы не повлияла на активность каталазы в их десне. Несмотря на это уровень МДА значительно увеличился – на 77,8 % по сравнению с нормальными значениями и на 28,0 % по отношению к уровню во 2-й группе. При этом индекс АПИ в десне крыс 3-й группы снизился еще существеннее (табл. 3).

Проведение профилактических мероприятий у крыс 4-й группы с СД 2 типа и после фиксации имплантатов эффективно предупреждало нарушения баланса «антиоксиданты-оксиданты» в десне животных. Так, все исследуемые параметры этой системы (активность каталазы, содержание МДА и индекс АПИ) в десне крыс, получавших профилактику на фоне моделирования СД 2 типа и установки имплантатов, соответствовали уровню у интактных здоровых животных, что говорит об антиоксидантной эффективности компонентов предлагаемого комплекса лечебно-профилактических препаратов.

Выводы. В результате проведенного биохимического анализа десны экспериментальных животных можно заключить, что развитие СД 2 типа индуцирует снижение неспецифической антимикробной и антиоксидантной защиты тканей десны, что, в свою очередь, приводит к развитию воспаления, увеличению проницаемости слизистой оболочки, усилению контаминации десны условно патогенными бактериями, активации ПОЛ в полости рта.

Фиксация в челюсти крыс имплантатов в условиях СД 2 типа привела к более значительному угнетению антимикробной защиты (активности лизоцима) и интенсификации воспаления и ПОЛ, повышению степени дисбиоза в десне за счёт количественного увеличения условно-патогенной микробиоты в ротовой полости животных. При этом установка имплантатов не повлияла на активность антиоксидантной системы (активность каталазы) и уровень гиалуроновой кислоты в десне крыс.

Проведенные исследования показали также высокую профилактическую противовоспалительную, антиоксидантную и антимикробную эффективность комплекса препаратов, которые применяли в процессе эксперимента.

Список литературы

1. **Тунева Н.А.** Проблемы дентальной имплантации / Н.А. Тунева, Н.В. Богачева, Ю.О. Тунева // Вятский медицинский вестник. – 2019. – №2(62). – С. 86-93.

2. **Никитин В.С.** Особенности дентальной имплантации у пациентов с сахарным диабетом / В.С. Никитин, О.П. Капитонова, И.Н. Антонова // Трансляционная медицина. – 2015. – №2(6). – С. 25-31.

3. **Прудіус П. Г.** Епідеміологія та економіка цукрового діабету (огляд) / П. Г. Прудіус, О. В. Северин, Н. В. Письменна // Ендокринологія. – 2000. – Т. 5, № 1. – С. 109-114.

4. **Зиммет П.** Быстрый рост распространенности сахарного диабета II типа и угроза эпидемии этого заболевания в будущем / П. Зиммет // Український медичний часопис. – 2002. – № 3 (29). – С. 5.

5. **Pavya G.** Effect of Diabetes in Osseointegration of Dental Implant – A Review / G. Pavya, N. A. Babu // Biomed Pharmacol J. – 2015. – №8 (October Spl Edition). Available from: <http://biomedpharmajournal.org/?p=3593>

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

7. **Бурова С. А.** Системный и локализованный кандидоз у больных сахарным диабетом / С. А. Бурова // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – № 6 (12). – С. 107-109.

8. **Горячковский А. М.** Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / Горячковский А. М.. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.

9. **Левицкий А.П.** Методы экспериментальной стоматологии / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Демьяненко С.А.; Учебное пособие. – Симферополь, ООО «Изд-во Тарпан», 2018. – 78 с.

REFERENCE

1. **Tuneva N.A., Bogacheva N.V., Tuneva Yu.O.** Problems of dental implantation. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*. 2019;2(62):86-93.

2. **Nikitin V.S., Kapitonova O.P., Antonova I.N.** Features of dental implantation in patients with diabetes mellitus. *Translyatsionnaya meditsina*. 2015;2(6):25-31.

3. **Prudius P.H., Severyn O.V., Pys'menna N.V.** Epidemiology and economics of diabetes (review). *Endokrynolohiya*. 2000;5(1):109-114.

4. **Zimmet P.** Rapid increase in the prevalence of type II diabetes mellitus and the threat of an epidemic of this disease in the future. *Ukrains'kiy medichniy chasopis*. 2002;3(29):5.

5. **Pavya G, Babu N. A.** Effect of Diabetes in Osseointegration of Dental Implant – A Review. *Biomed Pharmacol J*.2015;8 (October Spl Edition). Available from: <http://biomedpharmajournal.org/?p=3593>

6. **Rayan M.A., Vil'yams R., Grossi S.** Diabetes mellitus and inflammatory processes in the oral cavity. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2006;4(40):62-65.

7. **Burova S. A.** Systemic and localized candidiasis in patients with diabetes mellitus. *Mezhdunarodnyy endokrinologicheskij zhurnal*. 2007;№6(12):107-109.

8. **Gorjachkovskij A.M.** *Klinicheskaja biohimija* [Clinical Biochemistry] Odessa: Jekologija Publ., 2005. 616p.

9. **Levitskiy A.P., Makarenko O.A., Dem'yanenko S.A.** *Metody eksperimental'noy stomatologii* [Experimental dentistry methods]. Simferopol, ООО "Izd-vo Tarpan", 2018:78.

Поступила 25.05.2020

