

## ОПТИМИЗАЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ СЕРЕБРА И СНИЖЕНИЕ РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НА МИКРОЦИРКУЛЯЦИЮ АЛЬГИНАТНЫХ МИКРОКАПСУЛ ДЛЯ АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ВЕЩЕСТВ

Савкина А.А.<sup>1</sup>, Ленгерт Е.В.<sup>1</sup>, Ермаков А.В.<sup>1</sup>, Степанова Т.В.<sup>1</sup>, Лойко Д.Д.<sup>1</sup>, Федоров А.Н.<sup>1</sup>, Иванов А.Н.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Саратовский государственный медицинский университет им В.И. Разумовского Минздрава России», Саратов, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru

Перспективным и эффективным антибактериальным агентом, используемым в лечении воспалительных заболеваний пародонта, являются наночастицы серебра, однако они способны оказывать местное раздражающее действие на слизистую оболочку, что негативно сказывается на состоянии полости рта. Целью настоящего исследования являлось изучение влияния гелей, содержащих альгинатные микрокапсулы с различной концентрацией серебра, на микроциркуляцию десен у интактных белых крыс. Через 1 час и 24 часа после нанесения геля с низкой концентрацией серебра (0,1 М) не выявлено существенных изменений в показателях перфузии, а также в активных и пассивных параметрах модуляции микроциркуляции. После применения геля, содержащего в своем составе капсулы альгината серебра (0,25 М), у белых крыс с интактным пародонтом регистрируются микроциркуляторные сдвиги, проявляющиеся в виде увеличения показателя перфузии микрокровотока и амплитуд колебаний во всех регуляторных диапазонах: дыхательном, сердечном, нейрогенном и миогенном, за исключением эндотелиального компонента через 1 и 24 часа. Использование геля, содержащего микрокапсулы с низким содержанием серебра (0,1 М), позволяет нивелировать раздражающее действие на слизистую оболочку десны.

Ключевые слова: микроциркуляция, пародонтит, наночастицы, микрокапсулы, серебро.

## OPTIMIZATION OF SILVER CONTENT AND REDUCTION OF IRRITANT EFFECT ON MICROCIRCULATION OF ALGINATE MICROCAPSULES FOR TARGET DELIVERY OF SUBSTANCES

Savkina A.A.<sup>1</sup>, Lengert E.V.<sup>1</sup>, Ermakov A.V.<sup>1</sup>, Stepanova T.V.<sup>1</sup>, Loiko D.D.<sup>1</sup>, Fedorov A.N.<sup>1</sup>, Ivanov A.N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Saratov State Medical University named after V.I. Razumovsky Ministry of Health of Russia, Saratov, e-mail: sawkina.ange@yandex.ru

A promising and effective antibacterial agent used in the treatment of inflammatory periodontal diseases are silver nanoparticles, however, they can have a local irritating effect on the mucous membrane, which negatively affects the oral cavity. The aim of this study was to study the effect of gels containing alginate microcapsules with different concentrations of silver on gingival microcirculation in intact white rats. After 1 hour and 24 hours after applying the gel with a low concentration of silver (0.1 M), there were no significant changes in perfusion parameters, as well as in active and passive parameters of microcirculation modulation. After application of the gel containing silver alginate capsules (0.25 M) in white rats with intact periodontium, microcirculatory shifts are recorded, manifested as an increase in the microcirculation perfusion index and fluctuation amplitudes in all regulatory ranges - respiratory, cardiac, neurogenic and myogenic, with the exception of the endothelial component after 1 and 24 hours. The use of a gel containing microcapsules with a low content of silver (0.1 M) makes it possible to neutralize the irritating effect on the gingival mucosa.

Keywords: microcirculation, periodontitis, nanoparticles, microcapsules, silver.

Современная стоматология располагает огромным спектром медикаментозных препаратов, разработанных для профилактики и лечения заболеваний полости рта: ополаскиватели, аэрозоли, гели, пасты, адгезивные пленки. Данные лекарственные средства имеют множество положительных свойств: оказывают антибактериальное воздействие, снижают болевые ощущения, улучшают местное кровоснабжение, форсируют реакции регенерации.

В настоящее время отдельное направление мультидисциплинарных исследований посвящено разработке методов оптимизации релиза и поддержания оптимальных концентраций активных веществ, в том числе для стоматологических лекарственных форм (пасты, гели, пленки и др.).

Одним из перспективных антибактериальных агентов являются наночастицы серебра, эффективность которых в лечении воспалительных заболеваний пародонта была продемонстрирована в нескольких исследованиях последних лет [1-3].

Новые возможности для совершенствования пародонтологического лечения представляет сочетание технологий капсуляции различных веществ и наноструктурирования материалов. В частности, ранее проведенные исследования свидетельствуют, что гель, содержащий альгинатные капсулы с наночастицами серебра в их стенке, оказывает положительное влияние на микроциркуляцию в тканях пародонта у белых крыс с экспериментальным пародонтитом [4]. Однако было обнаружено, что входящие в их состав наночастицы серебра способны оказывать местное раздражающее действие, что согласуется с данными других исследователей [5; 6]. Местное раздражающее воздействие может являться негативным побочным эффектом, который вначале проявляется в виде типичных признаков воспаления, а прогрессируя, переходит в изъязвление слизистой оболочки полости рта, вплоть до разрушения тканей, что обуславливает необходимость минимизации рисков его возникновения. Одним из вариантов решения данной практически важной задачи является оптимизация содержания наночастиц серебра в стенке альгинатных микрокапсул, входящих в состав геля, что и определило направление настоящей работы.

Цель исследования - изучение влияния гелей, содержащих альгинатные микрокапсулы с различной концентрацией серебра, на микроциркуляцию десен у интактных белых крыс.

### **Материал и методы исследования**

Эксперимент выполнен на 40 белых крысах, распределённых случайным способом на три группы. Контрольная группа состояла из 10 интактных крыс, две опытные - № 1 и № 2 - включали по 15 животных, которым выполняли нанесение на область десны геля, содержащего микрокапсулы альгината с низким (№ 1) и высоким (№ 2) содержанием серебра.

На протяжении исследования животные находились в стандартных условиях вивария. Для обеспечения анестезии животным внутримышечно вводили «Телазол» (Zoetis Inc, Испания) в дозе 0,1 мл/кг и «Ксиланит» (ООО «Нита-Фарм», Россия) в дозе 1 мг/кг. При проведении экспериментов соблюдали этические принципы в соответствии с Хельсинкской декларацией 1975 г. и ее пересмотром в 1983 г., при работе с экспериментальными животными руководствовались требованиями Приказа Министерства здравоохранения РФ от 23 августа 2010 года № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики». Протокол исследования

одобрен этическим комитетом Саратовского ГМУ имени В.И. Разумовского (протокол № 1 от 07.09.2021 года).

Животным опытных групп на слизистую оболочку десны производили однократные аппликации геля, содержащего серебряные микрокапсулы с низкой (0,1 М) и высокой (0,25 М) концентрацией серебра.

Микрокапсулы были приготовлены в соответствии с протоколом, опубликованным ранее [4]. Полые серебряные альгинатные микрокапсулы были получены путем адсорбции альгината натрия объемом 1 мл и концентрацией 5 мг/мл на пористые частицы карбоната кальция [7] с последующей гелификацией альгината натрия ионами серебра при добавлении 1 мл нитрата серебра в концентрациях 0,1 М или 0,25 М. Полное восстановление наночастиц серебра и одновременное растворение пористого ядра карбоната кальция осуществлялось путем добавления к суспензии 1 мл аскорбиновой кислоты концентрацией 0,1 М. Таким образом, были приготовлены два типа образцов: полые альгинатные серебряные микрокапсулы с различными концентрациями серебра 0,1 М и 0,25 М.

Для исследования микроциркуляции применяли методику лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), реализация которой выполнялась с помощью «ЛАКК-ОП» (Россия). У животных опытных групп выполняли ЛДФ после нанесения геля на десну через 1 и 24 часа соответственно. Датчик анализатора располагали в области между центральными резцами. При выполнении работы оценивали перфузионный показатель и нормированные амплитуды колебаний перфузии в основных регуляторных частотных диапазонах, включая эндотелиальный, нейрогенный, миогенный, дыхательный и кардиальный. Расчет амплитуд колебаний перфузии в указанных диапазонах реализован посредством вейвлет-анализа.

Статистическую обработку данных проводили средствами пакета программ Statistica 10. Большинство полученных при выполнении настоящей работы данных не имели нормального распределения, поэтому представлены в таблицах в виде медианы и интерквартильного размаха. Сравнение между группами проведено с помощью критерия Манна – Уитни. Критический уровень значений показателя достоверности принимали равным 0,05.

### **Результаты исследования и их обсуждение**

При аппликации на интактную десну геля, содержащего альгинатные микрокапсулы с наночастицами серебра (0,1 М), через час не отмечено каких-либо изменений показателя перфузии по сравнению с контрольной группой. В данный промежуток времени после воздействия на интактный пародонт происходило увеличение амплитуды миогенных колебаний, указывающее на снижение миогенного тонуса [8]. Статистически значимых изменений значений амплитуды эндотелиальных и нейрогенных колебаний кровотока

относительно группы контроля при этом не происходило. Изменения параметров пассивных механизмов модуляции кровотока проявлялись возрастанием амплитуд дыхательных колебаний на 13,6%, существенных различий в показателях сердечных колебаний не выявлено (табл. 1).

Таблица 1

Изменения параметров микроциркуляции десны у белых крыс с интактным пародонтом через 1 час после аппликации геля, содержащего альгинатные микрокапсулы с наночастицами серебра разной концентрации

	<i>Контроль</i>	<i>Опытная группа № 1 (0,1 М)</i>	<i>Опытная группа № 2 (0,25 М)</i>
<b>М</b>	20,1 (19,1; 21,0)	20,1 (19,6; 20,5) $p_1 = 0,901426$	21,6 (21,1; 22,4) $p_1 = 0,000026$ $p_2 = 0,000006$
<b>АЭ/ЗС</b>	9,4 (7,8; 13,3)	10,5 (8,0; 12,1) $p_1 = 0,682033$	11,1 (8,8; 12,3) $p_1 = 0,234572$ $p_2 = 0,650439$
<b>АН/ЗС</b>	10,7 (8,5; 12,3)	10,4 (9,1; 11,2) $p_1 = 0,696067$	12,2 (11,1; 13,7) $p_1 = 0,015141$ $p_2 = 0,002367$
<b>АМ/ЗС</b>	10,4 (8,1; 11,9)	11,5 (10,9; 12,2) $p_1 = 0,053099$	13,8 (10,4; 14,9) $p_1 = 0,002458$ $p_2 = 0,034455$
<b>АД/ЗС</b>	8,1 (5,9; 9,1)	9,2 (8,6; 9,8) $p_1 = 0,008790$	10,5 (8,8; 11,7) $p_1 = 0,000309$ $p_2 = 0,039584$
<b>АС/ЗС</b>	5,3 (3,6; 6,3)	5,7 (5,5; 6,1) $p_1 = 0,125041$	7,2 (6,0; 7,5) $p_1 = 0,000578$ $p_2 = 0,015657$

*Примечание:*  $p_1$  – по сравнению с контролем,  $p_2$  – по сравнению с опытной группой № 1.

Через 24 часа после аппликации геля, содержащего микрокапсулы серебра (0,1 М), на десну у белых крыс не отмечено изменений в показателях перфузии и активных механизмах модуляции кровотока, а именно эндотелиальных, миогенных и нейрогенных колебаний. При этом выявлены изменения пассивной модуляции микроциркуляции, проявляющиеся увеличением амплитуд сердечных колебаний на 18,8% (табл. 2).

Согласно литературным данным, сдвиги амплитуд в дыхательном и кардиальном диапазоне отражают увеличение поступающей в микроциркуляторное русло артериальной

крови и ухудшение ее оттока, что указывает на снижение сосудистого тонуса и микроциркуляторного давления [8]. Однако следует отметить транзиторный характер и слабую степень выраженности динамики амплитуд в сочетании с отсутствием сдвигов перфузионного показателя, что свидетельствует о недостаточной силе данных изменений для значимых сдвигов в функционировании системы микроциркуляции. Изменения дыхательных колебаний в первый час могли быть связаны с механическим воздействием на слизистую при аппликации геля или влиянием лазера при проведении лазерной доплеровской флоуметрии через 1 час.

Таблица 2

Изменения параметров микроциркуляции десны у белых крыс с интактным пародонтом через 24 часа после аппликации геля, содержащего альгинатные микрокапсулы с наночастицами серебра разной концентрации

	<i>Контроль</i>	<i>Опытная группа № 1 (0,1 М)</i>	<i>Опытная группа № 2 (0,25 М)</i>
<b>М</b>	20,1 (19,1; 21,0)	20,2 (19,9; 20,5) $p_1 = 0,529462$	19,7 (19,5; 20,2) $p_1 = 0,860517$ $p_2 = 0,112732$
<b>АЭ/ЗС</b>	9,4 (7,8; 13,3)	10,7 (9,4; 12,4) $p_1 = 0,273217$	11,6 (10,6; 15,4) $p_1 = 0,037749$ $p_2 = 0,226891$
<b>АН/ЗС</b>	10,7 (8,5; 12,3)	10,4 (8,9; 11,4) $p_1 = 0,886357$	12,0 (10,4; 12,5) $p_1 = 0,061366$ $p_2 = 0,031361$
<b>АМ/ЗС</b>	10,4 (8,1; 11,9)	11,6 (10,3; 13,1) $p_1 = 0,084616$	12,9 (12,3; 13,9) $p_1 = 0,000049$ $p_2 = 0,015657$
<b>АД/ЗС</b>	8,1 (5,9; 9,1)	8,5 (7,1; 10,1) $p_1 = 0,088110$	9,8 (9,2; 11,8) $p_1 = 0,000264$ $p_2 = 0,096602$
<b>АС/ЗС</b>	5,3 (3,6; 6,3)	6,3 (5,5; 7,0) $p_1 = 0,017674$	6,8 (5,9; 7,1) $p_1 = 0,002295$ $p_2 = 0,307922$

*Примечание:*  $p_1$  – по сравнению с контролем,  $p_2$  – по сравнению с опытной группой № 1.

Таким образом, у животных опытной группы № 1 через 1 час и 24 часа после нанесения геля с низкой концентрацией серебра (0,1 М) изменения в параметрах микроциркуляции не выражены и характеризуются только слабыми транзиторными сдвигами в пассивных

модуляциях кровотока, которые не приводят к значимому изменению перфузионного показателя.

Через 1 час после местного воздействия геля, содержащего капсулы альгината серебра, у животных опытной группы № 2 отмечается статистически значимое увеличение перфузионного показателя на 7,5% по сравнению с интактными животными. Увеличение перфузии сопровождалось изменением активных механизмов модуляции микрокровотока за счет увеличения амплитуды нейрогенных и миогенных колебаний в 1,1 и 1,3 раза соответственно. Данные изменения являются индикатором снижения сопротивления и возможного усиления кровотока в микроциркуляторном русле [8]. Статистически значимых изменений значения амплитуды эндотелиальных колебаний кровотока при этом не происходило. Изменения параметров пассивных механизмов модуляции проявлялись повышением нормированных амплитуд сердечных колебаний на 29,6% и дыхательных колебаний на 35,8%, что указывает на увеличение притока крови и ухудшение ее оттока в микроциркуляторном русле у животных опытной группы № 2 по сравнению с животными контрольной группы (табл. 1).

Через 24 часа после апплицирования геля, содержащего серебряные микрокапсулы в концентрации 0,25 М, перфузия возвращалась к нормальному уровню. Однако нарушения модуляции кровотока у данной группы животных сохранялись и проявлялись статистически значимым увеличением амплитуд во всех регуляторных диапазонах в 1,2 раза (табл. 2). Указанные изменения имели статистическую значимость для амплитуд всех исследуемых диапазонов за исключением нейрогенного.

Полученные данные свидетельствуют о раздражающем действии, которое выражено через час и снижается, но сохраняется до 24 часов. Это согласуется с данными других исследователей о раздражающих эффектах серебра и его солей [9].

Таким образом, аппликации геля, содержащего микрокапсулы с наночастицами серебра высокой концентрации, через 1 час оказывают раздражающее действие на интактную десну у животных, о чем свидетельствуют увеличение перфузионного показателя и изменения модуляции микрокровотока, проявляющиеся в виде повышения нейрогенного и миогенного тонуса сосудов. Признаки активации модуляции микрокровотока сохраняются до 24 часов после аппликации геля.

При сравнении эффектов разработанных гелей с разной концентрацией, через 1 час после воздействия геля с содержанием серебра в капсулах 0,25 М отмечалось повышенное значение перфузионного показателя по сравнению с животными, которым на поверхность десны апплицировали гель, содержащий микрокапсулы с низкой концентрацией серебра, на 7,5%. Увеличение данного показателя во второй опытной группе по сравнению с первой

сопровождалось также превышением значений амплитуд активных механизмов - нейрогенных колебаний на 17,3% и миогенных на 20%, а также механизмов пассивной модуляции кровотока - дыхательных колебаний на 14,1% и сердечных на 26,3%. Значимых различий между двумя опытными группами в показателях амплитуд эндотелиальных колебаний не выявлено (табл. 1).

Через 24 часа показатель перфузии в опытной группе № 2 был ниже по сравнению с животными из опытной группы № 1. Однако параметры активной модуляции кровотока – нейрогенные и миогенные колебания в опытной группе № 2 - продолжали оставаться на высоком уровне и статистически значимо превышали таковые у животных опытной группы № 1 в 1,2 и 1,1 раза соответственно. Выявленное в ходе эксперимента повышение амплитуды миогенных и нейрогенных колебаний указывает на снижение миогенного тонуса сосудов, что проявляется усиленным притоком крови в микроциркуляторное русло.

Таким образом, сравнительный анализ влияния разработанных гелей на микроциркуляцию слизистой оболочки десен свидетельствует, что после нанесения геля, содержащего микрокапсулы с высокой концентрацией серебра (0,25 М), через 1 час перфузия и амплитуды пассивных и активных механизмов модуляции кровотока, за исключением эндотелиальных колебаний, имели высокие значения по отношению к таковым в группе животных, которым производили нанесение геля с низкой концентрацией серебра. Различия эффектов гелей через 24 часа проявляются более высокими значениями амплитуд нейрогенных и миогенных колебаний у экспериментальных крыс из опытной группы № 2.

Следовательно, указанные изменения характеризуют более выраженное раздражающее действия геля с высокой концентрацией серебряных наночастиц 0,25 М по сравнению с гелем, содержащим микрокапсулы с серебром низкой концентрации 0,1 М.

### **Заключение**

Полученные в результате эксперимента данные позволяют заключить, что раздражающий эффект геля зависит от концентрации серебра: низкое содержание серебра 0,1 М в микрокапсулах не оказывает раздражающего действия на слизистую оболочку интактной десны, а увеличение концентрации до 0,25, напротив, способствует возникновению негативного эффекта, который проявляется в виде местного раздражающего действия на десну.

Для использования в пародонтологии в качестве системы адресной доставки предпочтительным является гель, содержащий низкую концентрацию серебра 0,1 М, так как он позволяет нивелировать раздражающий эффект, что будет способствовать повышению эффективности и безопасности применения данной системы в практической стоматологии.

## Список литературы

1. Noronha V.T., Paula A.J., Durán G., Galembeck A., Cogo-Müller K., Franz-Montan M., Durán N. Silver nanoparticles in dentistry. *Dental materials*. 2017. vol. 33. no. 10. P. 1110–1126. DOI: 10.1016/j.dental.2017.07.002.
2. Bapat R.A., Chaubal T.V., Joshi C.P., Bapat P.R., Choudhury H., Pandey M., Gorain B., Kesharwani P. An overview of application of silver nanoparticles for biomaterials in dentistry. *Materials science & engineering. C, Materials for biological applications*. 2018. vol. 91. P. 881–898. DOI: 10.1016/j.msec.2018.05.069
3. Yin I.X., Zhang J., Zhao I.S., Mei M.L., Li Q., Chu C.H. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. *Int J Nanomedicine*. 2020. vol. 15. P. 2555-2562. doi: 10.2147/IJN.S246764
4. 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. vol. 126. P. 112144. DOI: 10.1016/j.msec.2021.112144
5. Xu L., Wang Y.Y., Huang J., Chen C.Y., Wang Z.X., Xie H. Silver nanoparticles: Synthesis, medical applications and biosafety. *Theranostics*. 2020. vol. 10. no. 20. P. 8996–9031. DOI: 10.7150/thno.45413.
6. Liao C., Li Y., Tjong S.C. Bactericidal and Cytotoxic Properties of Silver Nanoparticles. *International journal of molecular sciences*. 2019. vol. 20. no. 2. P. 449. DOI: 10.3390/ijms20020449
7. Volodkin D.V., Petrov A.I., Prevot M., Sukhorukov G.B. Matrix polyelectrolyte microcapsules: new system for macromolecule encapsulation. *Langmuir: the ACS journal of surfaces and colloids*. 2004; vol. 20. no. 8. P. 3398–3406. DOI: 10.1021/la036177z.
8. Крупаткин А.И., Сидоров В.В. Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови: руководство для врачей. М.: Медицина, 2005. 256 с.
9. Бойкова Н.Э. К вопросу о роли коллоидного серебра в лечении патологии верхних дыхательных путей и уха // *Медицинский Совет*. 2017. №9. С. 56-59. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-9-56-59.