

Рожко П.Д.,

к. мед. н.,

Одесский национальный медицинский университет

Денга О.В.,

д. мед. н.,

Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины»

Макаренко О.А.

д. биол. н.

Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины»

[DOI: 10.24411/2520-6990-2020-12124](https://doi.org/10.24411/2520-6990-2020-12124)**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА, УСТАНОВКЕ ИМПЛАНТАТОВ И ПРОВЕДЕНИИ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ МЕРОПРИЯТИЙ****Rozhko P.D.,**

Odessa National Medical University

Denga O.V.,

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

Makarenko O.A.

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

RAT BLOOD SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS IN MODELING DIABETES MELLITUS TYPE 2 UPON IMPLANTATION AND THERAPEUTIC-PREVENTIVE MEASURES**Аннотация.**

Проведенные исследования сыворотки крови крыс при моделировании сахарного диабета 2 типа свидетельствуют о снижении неспецифической, антимикробной и антиоксидантной защиты организма, интенсификации системного воспаления, активации перекисного окисления липидов и развитии бактериемии. Установка имплантатов на верхнюю челюсть животных с сахарным диабетом 2 типа привела к дополнительному снижению факторов неспецифической резистентности (активности каталазы и лизоцима) с одновременным увеличением степени бактериемии, генерализованного дисбиоза и активации перекисного окисления липидов. Проведение при этом разработанных профилактических мероприятий привело к стабилизации уровня глюкозы и малонового диальдегида, снижению активности эластазы и уреазы, степени дисбиоза, а также позволило сохранить на высоком уровне показатели неспецифической защиты – активность каталазы и лизоцима в сыворотке крови крыс.

Abstract

Studies of rat blood serum upon modeling type 2 diabetes mellitus indicate a decrease in nonspecific, antimicrobial and antioxidant defense of organism, intensification of systemic inflammation, activation of lipid peroxidation and development of bacteremia. Conducted dental implantation on the upper jaw of animals with type 2 diabetes led to an additional decrease in nonspecific resistance factors (catalase and lysozyme activity) with a simultaneous increase in the degree of bacteremia, generalized dysbiosis and activation of lipid peroxidation. At the same time, developed preventive measures lead to stabilization of glucose and malondialdehyde level, decrease of elastase and urease activity, degree of dysbiosis and also allowed to maintain high levels of non-specific protection - the activity of catalase and lysozyme in rat blood serum.

Ключевые слова: крысы, сыворотка крови, сахарный диабет, имплантаты, профилактический комплекс.

Keywords: rats, blood serum, diabetes mellitus, implants, prophylactic complex.

Сахарный диабет (СД) является одним из самых сложных соматических заболеваний, оказывающих негативное влияние на процессы остеоинтеграции при протезировании на дентальных имплантатах [1]. При данной соматике происходит нарушение углеводного обмена в организме (уровень глюкозы в крови), снижение иммунитета и резистентности в полости рта, нарушение микробиотического, зубодесневого прикрепления, появление

патологических зубодесневых карманов, поражение микрососудов, повышенная их проницаемость, хроническое воспаление в тканях пародонта [2-7].

Поэтому терапевтическое сопровождение ортопедического лечения с опорой на имплантаты пациентов с СД и метаболическими нарушениями играет важнейшую роль в остеоинтеграции у них имплантатов и стабилизации полученных результатов

лечения. Естественно, что разработка лечебно-профилактического комплекса (ЛПК) сопровождения ортопедического лечения таких пациентов требовала предварительных экспериментальных исследований.

Цель исследования. Оценка биохимических показателей сыворотки крови крыс в процессе моделирования сахарного диабета 2 типа, фиксации имплантатов и проведения лечебно-профилактических мероприятий.

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 последующих 5 дней [8].

Профилактику комплексом препаратов 4-й группе крыс начинали проводить 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; фитоконцентрат «Имуникум» (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 «Алфа-

вит» (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 собирали кровь для получения сыворотки крови, которую до исследования хранили при -30°C . В сыворотке крови проводили определение уровня глюкозы [9] содержания малонового диальдегида (МДА), активности каталазы, эластазы, уреазы, лизоцима [10].

Результаты исследования и их обсуждение.

В таблице 1 приведены данные исследования в сыворотке крови крыс уровня глюкозы и активности антиоксидантного фермента каталазы. Как видно воспроизведение СД 2 типа при помощи регулярных инъекций протамин сульфата вызвало достоверное увеличение содержания глюкозы на 24,0 %. Проведение фиксации имплантатов не оказало существенного влияния на содержание глюкозы в сыворотке крови крыс 3-й группы, которое сохранилось на уровне значений у крыс 2-й группы. При этом профилактическое введение комплекса препаратов в сочетании с регулярным орошением полости рта животных на фоне развития СД 2 типа эффективно предотвращало повышение уровня сахара в крови крыс 4-й группы (табл. 1).

Таблица 1

Содержание глюкозы и активность каталазы в сыворотке крови крыс при развитии сахарного диабета 2 типа, после фиксации имплантатов и проведения профилактики

Группы крыс	Содержание глюкозы, ммоль/л	Активность каталазы, мкат/л
Интактная	$5,95 \pm 0,38$	$0,43 \pm 0,02$
СД 2 типа	$7,38 \pm 0,64$ $p < 0,05$	$0,35 \pm 0,02$ $p < 0,05$
СД 2 типа + фиксация имплантатов	$7,70 \pm 0,51$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	$0,28 \pm 0,01$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
СД 2 типа + фиксация имплантатов + профилактика	$6,45 \pm 0,43$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_2 = 0,05$	$0,41 \pm 0,01$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$

Примечание. p – показатель достоверности отличий от интактной группы;

p_1 – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа»;

p_2 – показатель достоверности отличий от группы «СД 2 типа + фиксация имплантатов».

Моделирование патологии СД 2 типа на фоне увеличения глюкозы привело к снижению антиоксидантной защиты организма крыс 2-й группы, о чём свидетельствовало уменьшение активности каталазы на 18,6 % в сыворотке крови этих животных. Установка имплантатов крысам 3-й группы вызвала еще более значительное снижение активности антиоксидантной системы – уменьшение активности каталазы на 34,9 %. Профилактические мероприятия, которые проводили у животных 4-й группы эффективно предотвращали снижение активности сывороточной каталазы, вызванное фиксацией имплантатов на фоне развития экспериментального СД 2 типа. Активность основного фермента антиоксидантной защиты организма в сыворотке крови крыс 4-й группы при этом достоверно повысилась и соответствовала значениям у интактных животных. Результаты свидетельствуют

об антигликемическом и антиоксидантном влиянии компонентов предлагаемого ЛПК в условиях развития СД 2 типа и экспериментальной установки имплантатов (табл. 1).

В сыворотке крови крыс, у которых моделировали СД 2 типа, зарегистрировано также повышение активности уреазы в 1,7 раза с одновременным уменьшением активности лизоцима на 29,5 % (табл. 2). Эти результаты указывают на о снижение неспецифической антимикробной защиты в организме при развитии СД 2 типа и, как следствие, развитии бактериемии. После фиксации имплантатов у крыс 3-й группы исследуемые показатели изменились еще в большей степени активность уреазы повысилась – в 2,3 раза, а активность лизоцима снизилась – на 48,9 % по сравнению со значениями у интактных крыс (табл. 2).

Таблица 2

Активность уреазы, лизоцима и каталазы в сыворотке крови крыс с сахарным диабетом 2 типа после фиксации имплантатов и проведения профилактики

Группы крыс	Активность уреазы, нкат/л	Активность лизоцима, ед/л	Степень дисбиоза
Интактная	2,1 ± 0,3	83,8 ± 7,6	1,02 ± 0,1
СД 2 типа	3,5 ± 0,4 p < 0,04	59,1 ± 5,6 p < 0,012	2,37 ± 0,18 p < 0,001
СД 2 типа + фиксация имплантатов	4,8 ± 0,3 p < 0,001 p ₁ < 0,01	42,8 ± 4,1 p < 0,001 p ₁ < 0,05	4,47 ± 0,27 p < 0,001 p ₁ < 0,001
СД 2 типа + фиксация имплантатов + профилактика	2,0 ± 0,2 p > 0,05 p ₁ < 0,005 p ₂ < 0,001	68,0 ± 2,7 p = 0,1 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,001	1,17 ± 0,09 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».

Пероральное введение животным 4-й группы препаратов профилактического комплекса с одновременным орошением полости рта эффективно предупреждало нарушения в сыворотке крови, вызванные моделированием СД 2 типа и установкой имплантатов. Активность уреазы в сыворотке крови крыс, которым проводили профилактику, существенно уменьшилась и соответствовала нормальному уровню. Уровень активности лизоцима в сыворотке крови крыс 4-й группы под влиянием профилактики достоверно превышал значения у животных 3-й группы, но не повысился до нормы.

Расчетные показатели степени дисбиоза характеризует состояние «антимикробная защита – условно-патогенные бактерии» в организме. крысо-

делирование СД 2 типа у крыс 2-й группы животных вызвало увеличение степени дисбиоза в 2,4 раза. Установка имплантатов крысам 3-й группы привела к более существенному повышению степени генерализованного дисбиоза – зарегистрировано увеличение в 4,5 раза по сравнению с интактной группой и в 1,9 раза по отношению к уровню этого показателя у крыс 2-й группы с СД 2 типа. Введение профилактических препаратов и орошение полости в полости рта у животных с СД 2 типа после установки имплантатов позволило существенно снизить степень дисбиоза практически до нормального уровня (табл. 2).

Результаты исследования маркеров воспаления в сыворотки крови экспериментальных животных приведены в таблице 3.

Маркеры воспаления в сыворотке крови крыс с сахарным диабетом 2 типа после фиксации имплантатов и проведения профилактики

Группы крыс	Содержание МДА, ммоль/л	Активность эластазы, мк-кат/л
Интактная	0,86 ± 0,03	120,1 ± 3,6
СД 2 типа	1,04 ± 0,07 p < 0,05	149,0 ± 11,4 p < 0,05
СД 2 типа + фиксация имплантатов	1,21 ± 0,05 p < 0,001 p ₁ < 0,05	129,1 ± 7,9 p > 0,05 p ₁ > 0,05
СД 2 типа + фиксация имплантатов + профилактика	0,93 ± 0,07 p > 0,05 p ₁ > 0,05 p ₂ < 0,005	109,5 ± 3,0 p < 0,05 p ₁ < 0,005 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».

Приведенные результаты свидетельствуют, что в сыворотке крови крыс 2-й группы, которым моделировали СД 2 типа при помощи инъекций протамина, отмечено достоверное увеличение маркеров воспаления – содержания МДА – на 32,4 % и активности эластазы – на 31,6 %. Полученные данные говорят о наличии у крыс 2-й группы системного воспаления и активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) (табл. 3).

Фиксация имплантатов крысам 3-й группы способствовала еще большему повышению уровня МДА, но не изменила активность эластазы в сыворотке крови, что указывает на интенсификацию ПОЛ в организме животных под влиянием фиксации имплантатов на фоне развития СД 2 типа (табл. 3).

Регулярное введение комплекса профилактических препаратов эффективно препятствовало повышению уровня МДА, и одновременно способствовало существенному снижению активности эластазы в сыворотке крови животных 4-й группы. По сравнению с показателями у крыс 3-й группы (СД 2 типа + фиксация имплантатов) в сыворотке крови крыс, получавших профилактику, содержание МДА было снижено – на 23,1 % и активность эластазы – на 15,2 %. При этом уровень МДА достоверно не отличался от соответствующих значений в сыворотке крови интактной группы крыс, а активность эластазы была ниже уровня у интактных крыс. Приведенные результаты свидетельствуют об активации системного воспаления и интенсификации ПОЛ в организме животных на фоне развития СД 2 типа, усугублении процессов ПОЛ после фиксации имплантатов. Кроме того, полученные данные убедительно доказывают антиоксидантную и противовоспалительную эффективность ЛПК (табл. 3).

Выводы. Таким образом, подводя итог исследованию сыворотки крови крыс, можно заключить о развитии СД 2 типа под влиянием инъекций протамина, а именно – наличии гипергликемии, снижении неспецифической антимикробной и антиокси-

дантной защиты организма и, как следствие, интенсификации системного воспаления, активации ПОЛ и развитии бактериемии. Установка имплантатов на верхнюю челюсть животных с СД 2 типа практически не повлияла на уровень глюкозы и интенсивность системного воспаления, но привела к большему снижению факторов неспецифической резистентности (активности каталазы и лизоцима) с одновременным увеличением степени бактериемии, генерализованного дисбиоза и активации ПОЛ.

Проведение профилактических мероприятий по предлагаемой схеме эффективно предупреждало зарегистрированные нарушения в сыворотке крови животных с СД 2 типа и после установки имплантатов. При помощи комплекса препаратов удалось стабилизировать уровень глюкозы и МДА, активность эластазы и уреазы, степень дисбиоза, а также сохранить на высоком уровне показатели неспецифической защиты – активность каталазы и лизоцима в сыворотке крови крыс, которым устанавливали импланты на фоне моделирования СД 2 типа.

Список литературы

1. Никитин В.С. Особенности дентальной имплантации у пациентов с сахарным диабетом / В.С. Никитин, О.П. Капитонова, И.Н. Антонова // Эндокринология. – 2015. – №6(35). – С. 25-31.
2. Reva G.V., Tolmachev V.E., Pervov Y.Y. et al. An experience of dental implantation in patients with parodontal inflammatory diseases with local immune homeostasis control // Fundamental Researches. – 2013. – №5 (1). – P. 129–134.
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 // Український медичний часопис. – 2002. – № 3 (29). – С. 5.
5. Дедов И.И.. Скрининг осложнений сахарного диабета как метод оценки лечебно-профилакти-

тической помощи больным / И.И. Дедов, Ю.И. Сунцов, Л.Л. Болотская // Сахарный диабет. – 2006. – № 4 (33). – С. 38-42.

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

7. 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.

8. Ульянов А. М. Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина / А. М. Ульянов, Ю. А. Тарасов // Вопр. мед. химии. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 149-154.

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

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