

УДК 616.314.18-002.4:379-008.64-678:547.466.6:577.164.2]-092.9

ВЛИЯНИЕ КОМБИНИРОВАННЫХ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА ИЗ КОРНЯ ЭХИНАЦЕИ, АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТЫ И ЦИНКА АСПАРАГИНАТА НА ЦИТОКИНОВЫЙ СТАТУС КРЫС С ОСТРЫМ ПАРОДОНТИТОМ НА ФОНЕ САХАРНОГО ДИАБЕТА 2 ТИПА

Дуда К.М., Клищ И.Н., Марущак М.И.

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗО Украины», Тернополь, Украина

Исследования проводились на белых беспородных крысах-самцах, которым моделировали диабет 2 типа путем введения животным никотинамида и стрептозотоцина. Влияние диабета на течение воспаления при пародонтите изучали на модели воспаления, вызванного острой травмой мягких тканей десны. Выявлено прогрессирующее снижение противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10 при моделированной патологии. Введение комбинированных таблеток «Эхцивит» крысам с острым пародонтитом на фоне сахарного диабета 2 типа активирует противовоспалительные механизмы на восьмой день эксперимента, о чем свидетельствуют более высокие уровни IL-4 и IL-10 ($p < 0,001$).

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, острый пародонтит, цитокины, коррекция.

Введение. В настоящее время во всем мире распространенность заболеваний пародонта составляет около 98% [10], тогда как среди населения Украины – 80%, а у 100% лиц старше 40 лет обнаруживают патологические изменения в тканях пародонта [5]. Нужно отметить, что чаще всего встречается острый, агрессивный, быстро протекающий пародонтит, который имеет практически непрерывное рецидивирующее протекание [3].

Известно, что весомый вклад в развитие пародонтальной патологии имеют не только местные факторы, но и системные процессы, которые ведут к глубоким изменениям внутренней среды организма и к структурному поражению тканей пародонта [1, 2]. Данные А.И. Проданчук и соавт. указывают на большое количество научных работ, изучающих влияние сахарного диабета на развитие и течение воспалительных и воспалительно-дистрофических заболеваний пародонта [8]. Straka M. утверждает, что заболеваемость на генерализованный пародонтит у пациентов с диабетом регистрируется в три раза чаще, чем среди лиц, у которых отсутствует сахарный диабет [13]. Высокая распространенность заболеваний пародонта, их тесная взаимосвязь с соматической патологией, отсутствие эффективных методов диагностики, профилактики и лечения обостряют актуальность этой проблемы.

Цель исследования. Изучить влияние комбинированных таблеток на основе экстракта корня эхинацеи, аскорбиновой кислоты и цинка аспарагината на характер изменений концентрации интерлейкинов 4 и 10 у крыс с острым пародонтитом на фоне сахарного диабета 2 типа в динамике.

Материалы и методы исследования. Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах массой тела 180-200 г, полученных из вивария ТГМУ, согласно требованиям «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» и соответственно принципам экспериментальной и клинической биоэтики [6]. Животные находились на полноценном рационе вивария со свободным доступом к воде. При выборе экспериментальной модели стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета мы опирались на рекомендации А.А. Спасова и соавт. [9], которые в своей работе показали, что при предварительном введении никотинамида повышается устойчивость β -клеток островков Лангерганса

от повреждающего действия стрептозотоцина. Это позволяет смоделировать состояние, максимально близкое к сахарному диабету 2 типа, который проявляется умеренной и стабильной гипергликемией, присутствием глюкозы в моче без явлений ацидоза. Экспериментальный сахарный диабет вызывали путем однократного внутрибрюшинного введения стрептозотоцина фирмы «Sigma» из расчета 6,5 мг на 100 г массы тела (приготовленном на 0,1 моль цитратном буфере, $pH=4,5$) с предварительным за 15 мин. введением интраперитонеально никотинамида в дозе 230 мг/кг. Контроль – интактные белые крысы такого же веса, пола и возраста. Развитие сахарного диабета контролировали по возрастанию уровня глюкозы в крови, которую измеряли глюкозооксидазным методом с использованием набора реактивов «Филисит-диагностика» (Украина). Исследования проводились с 21-ой сутки эксперимента на животных с уровнем глюкозы ($14,7 \pm 0,29$) ммоль/л.

Влияние сахарного диабета на течение воспалительного процесса при пародонтите изучали на модели воспаления, вызванного острой травмой мягких тканей десны [7]. Животным под тиопенталовым наркозом (30 мг/кг) с губной стороны к тканям пародонта нижнего резца подводили рабочую головку ультразвукового генератора – излучатель от ультразвукового скейлера ART (Великобритания), и в течение 60 сек. осуществляли однократное направленное влияние колебаниями ультразвуковой частоты при следующих параметрах воздействия: частота колебаний 50 кГц, мощность излучения $1,2 \text{ Вт}\cdot\text{см}^2$ при экспозиции воздействия 60 сек. Операцию проводили на 21-е сутки после первого введения стрептозотоцина при уровне глюкозы ($14,7 \pm 0,29$) ммоль/л. Через 1 и 7 суток после операции крыс декапитировали под тиопенталовым наркозом (50 мг/кг). Группами сравнения служили животные с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа и крысы с острой механической травмой мягких тканей десны. Контролем служил материал от интактных животных.

Для комбинированных таблеток «Эхцивит», которые мы применяли 1 раз в сутки, условно терапевтическую дозу для лабораторных животных определяли по общему содержанию активных веществ (экстракта корня эхинацеи - 100 мг/табл., аскорбиновой кислоты - 300 мг/табл. и цинка аспарагината - 25 мг/табл., всего: 425 мг/табл.), которая составляет для крыс -

37 мг/кг, но если определять эту дозу по содержанию экстракта корня эхинацеи, то она составляет 10 мг/кг. Исследуемые образцы суспензировали с дистиллированной водой и вводили в течение трех недель после первого введения стрептозоцина и в течение следующих первых и 8-ми суток моделирования острого пародонтита внутрижелудочно с помощью металлического зонда в расчете на 1 мл/кг.

В сыворотке крови животных определяли концентрацию интерлейкинов 4 (IL-4) и IL-10 иммуноферментным методом с использованием анализатора Stat Fax (USA). Концентрацию цитокинов выражали пг/мл. Полученные цифровые данные обрабатывались методом вариационной статистики. Статистическую обработку цифровых данных осуществляли с помощью программного обеспечения «Excel» («Microsoft», США) и «STATISTICA» 6.0 («Statsoft», США) с использованием параметрических и непараметрических методов оценки полученных данных. Для всех показателей рассчитывали значение средней арифметической выборки (M), ее дисперсии и ошибки средней (m). Достоверность различий значений между независимыми количественными величинами определяли при нормальном распределении по критерию Стьюдента, в других случаях - с помощью U-критерия Манна-Уитни [4].

Результаты и обсуждение. Цитокины относятся к центральным регуляторам иммунного гомеостаза и обладают широким спектром биологических эффектов, являясь важнейшими регуляторами функций практически всех клеток системы иммунитета. Анализ результатов исследования показал достоверное снижение концентрации противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс с экспериментальным сахарным диабетом 2 типа (табл. 1), что совпадает с данными других авторов [12].

При экспериментальном остром пародонтите отмечено достоверное снижение концентрации IL-4 на 2-е сутки опыта с прогрессирующим уменьшением до конца седьмого дня, когда уровень изучаемого показателя был меньше на 50,9% относительно контрольных значений ($p < 0,001$). Анализируя динамику другого противовоспалительного цитокина, установили тенденцию к снижению IL-10 в течение первых суток с достоверным уменьшением его концентрации на 28,4% в сыворотке крови крыс на восьмой день острого пародонтита у интактных животных ($p < 0,001$).

Таблица 1 - Уровень провоспалительных цитокинов у крыс с моделируемым острым пародонтитом на фоне экспериментального сахарного диабета 2 типа в динамике ($M \pm m$)

Экспериментальная модель	сыворотка крови	
	IL-4	IL-10
Контроль (n=12)	3,42±0,26	16,79±0,57
Сахарный диабет (n=12)	2,55±0,15*	13,47±0,95*
Острый пародонтит, 2-ые сутки (n=12)	2,27±0,11*	15,29±0,55
Сахарный диабет+острый пародонтит, 2-ые сутки (n=12)	2,47±0,21*	12,12±0,34*
Острый пародонтит, 8-ые сутки (n=12)	1,68±0,12*#	12,03±0,22*#
Сахарный диабет+острый пародонтит, 8-ые сутки (n=12)	1,5±0,12*#	10,15±0,20*#

Примечание: * – разница достоверна по сравнению с контрольными животными ($p < 0,05$), # – разница достоверна по сравнению с животными одной экспериментальной модели в разные сутки ($p < 0,05$).

Mealey B.L. и Rose L.F. показали, что при сахарном диабете цитокины сами по себе обладают большим деструктивным потенциалом, особенно при обострениях хронического воспаления тканей пародонта [11]. В нашем исследовании при моделировании у крыс острого пародонтита на фоне сахарного диабета 2 типа отмечено достоверное уменьшение через первые сутки концентрации противовоспалительных цитокинов на 27,7% ($p < 0,001$) с прогрессирующим снижением к восьмому дню IL-4 в 2,3 раза и IL-10 – в 1,7 раза относительно контроля ($p < 0,001$) (табл. 1). Предположено, что при остром пародонтите на фоне экспериментального сахарного диабета 2 типа увеличивается воспалительная реакция и происходит дисрегуляция продукции интерлейкинов, что проявляется гиперпродукцией провоспалительных цитокинов, которые блокируют синтез противовоспалительных цитокинов.

При введении комбинированных таблеток «Эхцивит» крысам с острым пародонтитом на фоне сахарного диабета 2 типа отмечено достоверное увеличение концентрации IL-10 на 15,1% относительно опытной группы до лечения ($p < 0,05$) на 2-е сутки эксперимента. Такая же тенденция выявлена и через 7 суток моделирования острого пародонтита на фоне сахарного диабета 2 типа, о чем свидетельствует достоверно более высокий уровень IL-10 при применении «Эхцивита» (на 14,1% по отношению к исследуемой патологии без медикаментозной коррекции на эти же сутки ($p < 0,001$)) (рис. 1). Анализируя динамику другого противовоспалительного цитокина на фоне применения комбинированных таблеток «Эхцивит» установлена тенденция к повышению концентрации IL-4 на второй день эксперимента с достоверным ростом его уровня через 7 суток (на 19,8% по отношению к исследуемой патологии без медикаментозной коррекции на эти же сутки ($p < 0,001$)) (рис. 1).

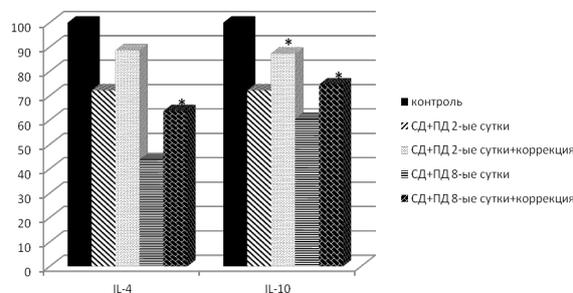


Рисунок 1 - Влияние комбинированных таблеток на концентрацию провоспалительных цитокинов в сыворотке крови крыс с острым пародонтитом на фоне сахарного диабета 2 типа в динамике

Примечание: * – разница достоверна по сравнению с животными до и после коррекции ($p < 0,05-0,001$)

Учитывая многокомпонентность таблеток «Эхцивит», можно предположить, что эхинацея пурпурная проявляет избирательное иммуностимулирующее действие, повышает функциональную активность и количество Т-лимфоцитов, которые активно секретируют противовоспалительные цитокины, а аскорбиновая кислота и цинк, кроме антиоксидантных свойств, проявляют противовоспалительное действие путем снижения секреции провоспалительных цитокинов и активации продукции противовоспалительных интерлейкинов. При острой травме

мягких тканей десны на фоне сахарного диабета 2 типа экстракт корня эхинацеи, проявляя иммуномодулирующие свойства, потенцирует действие аскорбиновой кислоты и цинка аспарагината, что ведет к уменьшению деструктивных процессов в пародонте.

Выводы

1. При экспериментальном остром пародонтите на фоне сахарного диабета 2 типа происходят нарушения функционирования иммунной системы, которые характеризуются прогрессирующим снижением противовоспалительных цитокинов IL-4 и IL-10, что указы-

вает на их участие в патогенезе острого пародонтита.

2. При введении комбинированных таблеток на основе экстракта корня эхинацеи, аскорбиновой кислоты и цинка аспарагината крысам с острым пародонтитом на фоне сахарного диабета 2 типа активируются противовоспалительные механизмы на восьмой день эксперимента, о чем свидетельствуют более высокие уровни IL-4 и IL-10 при применении «Эхцивита» соответственно на 19,8 % и 14,1 % по отношению к исследуемой патологии без медикаментозной коррекции ($p < 0,001$).

Литература

1. Горбачева И. А. Единство системных патогенетических механизмов при заболеваниях внутренних органов, ассоциированных с генерализованным пародонтитом / И. А. Горбачева, А. И. Кирсанов, Л. Ю. Орехова // *Стоматология*. – 2004. – № 3. – С. 6-11.
2. Заверная А. М. Методы оценки и коррекции иммунных нарушений у больных дистрофически-воспалительными и воспалительно-дистрофическими заболеваниями пародонта и слизистой оболочки полости рта / А. М. Заверная, Т. Н. Волосовец, А. С. Андрусенко // *Дентальные технологии*. – 2005. – № 5/6. – С. 13-15.
3. Клинико-лабораторное обоснование эффективности лечения агрессивных форм пародонтита / Д. А. Мамедли, А. Ч. Пашаев, С. А. Мамедова // *Стоматология детского возраста и профилактика*. – 2009. – Т. 8, № 2. – С. 1-20.
4. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К.: Морион, 2000. – 320 с.
5. Машенко И. С. Иммунологические и гормональные аспекты патогенеза генерализованного пародонтита / И. С. Машенко // *Вісн. стоматол. Спеціальний випуск*. – 2003. – № 1. – С. 22-25.
6. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / [Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдінова Г. А.]. – К.: Авіцена, 2002. – 156 с.
7. Патент на корисну модель № 65771: Мачоган В. Р., Авдеев О. В. /Спосіб моделювання пародонтиту // *Бюлетень №23*. – 2011 р.
8. Проданчук А. І. Захворювання пародонта і соматична патологія / А. І. Проданчук, І. Д. Кіюн, М. О. Кройтор // *Буковинський медичний вісник*. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 164-167.
9. Экспериментальная модель сахарного диабета типа 2 / А. А. Спасов, М. П. Воронкова, Г. Л. Снигур [и др.] // *Биомедицина*. – 2011. – №3. – С.12-18.
10. Borrell L. N. Analytical epidemiology of periodontitis / L. N. Borrell, P. N. Papapanou. // *J. Clin. Periodontol.* – 2005. – Vol. 32, Suppl 6. – P.132-158.
11. Mealey B. L. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases / B. L. Mealey, L. F. Rose // *Compend. Contin. Educ. Dent.* –2008. – Vol. 29 (7). – P. 402-4088.
12. Serum Levels of Interleukin 10 (IL-10) in Patients with Type 2 Diabetes / N. Yaghini, M. Mahmoodi, GhR. Asadikaram [et al.] // *IRCMJ*. – 2011. – Vol. 13, Iss. 10. – P. 752.
13. Straka M. Parodontitis a diabetessmellitus / M. Straka // *Progresdend*. – 2001. – № 6. – P. 10-12.

Literatura

1. Gorbacheva I. A. Edinstvo sistemnih patogeneticheskikh mehanizmov pri zabolevaniyah vnutrennih organov, assotsiirovannyih s generalizovaniym parodontitom / I. A. Gorbacheva, A. I. Kirsanov, L. Yu. Orehova // *Stomatologiya*. – 2004. – №3. – S. 6-11.
2. Zavernaya A. M. Metodyi otsenki i korrektsii imunnyih narusheniy u bolnyih distroficheskii- vospalitelnyimi i vospalitelno-distroficheskimi zabolevaniyami parodonta i slizistoy obolochki polosti rta / A. M. Zavernaya, T. N. Volosovets, A. S. Andrusenko // *Dentalnye tehnologii*. – 2005. – № 5/6. – S. 13-15.
3. Kliniko-laboratornoe obosnovanie effektivnosti lecheniya agressivnyih form parodontita / D. A. Mamedli, A. Ch. Pashaev, S. A. Mamedova // *Stomatologiya detskogo vozrasta i profilaktika*. – 2009. – Т. 8, № 2. – S. 1-20.
4. Lapach S. N. Statisticheskie metodyi v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s ispolzovaniem Excel / S. N. Lapach, A. V. Chubenko, P. N. Babich – K.: Morion, 2000. – 320 s.
5. Maschenko I. S. Immunologicheskie i gormonalnyie aspektyi patogeneza generalizovanogo parodontita / I. S. Maschenko // *Vіsn. stomatol. Spetsialnyi vipusk*. – 2003. – # 1. – S. 22-25.
6. Naukovo-praktichni rekomendacii z utrimannya laboratornix tvarin ta roboti z nimi / [kozhem'yakin yu. m., xromov o. s., filonenko m. a., sajfetdinova g. a.]. – k.: avicena, 2002. – 156 s.
7. Patent na korisnu model № 65771: machogan v. r., avdeev o. v. /sposib modelyuvannya parodontitu // *byuletень №23*. – 2011 r.
8. Prodanchuk a. i. zaxvoryuvannya parodonta i somatichna patologiya / a. i. prodanchuk, i. d. kiyun, m. o. krojtor // *bukovinskij medichnij visnik*. – 2012. – t. 16, № 2. – s. 164-167.
9. Eksperimentalnaya model saxarnogo diabeta tipa 2 / a. a. spasov, m. p. voronkova, g. l. snigur [i dr.] // *biomedicina*. – 2011. – №3. – s.12-18.
10. Borrell L. N. Analytical epidemiology of periodontitis / L. N. Borrell, P. N. Papapanou. // *J. Clin. Periodontol.* – 2005. – Vol. 32, Suppl 6. – P.132-158.
11. Mealey B. L. Diabetes mellitus and inflammatory periodontal diseases / B. L. Mealey, L. F. Rose // *Compend. Contin. Educ. Dent.* –2008. – Vol. 29 (7). – P. 402-4088.
12. Serum Levels of Interleukin 10 (IL-10) in Patients with Type 2 Diabetes / N. Yaghini, M. Mahmoodi, GhR. Asadikaram [et al.] // *IRCMJ*. – 2011. – Vol. 13, Iss. 10. – P. 752.
13. Straka M. Parodontitis a diabetessmellitus / M. Straka // *Progresdend*. – 2001. – № 6. – P. 10-12.

EFFECT OF COMBINED TABLETS ON THE BASIS OF ECHINACEA EXTRACT, ASCORBIC ACID AND ZINC ASPARTATE ON CYTOKINE STATUS OF THE RATS WITH ACUTE PERIODONTITIS DURING DIABETES MELLITUS TYPE 2

Duda K.M., Klishch I.M., Marushchak M.I.

SHEE "I.YA. Horbachevsky Ternopil State Medical University", Ternopil, Ukraine

Studies were performed on white mongrel male rats that simulated type 2 diabetes by administering to animals of nicotinamide and streptozotocin. Effect of diabetes on the course of inflammation in periodontitis was studied in a model of inflammation caused by acute trauma of the soft gum tissue. It was detected progressive decline of antiinflammatory cytokines IL-4 and IL-10 in experimental pathology. Introduction combined tablets «Echtsyvit» rats with acute periodontitis and diabetes mellitus type 2 activates antiinflammatory mechanisms on the eighth day of the experiment, as evidenced by higher levels of IL-4 and IL-10 ($p < 0,001$).

Key words: *type 2 diabetes mellitus, acute periodontitis, cytokines, correction.*

Адрес для корреспонденции: e-mail: kateryna06@mail.ru

Поступила 28.11.2013