

Влияние антидисбиотических средств на состояние пародонта у крыс с сахарным диабетом после ортодонтических операций

С.А. ДЕМЬЯНЕНКО*, д.м.н., профессор, зав. кафедрой

А.Л. МОРОЗОВ*, ассистент

А.П. ЛЕВИЦКИЙ**, д.б.н., профессор, зам директора по научной работе

*Кафедра стоматологии и ортодонтии

ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского»

Медицинская академия имени С. И. Георгиевского (г. Симферополь)

**ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины» (г. Одесса)

Influence of antidysbiotic means on the state of parodont in rats with sugar diabetes after ortodontic operations

S.A. DEMYANENKO, A.L. MOROZOV, A.P. LEVITSKY

Резюме

Сахарный диабет 1 типа, вызываемый аллоксаном, характеризуется системным воспалением, развитием в пародонте воспаления, дисбиоза и снижением минерализующей активности костной ткани. Ортодонтическая операция повышает уровень антиоксидантной защиты пародонта, снижает степень воспаления и дисбиоза. Композиция из антидисбиотических средств (кверцетин + инулин + цитрат кальция) оказывает гипогликемическое, антидисбиотическое и противовоспалительное действие, стимулирует минерализующую активность костной ткани пародонта.

Ключевые слова: пародонт, сахарный диабет, ортодонтия, антидисбиотические средства.

Abstract

Type 1 diabetes mellitus, caused by alloxan, is characterized by systemic inflammation, development of inflammation in the periodontium, dysbiosis and a decrease in the mineralizing activity of bone tissue. Orthodontic surgery increases the level of antioxidant protection of periodontal disease, reduces the degree of inflammation and dysbiosis. Composition of antidysbiotic agents (quercetin + inulin + calcium citrate) has a hypoglycemic, antidysbiotic and anti-inflammatory effect, stimulates the mineralizing activity of the periodontal bone tissue.

Key words: parodontium, diabetes, orthodontics, antidysbiotic agents.

У больных сахарным диабетом наблюдаются серьезные изменения в организме, обусловленные нарушениями нейроэндокринной системы [18], развитием иммунодефицита [13], активацией условно-патогенной микрофлоры [13, 2], существенным снижением адаптационно-трофических возможностей организма [14]. Наличие у пациентов сахарного диабета создает предпосылки для возникновения различных осложнений при стоматологических вмешательствах, в том числе, возможно, и при ортодонтических операциях [17].

Нами ранее было показано усугубление патологических состояний в пародонте крыс, у которых проводили ортодонтические операции на фоне экспериментального метаболического синдрома [5].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Определение влияния ортодонтической операции на состояние пародонта у крыс с экспериментальным сахарным диабетом и определение возможности предотвратить патологические изменения с помощью антидисбиотических средств.

Рабочая гипотеза данного исследования строилась на основании обоснованной ранее дисбиотической концепции развития осложнений сахарного диабета [12].

Для профилактики дисбиотических осложнений были предложены медикаментозные и алиментарные средства, получившие название антидисбиотических [7]. Среди этих средств следует выделить, прежде всего, пребиотики, способные стимулировать рост пробиотических бактерий [8], биофлавоноиды (Р-витаминные вещества) [21], соли кальция [16] и, конечно, пробиотики [12].

Мы избрали в нашей работе композицию, состоящую из следующих антидисбиотических средств: инулин (полифруктозид из корней цикория), кверцетин (флавонол из плодов софоры) и цитрат кальция (как наиболее усвояемая форма кальция).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты были проведены на 25 белых крысах линии Вистар (самцы, 3 месяца, средняя живая масса 125 ± 8 г), распределенных в 4 группы: 1-я (интактные) — контроль, 7 крыс, 2-я — с сахарным диабетом (СД) 1 типа, который вызывали введением аллоксана в/брюшинно в дозе 100 мг/кг с первого дня опыта (8 крыс), 3-я — с СД + с 3-й недели ортодонтическая операция (ОО) (фиксация пружин) [13] — 5 крыс и 4-я — с СД + ОО + композиция АДС следующего состава: инулин, кверцетин и цитрат кальция (препарат «Квертулин» [2]) со 2-й недели опыта.

Эвтаназию животных осуществляли на 36-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

Выделяли десну, костную ткань пародонта (альвеолярный отросток нижней челюсти) и получали сыворотку крови, в которой определяли содержание глюкозы [4] и активность эластазы (маркер системного воспаления) [9].

В гомогенате десны определяли уровень биохимических маркеров воспаления [9]: активность эластазы с использованием синтетического субстрата и содержание малонового диальдегида (МДА), а также активность уреазы (показатель микробного обсеменения) [11], лизоцима (индикатор неспецифического иммунитета) [6], каталазы (антиоксидантный фермент) [9] и содержание гиалуроновой кислоты по Клементу [1]. По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [9], а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по А. П. Левицкому [11].

В гомогенате костной ткани пародонта определяли активность щелочной (ЩФ) и кислой (КФ) фосфатаз, используя в качестве субстрата р-нитрофенилфосфат натрия [10], активность эластазы [9], а также содержание кальция [10] и белка [10]. По соотношению ЩФ/КФ рассчитывали минерализующий индекс (МИ) [19], а по соотношению содержания кальция (в граммах) и белка (в граммах) рассчитывали степень минерализации (СМ) [19].

Результаты исследований подвергали стандартной статобработке, определяя $M \pm m$ и принимая за достоверные отличия значение $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблицах 1 и 2 представлены абсолютные значения биохимических показателей десны и костной ткани пародонта 1-й группы крыс, которые служили контролем. Эти значения мы принимали за 100%, а значения биохимических показателей всех остальных групп были относительными по отношению к группе контроля. Эти результаты представлены на рис. 1 и 2.

Как видно из рис. 1, у крыс с диабетом (группа 2) в десне достоверно возрастает, в среднем на 20%, уровень обоих маркеров воспаления (эластазы и МДА). Проведенная ортодонтическая операция (группа 3) сохраняет в десне высокую активность эластазы, однако достоверно снижает содержание МДА. Введение композиции из АДС практически полностью нормализует уровень эластазы и в еще большей степени снижает содержание МДА, свидетельствующее об ослаблении процессов перекисного окисления.

Активность каталазы в десне не претерпевает значительных изменений, тогда как индекс АПИ, существенно сниженный у крыс с диабетом (группа 2), достоверно повышается у крыс после ортодонтической операции и еще больше — после введения АДС.

Характер изменений содержания МДА в десне может свидетельствовать о том, что ортодонтическая операция каким-то образом подавляет перекисное окисление липидов, а использованная композиция АДС (скорее всего, за счет кверцетина) подавляет перекисное окисление еще больше.

У крыс с диабетом (группа 2) значительно снижается в десне содержание гиалуроновой кислоты, а введение АДС в небольшой степени ограничивает ее снижение.

У крыс с диабетом в два раза возрастает в десне активность уреазы, свидетельствующая о росте микробной обсемененности. Ортодонтическая операция (группа 3) существенно снижает активность уреазы, а введение АДС (группа 4) снижает даже ниже уровня контроля. Аналогичные изменения наблюдаются и с показателем степени дисбиоза, тогда как активность лизоцима в десне существенно не изменяется.

На рисунке 2 представлены результаты определения биохимических показателей костной ткани пародонта. Видно, что у крыс с диабетом (группа 2) достоверно на 40% снижается активность щелочной фосфатазы, которая является маркером остеобластов, однако достоверно (более чем на 40%) повышается активность кислой фосфатазы, которая является маркером остеокластов. У крыс с диабетом ортодонтическая операция нормализует активность ЩФ, тогда как на активность КФ она существенно не влияет. Рассчитанный по соотношению ЩФ/КФ минерализующий индекс МИ снижается у крыс с диабетом (группа 2) почти на 60%. Ортодонтическая операция (группа 3) снижает индекс МИ на 35%, а введение АДС практически нормализует этот показатель.

Содержание кальция, белка и степень минерализации в костной ткани пародонта во всех группах значительно не изменяются, тогда как активность эластазы резко возрастает у крыс, получавших АДС, что пока трудно объяснить и требует проведения дополнительных исследований.

В таблице 3 представлены результаты определения в сыворотке крови крыс содержания глюкозы и активности эластазы. Из этих данных следует, что, как и ожидалось, у крыс с СД значительно (на 52%) повышен уровень глюкозы (гипергликемия) и на 30% повышена активность эластазы (системное воспаление). Оба эти показателя нормализуются лишь у крыс, получавших композицию АДС.

Таким образом, представленные нами данные свидетельствуют о развитии при сахарном диабете в пародонте дисбиоза и воспаления, нарушении минерализующей активности. Ортодонтическая операция оказывает антиоксидантное и антидисбиотическое действие на ткани пародонта, которые в еще большей степени усиливаются при введении композиции из АДС. Последние оказывают также и явное гипогликемическое действие и устраняют явления системного воспаления, что согласуется с данными, полученными нами ранее при экспериментальном сахарном диабете [5]. Эти результаты дают основания рекомендовать применение АДС при проведении ортодонтических операций у пациентов с сахарным диабетом.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментальный сахарный диабет 1 типа вызывает системное воспаление, развитие в пародонте дисбиоза, воспаления и снижение минерализующей активности костной ткани.

2. Ортодонтическая операция повышает уровень антиоксидантной защиты пародонта и снижает степень дисбиоза и воспаления.

Таблица 1. Биохимические показатели десны интактных крыс (контроль)

Показатели	M ± m, n = 7
Эластаза, мк-кат/кг	34,5 ± 1,5
МДА, ммоль/кг	18,9 ± 1,6
Уреаза, мк-кат/кг	0,95 ± 0,24
Лизоцим, ед/кг	196 ± 14
Каталаза, мкат/кг	6,3 ± 0,3
Гиалурионовая кислота, мг/кг	3333 ± 854
АПИ	3,31 ± 0,22
Степень дисбиоза	1,00 ± 0,13

Таблица 2. Биохимические показатели костной ткани пародонта интактных крыс (контроль)

Показатели	M ± m
Щелочная фосфатаза (ЩФ), мк-кат/кг	330,0 ± 17,2
Кислая фосфатаза (КФ), мк-кат/кг	7,2 ± 0,8
Кальций, ммоль/кг	1,55 ± 0,14
Белок, г/кг	24,6 ± 2,4
Эластаза, мк-кат/кг	14,5 ± 1,7
Индекс МИ (ЩФ/КФ)	12,9 ± 2,1
Степень минерализации (Са/Белок), кг/кг	2,52 ± 0,28

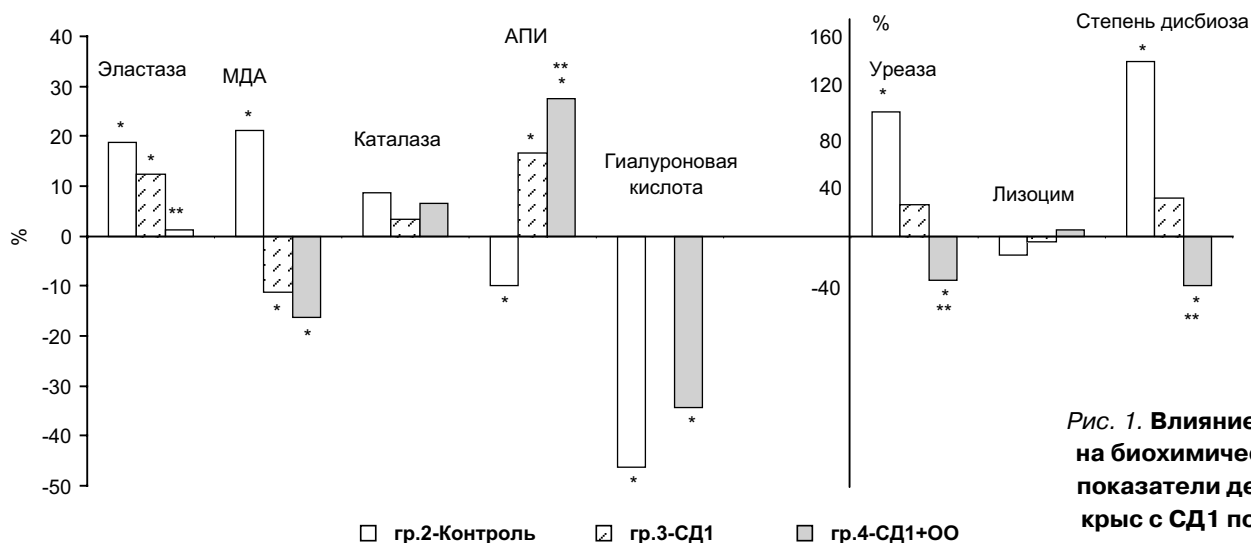


Рис. 1. Влияние АДС на биохимические показатели десны крыс с СД1 после ортодонтической операции + комплекс АДС

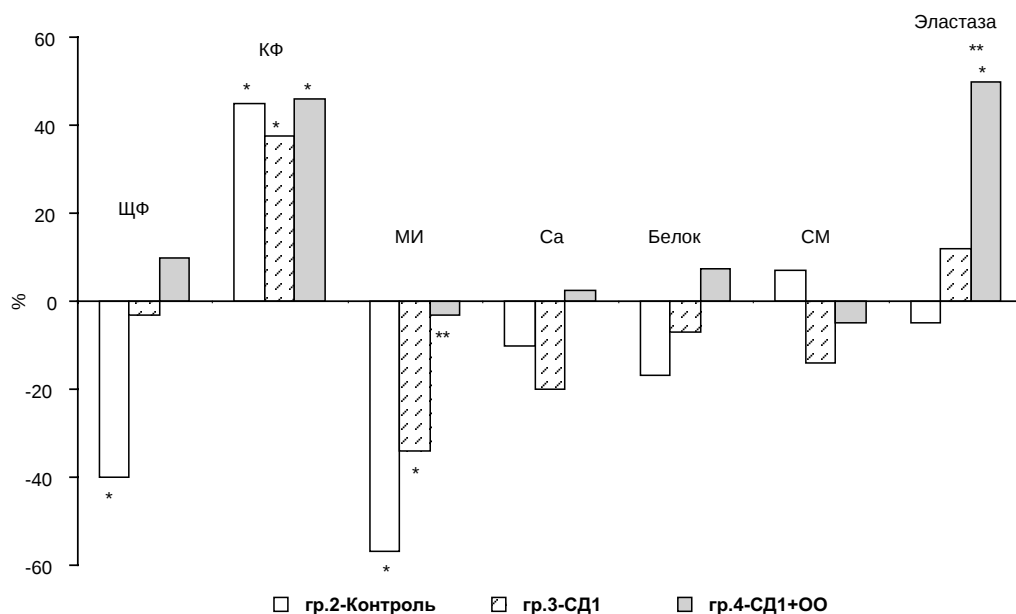


Рис. 2. Влияние комплекса АДС на биохимические показатели костной ткани пародонта крыс с СД1 после ортодонтической операции + комплекс АДС

Таблица 3. Влияние АДС на уровень глюкозы и эластазы в сыворотке крови крыс с диабетом после ортодонтической операции ($M \pm m$)

№ п/п	Группы	Глюкоза, ммоль/л	Эластаза, мк-кат/л
1	Контроль	$7,5 \pm 0,5$	161 ± 8
2	Диабет	$11,5 \pm 0,5$ $p < 0,01$	211 ± 10 $p < 0,01$
3	Диабет + ортодонтическая операция	$9,6 \pm 0,5$ $p < 0,05; p_1 < 0,05$	215 ± 13 $p < 0,05; p_1 > 0,5$
4	Диабет + ортодонтическая операция + АДС	$7,8 \pm 0,1$ $p > 0,3; p_2 < 0,01$	154 ± 7 $p > 0,3; p_2 < 0,01$

Примечания: p — в сравнении с группой 1; p_1 — в сравнении с группой 2; p_2 — в сравнении с группой 3

3. Композиция из АДС оказывает гипогликемическое, антидисбиотическое и противовоспалительное действие, стимулирует минерализующую активность костной ткани.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии. — М.: Наука, 1965. — С. 298–299.
- Asatiani V.S. Novye metody biohimicheskoj fotometrii. — М.: Nauka, 1965. — С. 298–299.
- Басов А.А., Быков И.М., Мелнонjan К.И. Изменение иммунологической реактивности и процессов свободнорадикального окисления в ротовой жидкости у больных с сахарным диабетом 2 типа // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 2. С. 31–34.
- Basov A.A., Bykov I.M., Melnonjan K.I. Izmenenie immunologicheskoj reaktivnosti i processov svobodnoradikal'nogo okislenija v rotovoj zhidkosti u bol'nyh s saharnym diabetom 2 tipa // Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij. 2014. № 2. С. 31–34.
- Гороховский В.Н., Деньга О.В., Деньга А.Э., Мирчук Б.Н. Моделирование ортодонтического перемещения зубов у крыс / В кн. Шнайдер С.А., Левицкий А.П. «Экспериментальная стоматология». Ч. 1. «Экспериментальные модели стоматологических заболеваний». — Одесса, 2017. — С. 128–132.
- Gorohivskij V.N., Den'ga O. V., Den'ga A. E., Mirchuk B. N. Modelirovanie ortodonticheskogo peremeshhenija zubov u krysov / V kn. Shnajder S.A., Levickij A. P. «Eksperimental'naja stomatologija». Ch. 1. «Eksperimental'nye modeli stomatologicheskikh zabolevanij». — Odessa, 2017. — С. 128–132.
- Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике. 3-е изд. — Одесса: Экология, 2005. — 616 с.
- Gorjachkovskij A. M. Klinicheskaja biohimija v laboratornoj diagnostike. 3-e izd. — Odessa: Ekologija, 2005. — 616 s.
- Демьяненко С.А., Морозов А.Л., Деньга А.Э. Влияние экспериментальной ортодонтической операции на состояние пародонта у крыс с метаболическим синдромом // Пародонтология. 2017. Т. XXIII. № 4 (85). С. 4–7.
- Dem'janenko S. A., Morozov A. L., Den'ga A. E. Vlijanie eksperimental'noj ortodonticheskoy operacii na sostojanie parodonta u krysov s metabolicheskim sindromom // Parodontologija. 2017. T. XXIII. № 4 (85). S. 4–7.
- Левицкий А.П. Лизоцим вместо антибиотиков. — Одесса: КП ОГТ, 2005. — 74 с.
- Levickij A. P. Lizocim vmesto antibiotikov. — Odessa: KP OGT, 2005. — 74 s.

- Левицкий А.П. Применение антидисбиотических средств в стоматологии // Вісник стоматології. 2014. № 3. С. 89–92.
- Levickij A. P. Primenenie antidisbioticheskikh sredstv v stomatologii // Visnik stomatologii. 2014. № 3. С. 89–92.
- Левицкий А.П., Волянский Ю.Л., Скидан К.В. Пребиотики и проблема дисбактериоза. — Харьков: ЭДЭНА, 2008. — 100 с.
- Levickij A. P., Voljanskij Ju. L., Skidan K. V. Prebiotiki i problema disbakterioza. — Har'kov: EDENA, 2008. — 100 s.
- Левицкий А.П., Деньга О.В., Макаренко О.А. и др. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации. — Одесса, 2010. — 16 с.
- Levickij A. P., Den'ga O. V., Makarenko O. A. i dr. Biohimicheskie markery vospaleniya tkanej rotovoj polosti: metodicheskie rekomendacii. — Odessa, 2010. — 16 s.
- Левицкий А.П., Макаренко О.А., Деньга О.В. и др. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации. — Киев: ГФЦ, 2005. — 50 с.
- Levickij A. P., Makarenko O. A., Den'ga O. V. i dr. Eksperimental'nye metody issledovanija stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendacii. — Kiev: GFC, 2005. — 50 s.
- Левицкий А.П., Макаренко О.А., Селиванская И.А. и др. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: методические рекомендации. — Киев: ГФЦ, 2007. — 23 с.
- Levickij A. P., Makarenko O. A., Selivanskaja I. A. i dr. Fermentativnyj metod opredelenija disbioza polosti rta dlja skringa pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendacii. — Kiev: GFC, 2007. — 23 s.
- Левицкий А.П., Цисельский Ю.В. Дисбиоз, диабетическая ретинопатия и пребиотики. — Одесса: КП ОГТ, 2012. — 197 с.
- Levickij A. P., Cisel'skij Ju. V. Disbioz, diabeticheskaja retinopatija i prebiotiki. — Odessa: KP OGT, 2012. — 197 s.
- Машченко И.С., Гударьян А.А. Иммунобиохимические механизмы развития различных клинических вариантов течения генерализованного пародонтита у больных сахарным диабетом 2 типа // Украинский стоматологический альманах. 2004. № 1–2. С. 31–34.
- Mashhenko I. S., Gudar'jan A. A. Immunobiohimicheskie mehanizmy razvitiya razlichnyh klinicheskikh variantov techenija generalizovannogo parodontita u bol'nyh saharnym diabetom 2 tipa // Ukrainskij stomatologicheskij al'manah. 2004. № 1–2. S. 31–34.

Поступила 13.09.2017

Координаты для связи с авторами:

295007, г. Симферополь, б-р Ленина, д. 5/7, корп. 7А, каб. 12

E-mail: dc.kvalitet@gmail.com