

УДК 616-092.9

Влияние сочетанной загрузки антибактериальных и противовоспалительных компонентов в микрокапсулы с наночастицами серебра на эффективность геля в коррекции ключевых звеньев патогенеза пародонтита

Савкина А.А., Ленгерт Е.В., Ермаков А.В., Степанова Т.В., Иванов А.Н.

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации
410012, Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112

Хронический пародонтит представляет собой мультифакторное заболевание со сложным этиопатогенезом, включающим воспалительный ответ, эндотелиальную дисфункцию и костную резорбцию как реакции на негативное воздействие пародонтопатогенной флоры. Таргетная доставка активных компонентов, включая антибактериальные, их пролонгированное высвобождение и направленное действие на ключевые звенья патогенеза открывают новые перспективы повышения качества пародонтального лечения. Использование технологий микрокапсулирования позволяет функционально модифицировать стоматологические гели за счёт возможностей регулирования высвобождения активных компонентов.

Цель. Оценить влияние сочетанной загрузки метронидазола и таниновой кислоты в альгинатные микрокапсулы на системные проявления эндотелиальной дисфункции, воспалительный ответ и костную резорбцию при экспериментальном пародонтите у крыс.

Материал и методы. Исследование проведено на 50 крысах-самцах. Группа контроля – 10 интактных крыс. Группа сравнения – 10 животных с экспериментальным пародонтитом (ЭП), опытные группы №1, №2 и №3 включали по 10 крыс с ЭП, которым проводились аппликации геля, содержащего микрокапсулы, загруженные таниновой кислотой (ТК), метронидазолом (МТ) и их сочетанием (ТК+МТ), соответственно. Общая продолжительность эксперимента составляла 5 недель, затем в сыворотке крови оценивали концентрацию маркеров воспалительного ответа (моноцитарного хемоаттрактантного белка 1 и С-реактивного белка), альтерации эндотелия (васкулоэндотелиального фактора роста, sE-селектина, синдекана-1), а также деструкции костной ткани (С-терминальных белковых фрагментов коллагена I типа).

Результаты. Развитие ЭП у крыс сопровождается увеличением концентрации маркеров системного воспалительного ответа, альтерации эндотелия, а также резорбции костной ткани. Применение геля, микрокапсулы которого были загружены одним из активных компонентов (МТ или ТК), снижает уровень маркеров системного воспалительного ответа, альтерации и дисфункции эндотелия и резорбции костной ткани у крыс с ЭП. Комбинация в составе микрокапсул МТ и ТК, у крыс с ЭП эффективнее снижает повышенные концентрации в крови С-реактивного белка, моноцитарного хемоаттрактантного белка-1, фактора роста эндотелия сосудов и фрагментов коллагена I типа по сравнению с аналогами, загруженными только одним из компонентов.

Заключение. Сочетание антибактериальных и противовоспалительных компонентов позволяет добиться наиболее выраженной коррекции ключевых звеньев патогенеза хронического пародонтита, включая воспалительный ответ и его системные проявления, эндотелиальную дисфункцию, а также резорбцию костной ткани.

Ключевые слова: пародонтит; наночастицы; таниновая кислота; метронидазол; деструкция кости.

Для цитирования: Савкина А.А., Ленгерт Е.В., Ермаков А.В., Степанова Т.В., Иванов А.Н. Влияние сочетанной загрузки антибактериальных и противовоспалительных компонентов в микрокапсулы с наночастицами серебра на эффективность геля в коррекции ключевых звеньев патогенеза пародонтита. *Патогенез.* 2024; 22(2): 13–20.

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.13-20

Для корреспонденции: Савкина Ангелина Альбертовна, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБОУ ВО «Саратовский ГМУ имени В.И. Разумовского» Минздрава России «Разработка геля, обеспечивающего доставку нескольких активных компонентов с параллельным пролонгированным высвобождением, для мультитаргетной коррекции нарушений поддерживающего аппарата зубов при пародонтите» (регистрационный номер 124020300003-3).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 15.05.2024.

The influence of combined loading of antibacterial and anti-inflammatory components into microcapsules with silver nanoparticles on the effectiveness of the gel in correcting key links in the pathogenesis of periodontitis

Savkina A.A., Lengert E.V., Ermakov A.V., Stepanova T.V., Ivanov A.N.

V.I. Razumovsky Saratov State Medical University
Bolshaya Kazachjya Str. 112, Saratov 410012, Russian Federation

Chronic periodontitis is a multifactorial disease with a complex etiopathogenesis, including an inflammatory response, endothelial dysfunction and bone resorption as a reaction to the negative impact of periodontal pathogenic flora. Targeted delivery of active components, including antibacterial ones, their prolonged release and directed action on the key links in pathogenesis, open up new prospects for improving the periodontal treatment quality. The use of microencapsulation technologies allows to functionally modify dental gels due to possibility to regulate the release of active components.

The aim of this study was to evaluate the effect of combined loading of metronidazole and tannic acid into alginate microcapsules on systemic manifestations of the inflammatory response, endothelial dysfunction and bone resorption in periodontitis in experimental rats.

Material and methods. *The study was carried out on 50 male rats. Control group – 10 intact rats. Comparison group – 10 animals with experimental periodontitis (EP), experimental groups No. 1, No. 2 and No. 3 each included 10 rats with EP, which received applications of a gel containing microcapsules loaded with tannic acid (TA), metronidazole (MT) and their combination (TA+MT), respectively. The total duration of the experiment was 5 weeks, then the concentration of markers of the inflammatory response (monocyte chemoattractant protein 1 and C-reactive protein), endothelial alteration (vasculoendothelial growth factor, sE-selectin, syndecan-1), and bone tissue destruction (C-terminal protein fragments of type I collagen) was assessed in the blood serum.*

Results. *The development of EP in rats is accompanied by an increase in the concentration of markers of the systemic inflammatory response, alteration of the endothelium, as well as bone tissue resorption. The use of a gel, microcapsules of which were loaded with TA or MT separately, reduces the level of markers of the systemic inflammatory response, alteration and dysfunction of the endothelium and bone resorption in rats with EP. The combination of TA and MT in microcapsules in rats with EP effectively reduces elevated blood concentrations of C-reactive protein, monocyte chemotactic protein-1, vascular endothelial growth factor and type I collagen fragments compared to analogues loaded with only one of the components.*

Conclusion. *The combination of antibacterial and anti-inflammatory components allows achieving the most pronounced correction of key links in the pathogenesis of chronic periodontitis, including the inflammatory response and its systemic manifestations, endothelial dysfunction, and bone tissue resorption.*

Key words: *periodontitis; nanoparticles; bone destruction; tannic acid; metronidazole.*

For citation: Savkina A.A., Lengert E.V., Ermakov A.V., Stepanova T.V., Ivanov A.N. [The influence of combined loading of antibacterial and anti-inflammatory components into microcapsules with silver nanoparticles on the effectiveness of the gel in correcting key links in the pathogenesis of periodontitis]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2024; 22(2): 13-20. (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2024.02.13-20

For correspondence: Savkina Angelina Albertovna, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru

Funding. The work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education "V.I. Razumovsky Saratov State Medical University" of the Ministry of Health of Russia "Development of a gel providing delivery of several active components with parallel prolonged release for multi-target correction of disorders of the supporting apparatus of teeth in periodontitis" (registration number 124020300003-3).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 15.05.2024.

Введение

Хронический пародонтит представляет собой мультифакторное заболевание со сложным этиопатогенезом, который включает взаимодействие пародонтопатогенной микрофлоры, с комплексом механизмов специфической и неспецифической защиты организма. Воспалительная реакция при пародонтите не ограничивается только пародонтальными тканями, а сопровождается системным воспалительным ответом. Кроме, того одним из системных проявлений пародонтита в последние годы считают эндотелиальную дисфункцию (ЭД). Локальные изменения функционального состояния эндотелия способствуют увеличению проницаемости сосудов в пародонтальных тканях, что облегчает проникновение воспалительных медиаторов и клеток иммунной системы в ткани, усиливая воспалительный процесс. ЭД в комплексе тканей поддерживающего аппарата зубов

приводит к нарушению кровоснабжения, что ухудшает условия, обеспечивающие регенерацию. Системный характер ЭД при пародонтите обуславливает широкий спектр патогенетических взаимосвязей с различной соматической патологией, включая заболевания сердечно-сосудистой системы. В совокупности, нарушения функций сосудистой стенки могут способствовать усилению разрушения костной ткани и снижению процессов её ремоделирования [1]. Резорбция костной ткани является серьёзным последствием пародонтита, развивающимся вследствие длительно существующего воспалительного процесса в пародонтальных карманах на фоне взаимодействия пародонтопатогенной микрофлоры и иммунокомпетентных клеток организма. В свою очередь убыль кости при пародонтите приводит к оголению корней зубов, развитию их подвижности, и, как

следствие, к дальнейшей потере зубов. Отсутствие зубов ведет к проблемам с жеванием, речью, эстетикой улыбки и может повлиять на общее самочувствие человека.

Изучение и понимание механизмов костной резорбции помогает разрабатывать целенаправленные методы коррекции этого патологического состояния, направленные на уменьшение воспаления, защиту костной ткани и поддержание здоровья пародонта. Эффективная коррекция костной резорбции при пародонтите является ключевым показателем успеха пародонтологического лечения в целом.

Метронидазол (МТ) является широко используемым противомикробным средством, предложенным в области пародонтальной терапии, либо при системном введении, либо с местными биоразлагаемыми агентами [2]. Микрокапсулы могут оптимизировать процесс высвобождения активных ингредиентов, за счёт чего увеличивается продолжительность терапевтического эффекта используемого препарата, содержащего представленные микроструктуры.

По данным некоторых исследователей полифенолы обладают антиоксидантными, противовоспалительными и антимикробными свойствами [3]. При этом среди полифенолов наиболее выраженными антиоксидантными свойствами обладает таниновая кислота (ТК), что делает её потенциально полезным средством в лечении воспалительных заболеваний пародонта, включая пародонтит.

Новые перспективы для реализации современной концепции рационального применения антибактериальных препаратов открывают возможности наноструктурирования и адресной доставки, которые обеспечивают пролонгированное высвобождение препаратов и препятствуют развитию антибиотикорезистентности

Учитывая ключевую роль микробных агентов в этиопатогенезе пародонтита и хронический характер течения данного заболевания, гель, содержащий микрокапсулы с антибактериальным препаратом и исследование его эффектов в сочетании с антибактериальным действием наночастиц серебра и противовоспалительных агентов представляет значительный интерес. Вместе с тем, до настоящего времени нет данных о взаимодействии и сочетанном эффекте ТК+МТ в одном препарате на костную резорбцию при пародонтите.

Цель – оценить влияние сочетанной загрузки метронидазола и таниновой кислоты в альгинатные микрокапсулы на системные проявления эндотелиальной дисфункции, воспалительный ответ и костную резорбцию при экспериментальном пародонтите у крыс. Для достижения поставленной цели предполагалось решить следующие задачи:

Изучить системные проявления ЭД во взаимосвязи с параметрами активности воспалительных и резорбтивных процессов костной ткани у белых крыс при экспериментальном пародонтите (ЭП).

Изучить влияние геля с микрокапсулами, обеспечивающими пролонгированное высвобождение ТК,

на системные проявления системного воспалительного ответа, ЭД и костной резорбции у животных при ЭП.

Патогенетически обосновать целесообразность сочетанной загрузки ТК+МТ в систему их пролонгированного высвобождения для коррекции проявлений системного воспалительного ответа, ЭД и костной резорбции при пародонтите у экспериментальных животных.

Материалы и методы исследования

Исследование проведено на 50 крысах-самцах, которых случайным образом разделили на контрольную группу, группу сравнения, опытные группы №1, №2 и №3. Группа контроля включала 10 крыс с интактным пародонтом. Группа сравнения состояла из 10 животных с экспериментальным пародонтитом, опытные группы №1, №2 и №3 включали по 10 крыс с экспериментальной моделью пародонтита, которым проводились аппликации геля, содержащего микрокапсулы, загруженные ТК, МТ и сочетанием представленных компонентов (ТК+МТ), соответственно. Общая продолжительность эксперимента составляла 5 недель, на протяжении которых все животные находились в одинаковых условиях вивария без ограничений доступа к воде и корму при естественном освещении. Все манипуляции с животными выполнялись под инъекционным наркозом комбинацией Ксиланита (ООО «Нита-Фарм», Россия) и Телазола (ZoetisInc., Испания) в дозировках 1 мг/кг и 0,1 мл/кг соответственно.

При работе с экспериментальными животными руководствовались требованиями приказа Министерства здравоохранения РФ от 23 августа 2010 года № 708 н «Об утверждении Правил лабораторной практики» (зарегистрирован Министерством юстиции РФ 13 октября 2010 г. № 18713). Протокол исследования одобрен этическим комитетом Саратовского ГМУ имени В.И. Разумовского (протокол №1 от 07.09.2021г.).

ЭП у животных воспроизводили лигатурным методом, путём прошивания десны в области центральных резцов нижней челюсти не рассасывающейся полиинитью, аналогично методу, описанному в [4]. На 14-е сутки удаляли лигатуру.

Для коррекции системных проявлений ЭД, предотвращения прогрессирования воспалительного процесса и костной резорбции у животных с пародонтитом применяли специально разработанные гидрогели. В состав гелей входили полые микрокапсулы размером $4,3 \pm 0,5$ мкм, оболочка которых содержала наночастицы серебра (AgNP), образованные в матрице альгината при добавлении раствора нитрата серебра в концентрации 0,1 М [5]. Для загрузки капсул применяли таниновую кислоту концентрацией 1 мг/мл и/или метронидазола с концентрацией 4 мг/мл. Всем животным нанесение геля выполнялось трехкратно: на 14-й, 16-й и 18-й дни эксперимента.

Для биохимических исследований на 35-е сутки эксперимента у животных под наркозом проводился забор крови путем пункции правых отделов сердца.

В сыворотке крови оценивали концентрацию маркёров воспалительного ответа: моноцитарного хемоаттрактантного белка -1 (MCP-1) и С-реактивного белка (СРБ); маркёров альтерации эндотелия: васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF), sE-селектина, синдекана-1, а также маркёра деструкции костной ткани: С-терминальных белковых фрагментов коллагена I типа (СТХ).

Концентрации MCP-1, синдекана-1, sE-селектина, VEGF определяли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием наборов реагентов «Cloud-Clone Corp» (США). Концентрацию СТХ определяли методом ИФА с использованием наборов реагентов «Imundiagnostik AG» (Германия). При выполнении ИФА определение оптической плотности проводилось с использованием микропланшетного спектрофотометра StatFax 4200 (Awareness Technology, США).

Концентрацию С-реактивного белка определяли методом турбодиметрии с помощью наборов реагентов фирмы DiaSys Diagnostic Systems GmbH (Германия), на анализаторе Sapphire-400 (Hirosе Electronic System, Япония).

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью программы «Statistica 10» (StatSoft, США). Большинство данных не соответствовали закону нормального распределения, поэтому рассчитывали медиану, верхний и нижний квартили. Для множественных сравнений полученных показателей использовали непараметрический критерий Краскела-Уоллиса. Для детализации различий между группами проводили попарные сравнения с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни. Различия считались достоверными при показателе достоверности различий $p < 0,05$.

Результаты исследования

Развитие ЭП у белых крыс сопровождается увеличением концентрации маркёров системного воспалительного ответа, альтерации эндотелия и нарушения его вазомоторной функции, а также резорбции костной ткани. Так, на 5-й неделе эксперимента в группе сравнения наблюдается статистически значимое повышение в крови концентраций маркёров системного воспалительного ответа: MCP-1 – в 5,5 раза, а СРБ – на 13%. Системный воспалительный ответ у представленной группы сопровождается повышением содержания в сыворотке крови маркёров альтерации эндотелия и ЭД: sE-селектина, синдекана-1 и VEGF в 3,5, 1,3 и 4,6 раза соответственно по сравнению с интактными животными. Концентрации маркёра резорбции костной ткани СТХ I у крыс с ЭП превышал таковой в группе контроля в 3 раза (табл. 1).

Таким образом, при моделировании пародонти-та лигатурным методом у белых крыс возникают нарушения, которые сопровождаются системным воспалительным ответом с увеличением сывороточных кон-

центраций СРБ и MCP-1, ЭД с повышением уровня в крови маркёров альтерации, в том числе синдекана-1, E-селектина, VEGF, а также резорбцией альвеолярной костной ткани с увеличением сывороточной концентрации СТХ I.

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что у животных, которым проводились аппликации геля, содержащего микрокапсулы с AgNP, заполненные ТК, на 5-й неделе эксперимента отмечается значимое относительно группы сравнения снижение в крови концентраций маркёров системного воспалительного ответа, альтерации и дисфункции эндотелия и резорбции костной ткани. Так, уровень маркеров СРБ на 6,8%, MCP-1 в 1,5 раза ниже у животных опытной группы №1, чем в группе сравнения.

Альтерация и дисфункция эндотелия у животных опытной группы №1 также снижается, что характеризуется уменьшением относительно группы сравнения sE-селектина в 3,1 раза, VEGF – в 2,2, синдекана-1 в 1,2 раза. Вместе с этим, в опытной группе №1 статистически значимо снижается сывороточная концентрация маркёра костной резорбции СТХ I на 50% относительно животных из группы сравнения.

У животных опытной группы №1 сохранялись повышенные концентрации СРБ в 1,1 раза, MCP-1 в 1,8 раза и VEGF в 2 раза относительно показателей контроля.

Таким образом, применение геля, микрокапсулы которого были загружены ТК, снижает уровень маркёров системного воспалительного ответа, альтерации и дисфункции эндотелия и резорбции костной ткани у крыс с ЭП.

У животных с ЭП, которым выполнялись аппликации геля, содержащего микрокапсулы с AgNP+MT (опытная группа №2), снижается выраженность системного воспалительного ответа, что характеризуется уменьшением сывороточных концентраций MCP-1 на 15% относительно группы сравнения. Значения концентраций sE-селектина, VEGF и СТХ были ниже на 64%, 44% и 30% соответственно относительно группы сравнения.

Однако уровень маркеров ЭД и резорбции костной ткани у крыс опытной группы №2 остается повышенным в сравнении с интактными животными: СРБ – на 12%, MCP-1 – в 2,3 раза, VEGF – в 2,6 раза, и СТХ – в 2,1 раза.

У животных опытной группы №3 на 5-й неделе по сравнению с группой с ЭП статистически значимо снижены маркёры воспаления СРБ и MCP-1 на 11% и 54% соответственно, маркёры альтерации эндотелия sE-селектин – на 79%, синдекан-1 – на 29% и VEGF – на 82%, маркёра костной резорбции СТХ – на 69%.

Комбинация активных веществ в капсулах, повышает эффективность геля в коррекции сывороточных концентраций СРБ на 5%, MCP-1 – на 32%, E-селектина – на 34%, и VEGF – на 61% по сравнению с монозагрузкой их ТК, и превосходит эффективность анало-

га, содержащего только МТ, в коррекции концентраций СРБ на 11%, МСР-1 – на 46%, VEGF – на 68%, а также маркера костной резорбции СТХ I на 83%.

Таким образом, аппликации на десны геля, содержащего в составе микрокапсул МТ и ТК, у крыс с пародонтитом эффективнее снижает концентрацию в крови маркеров воспаления СРБ и МСР-1, маркера альтерации эндотелия VEGF, маркера костной резорбции СТХ I – по сравнению с аналогами с монозагрузкой компонентов.

Обсуждение

В ходе проведенных исследований было обнаружено, что у крыс с ЭП на 5-й неделе наблюдаются высокие концентрации МСР-1 (выше в 5,5 раза) и СРБ (вы-

ше на 13%), по сравнению с группой интактного контроля, что согласуется с данными, демонстрирующими увеличение концентраций в сыворотке крови маркеров системного воспалительного ответа у пациентов с пародонтитом [6]. Кроме того, у животных с ЭП отмечаются высокие уровни маркеров альтерации эндотелия, включая синдекан-1 (на 31%), sE-селектин (в 3,5 раза) и VEGF (в 4,6 раза). Исследования различных авторов указывают на системный характер дисфункции эндотелиальных клеток у пациентов, страдающих пародонтитом [7]. Это может быть вызвано несколькими факторами, включая воздействие патогенных бактерий в процессе транзиторной бактериемии, системные реакции на воспаление, а также влияние метаболитов, образующихся из-за нарушения обмена веществ в пародонтальных тканях [8].

Таблица 1

Изменения концентрации маркеров системного воспалительного ответа, дисфункции эндотелия и костной резорбции у крыс с ЭП после аппликации геля, содержащего микрокапсулы с AgNP, загруженные МТ+ТК

Параметры	Контроль (n = 10)	Группа сравнения (n = 10)	Опытная группа №1 (ТК) (n = 10)	Опытная группа №2 (МТ) (n = 10)	Опытная группа №3 (ТК+МТ) (n = 10)
СРБ, мг/л	32,4 (32,1; 32,8)	36,6 (35,7; 37,3) $p_1 < 0,001$	34,1 (33,3; 34,7) $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,001$	36,3 (34,5; 37,3) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,545$ $p_3 = 0,011$	32,5 (32,4; 33,5) $p_1 = 0,273$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,011$ $p_4 < 0,001$
МСР-1, пг/мл	142 (139,3; 156,8)	378,8 (343,8; 500,3) $p_1 < 0,001$	256 (221,4; 281,6) $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	321,7 (272,4; 345,3) $p_1 < 0,001$ $p_2 = 0,009$ $p_3 = 0,028$	173,3 (116,5; 199,3) $p_1 = 0,427$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,009$ $p_4 = 0,002$
sE-селектин, нг/мл	199,6 (181,5; 237,9)	697,2 (454; 917) $p_1 < 0,001$	222 (147,2; 443,9) $p_1 = 0,596$ $p_2 < 0,001$	155,8 (151,8; 195,9) $p_1 = 0,058$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,104$	146,8 (126,8; 197,3) $p_1 = 0,014$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,017$ $p_4 = 0,256$
Синдекан-1, нг/мл	1,6 (1,4; 1,7)	2,1 (1,7; 2,7) $p_1 = 0,001$	1,7 (1,4; 1,8) $p_1 = 0,140$ $p_2 = 0,025$	1,9 (1,7; 2,1) $p_1 = 0,011$ $p_2 = 0,384$ $p_3 = 0,053$	1,5 (1,3; 1,8) $p_1 = 0,677$ $p_2 = 0,031$ $p_3 = 0,405$ $p_4 = 0,058$
VEGF, пг/мл	12,5 (9,4; 15,7)	57,2 (50,9; 74,4) $p_1 < 0,001$	25,7 (20; 28,7) $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$	32 (27,2; 34,7) $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,019$	10,1 (4; 12,7) $p_1 = 0,325$ $p_2 < 0,001$ $p_3 < 0,001$ $p_4 < 0,001$
СТХ-I, нг/мл	6,4 (1,6; 8,1)	19,4 (18,6; 22,1) $p_1 < 0,001$	9,7 (6,7; 10,9) $p_1 = 0,104$ $p_2 = 0,001$	13,5 (11,5; 15,9) $p_1 = 0,001$ $p_2 = 0,021$ $p_3 = 0,021$	6 (2,4; 9,4) $p_1 = 0,969$ $p_2 < 0,001$ $p_3 = 0,088$ $p_4 < 0,001$

Примечания: p_1 – по сравнению с контролем; p_2 – по сравнению с показателями животных с ЭП; p_3 – по сравнению с животными, которым выполнялись аппликации геля, содержащего микрокапсулы с AgNP+ТК; p_4 – по сравнению с животными, которым выполнялись аппликации геля, содержащего микрокапсулы с AgNP + МТ.

Селектины являются важными молекулами адгезии, находящимися на мембране эндотелиоцитов, лейкоцитов и тромбоцитов. Многие исследования демонстрируют высокий уровень содержания представленных адгезивных молекул в сыворотке крови у пациентов с различными воспалительными, инфекционными и раковыми заболеваниями. Экспрессию sE-селектина в периферической крови у пациентов, страдающих заболеваниями пародонта, связывают с увеличением продукции провоспалительных цитокинов, что определяет системный характер воспалительного ответа. Также данные научной литературы указывают на роль метаболитов в развитии системных проявлений ЭД, ключевыми метаболитами являются продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), вызывающие альтерацию клеток эндотелия. Высокий уровень представленных метаболитов, а также несостоятельность и истощение антиоксидантных систем организма являются характерными особенностями развития воспалительных заболеваний полости рта [9]. Высокое содержание в сыворотке крови VEGF при пародонтите согласуется с многочисленными данными других авторов [10]. Предположительно, при воспалительных заболеваниях пародонта синтез VEGF может быть стимулирован активацией двух путей: гипоксия-индуцированным фактором HIF/VEGF и формированием комплекса ИЛ-6/ИЛ-6R/gp130, что приводит к активации пути JAK/STAT и увеличению выделения VEGF фибробластами десны [11]. Кроме того, увеличение продукции VEGF при повреждении эндотелия может служить компенсаторным механизмом, способствующим регенерации эндотелиальных клеток. [12]. Следовательно, наблюдаемое снижение концентрации sE-селектина и VEGF в системном кровотоке у крыс с ЭП под влиянием геля, содержащего микрокапсулы с AgNP 0,1M, загруженные ТК, может рассматриваться в качестве признака уменьшения альтерации эндотелиальных клеток и редукции системных проявлений ЭД.

В результате проведенных исследований установлено, что у крыс с ЭП в 3 раза увеличивается сывороточная концентрация СТХ I – фрагменты коллагена I типа, которые являются маркером резорбции костной ткани, что согласуется с ранее опубликованными данными литературы [13].

У животных, которым проводились аппликации геля, содержащего микрокапсулы с AgNP 0,1M, заполненные ТК, на 5-й неделе отмечается снижение в крови концентраций маркеров системного воспалительного ответа СРБ на 6,8%, MCP-1 – в 1,5 раза относительно животных группы сравнения.

Согласно данным литературы, танины способны оказывать влияние на различные компоненты этиопатогенеза пародонтита за счет антибактериального, антиоксидантного, противовоспалительного эффектов, а также способности препятствовать развитию дегенеративно-дистрофических изменений тканей. Танины предотвращают размножение бактериальных клеток, ингибируя ферменты обратной транскриптазы и ДНК-топо-

изомеразы. Танины оказывают влияние на процессы трансляции в бактериальных клетках, и в конечном итоге снижают интенсивность роста бактерий [14]. Ингибируя синтез белка, изменяя метаболизм нуклеиновых кислот, предотвращая развитие клеточной стенки, изменяя функцию клеточной мембраны и предотвращая рост бактерий, танины демонстрируют свой антибактериальный потенциал. Танины могут действовать как антиоксиданты и обладают противовоспалительными свойствами, которые полезны для остановки кровотечения, ускорения заживления и воспаления слизистых оболочек, а также регенерации тканей. Танины также обеспечивают удаление избыточного количества образующихся при воспалении активных форм кислорода [15]. Исследования зарубежных авторов показывают, что экстракт листьев маниоки, содержащий танины, может увеличить количество фибробластов и плотность коллагена в десне крысы после индукции *P. gingivalis*. Считается, что танины помогают ускорить заживление ран, вычищая свободные радикалы.

Загрузка ТК в микрокапсулы с AgNP 0,1M вызывает снижение концентраций в сыворотке крови маркера костной резорбции СТХ I в кровотоке на 50%. Это подтверждает результаты авторов, демонстрировавших ранее способность полифенолов снижать потерю костной ткани у животных [16].

Учитывая, что основным этиологическим фактором при воспалительных заболеваниях пародонта является пародонтопатогенная микрофлора, необходимо применение антибактериальных агентов. Вместе с тем использование антибиотиков при пародонтите сопряжено с рядом сложностей, включая побочные эффекты, делающие системное введение нецелесообразным, а также потенциальную возможность развития антибиотикорезистентности.

Редукция системных проявлений ЭП у животных опытной группы №2 может быть обусловлена снижением выделения цитокинов в кровотоке. Исследование, в котором в качестве средства доставки метронидазола применялись AgNP, показало значимое снижение продукции ИЛ-6 и ФНО-альфа [17]. Указанные цитокины являются стимуляторами продукции sE-селектина у пациентов с пародонтитом [18]. В литературе имеются указания, что комбинация с AgNP позволяет повысить эффективность антибактериальных препаратов за счёт снижения резистентности микроорганизмов, а также за счёт лучшего проникновения в бактериальные биопленки [19]. Загрузка метронидазола в микрокапсулы с AgNP выражено снижает резорбцию костной ткани. Полученные данные согласуются с результатами недавних исследований других авторов, которые свидетельствуют, что соединения метронидазола с пегелированными AgNP выражено снижают продукцию матричных металлопротеиназ 3 и 8 – ферментов, участвующих в деструкции тканей пародонтального комплекса [17].

В настоящем исследовании было впервые апробировано применение геля, содержащего микрокапсулы с на-

ночастицами серебра, загруженные комбинацией активных веществ ТК+МТ. Было установлено, что при нанесении на дёсны представленного геля у крыс с пародонтитом снижается содержание в крови следующих маркёров: воспалительного ответа – СРБ и МСР-1; альтерации эндотелия – VEGF. Комбинация активных веществ в капсулах, повышает эффективность геля в коррекции сывороточных концентраций СРБ, МСР-1, Е-селектина, VEGF по сравнению с монозагрузкой их ТК, и превосходит эффективность аналога, содержащего только метронидазол, в коррекции концентраций СРБ, МСР-1, VEGF, а также маркёра костной резорбции СТХ I.

Заключение

При моделировании пародонтита лигатурным методом у белых крыс возникают нарушения, которые сопровождаются системным воспалительным ответом с увеличением сывороточных концентраций СРБ и МСР-1; ЭД с повышением уровня в крови маркёров альтерации, в том числе синдекана-1, Е-селектина, VEGF, а также резорбцией альвеолярной костной ткани с увеличением сывороточной концентрации СТХ I в, которые сохраняются вплоть до 35 суток эксперимента.

Гель, содержащий микрокапсулы AgNP 0,1М с ТК, у крыс с ЭП уменьшает сывороточные концентрации маркёров системного воспаления, в том числе СРБ и МСР-1; дисфункции эндотелия, в том числе Е-селектина, VEGF и синдекана-1, а также обеспечивает редукцию резорбции альвеолярной кости со снижением уровня СТХ I в кровотоке

Комбинация активных агентов ТК+МТ, загруженная в систему пролонгированного высвобождения, демонстрирует взаимопотенцирующее действие, то есть представленные компоненты усиливают эффекты друг друга в коррекции нарушений, характерных для ЭП. Сочетание антибактериальных и противовоспалительных компонентов позволяет добиться наиболее выраженной коррекции ключевых звеньев патогенеза хронического пародонтита, включая воспалительный ответ и его системные проявления, эндотелиальную дисфункцию, а также резорбцию костной ткани.

Список литературы / References

1. Yang S.R., Ren X.Y. Research progress in association between endothelial dysfunction and periodontitis. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2022; 57(9): 973–977. DOI: 10.3760/cma.j.cn112144-20220216-00064
2. Zussman M., Zilberman M. Injectable metronidazole-eluting gelatin-alginate hydrogels for local treatment of periodontitis. *J. Biomater. Appl.* 2022; 37(1): 166–179. DOI: 10.1177/08853282221079458
3. Flemming J., Meyer-Probst C.T., Speer K., Kölling-Speer I., Hannig C., Hannig M. Preventive Applications of Polyphenols in Dentistry-A Review. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22(9): 4892. DOI: 10.3390/ijms22094892
4. Ionel A., Lucaciu O., Moga M., Buhatel D., Ilea A., Tabaran F., Catoi C., Berce C., Toader S., Campian R.S. Periodontal disease induced in Wistar rats - experimental study. *HVM Bioflux.* 2015; 7(2): 90–95.
5. Lengert E.V., Savkina A.A., Ermakov A.V., Saveleva M.S., Lagutina D.D., Stepanova T.V., Ivanov A.N. Influence of the new formulation based on silver alginate microcapsules loaded with tannic acid on the microcirculation of the experimental periodontitis in rats. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.* 2021; 126: 112144. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112144
6. Boström E.A., Kindstedt E., Sulniute R., Palmqvist P., Majster M., Holm C.K., Zwicker S., Clark R., Önell S., Johansson I., Lerner U.H., Lundberg P. Increased Eotaxin and MCP-1 Levels in Serum from Individuals with Periodontitis and in Human Gingival Fibroblasts Exposed to Pro-Inflammatory Cytokines. *PLoS One.* 2015; 10(8): e0134608. DOI: 10.1371/journal.pone.0134608
7. Leira Y., Rodríguez-Yáñez M., Arias S., López-Dequid I., Campos F., Sobrino T., D'Aiuto F., Castillo J., Blanco J. Periodontitis is associated with systemic inflammation and vascular endothelial dysfunction in patients with lacunar infarct. *J. Periodontol.* 2019; 90(5): 465–474. DOI: 10.1002/JPER.18-0560
8. Zhang Z., Liu D., Liu S., Zhang S., Pan Y. The Role of Porphyromonas gingivalis Outer Membrane Vesicles in Periodontal Disease and Related Systemic Diseases. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 10: 585917. DOI: 10.3389/fcimb.2020.585917
9. Wang Y., Andrukhov O., Rausch-Fan X. Oxidative Stress and Antioxidant System in Periodontitis. *Front. Physiol.* 2017; 8: 910. DOI: 10.3389/fphys.2017.00910
10. Ren B., Feng Q., He S., Li Y., Fan J., Chai G., Liu L., Liu H., Yang C., Wang Y., Liu H., Liu H., Song Y. VEGF as a potential molecular target in periodontitis: a meta-analysis and microarray data validation. *J. Inflamm. (Lond)* 2021; 18(1): 18. DOI: 10.1186/s12950-021-00281-9
11. Niklander S., Bordagaray M.J., Fernández A., Hernández M. Vascular Endothelial Growth Factor: A Translational View in Oral Non-Communicable Diseases. *Biomolecules.* 2021; 11(1): 85. DOI: 10.3390/biom11010085
12. Lv Z., Guo M., Li C., Shao Y., Zhao X., Zhang W. VEGF-like protein from *Apostichopus japonicus* promotes cell proliferation and migration. *Dev. Comp. Immunol.* 2019; 92: 230–237. DOI: 10.1016/j.dci.2018.11.017
13. Xu X.C., Chen H., Zhang X., Zhai Z.J., Liu X.Q., Zheng X.Y., Zhang J., Qin A., Lu E.Y. Effects of oestrogen deficiency on the alveolar bone of rats with experimental periodontitis. *Mol. Med. Rep.* 2015; 12(3): 3494–3502. DOI: 10.3892/mmr.2015.3875
14. Adnan S.N.A., Ibrahim N., Yaacob W.A. Disruption of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* protein synthesis by tannins. *Germs.* 2017; 7(4): 186–192. DOI: 10.18683/germs.2017.1125
15. Laya A., Koubala B.B. Polyphenols in cassava leaves (*Manihot esculenta* Crantz) and their stability in antioxidant potential after in vitro gastrointestinal digestion. *Heliyon.* 2020; 6(3): e03567. DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e03567
16. Steffi C., Shi Z., Kong C.H., Chong S.W., Wang D., Wang W. Use of Polyphenol Tannic Acid to Functionalize Titanium with Strontium for Enhancement of Osteoblast Differentiation and Reduction of Osteoclast Activity. *Polymers (Basel).* 2019; 11(8): 1256. DOI: 10.3390/polym11081256
17. Steckiewicz K.P., Cieciorński P., Barcińska E., Jaśkiewicz M., Narajczyk M., Bauer M., Kamysz W., Megiel E., Inkielewicz-Stepniak I. Silver Nanoparticles as Chlorhexidine and Metronidazole Drug Delivery Platforms: Their Potential Use in Treating Periodontitis. *Int. J. Nanomedicine* 2022; 17: 495–517. DOI: 10.2147/IJN.S339046
18. Khalid W., Varghese S.S., Sankari M., Jayakumar N.D. Comparison of Serum Levels of Endothelin-1 in Chronic Periodontitis Patients Before and After Treatment. *J. Clin. Diagn. Res.* 2017; 11(4): ZC78–ZC81. DOI: 10.7860/JCDR/2017/24518.9698
19. Martinez-Gutierrez F., Boegli L., Agostinho A., Sánchez E.M., Bach H., Ruiz F., James G. Anti-biofilm activity of silver nanoparticles against different microorganisms. *Biofouling.* 2013; 29(6): 651–660. DOI: 10.1080/08927014.2013.794225

Сведения об авторах:

Савкина Ангелина Альбертовна — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-2357-400X>

Ленгерт Екатерина Владимировна — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0002-6447-2811>

Ермаков Алексей Вадимович — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-8105-5932>

Степанова Татьяна Вячеславовна — младший научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0001-8439-8033>

Иванов Алексей Николаевич — доктор медицинских наук, заведующий центральной научно-исследовательской лабораторией, Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского» Министерства здравоохранения Российской Федерации; <https://orcid.org/0000-0003-4061-5221>