

НАНОЧАСТИЦЫ ЗОЛОТА В СТОМАТОЛОГИИ

Токтосунова Салтанат Айтмаматовна
аспирант Кыргызско-Российского Славянского
Университета имени Б.Н. Ельцина,
Кыргызстан, Бишкек
E-mail: saltanats120@gmail.com

Сулайманкулова Саадат Касымбаевна
доктор химических наук, заведующая лабораторией нанотехнологий
Академии Наук Кыргызской Республики,
Кыргызстан, Бишкек

GOLD NANOPARTICLES (AUNPS) IN DENTISTRY

Saltanat Toktosunova
Post-graduate student of Kyrgyz Russian Slavic University
named after the First President of Russia B.N. Yeltsin,
Kyrgyzstan, Bishkek

Saadat Sulaymankulova
Doctor of Chemical Sciences, Head of Nanotechnologists Laboratory
of Academy of Sciences of Kyrgyz Republic,
Kyrgyzstan, Bishkek

АННОТАЦИЯ

В статье приведены данные о получении наночастиц золота, об их положительных свойствах, а также о применении при дефектах кости челюстей в эксперименте на животных и гистологические данные каждой группы животных.

ABSTRACT

Data of obtaining gold nanoparticles, their positive characteristics, and the use of gold nanoparticles in jawbone defects in the experiment on animals and histological data for each group of animals are presented in the article.

Ключевые слова: наночастицы золота, наночастицы серебра, дефект костной ткани, экспериментальные животные, гемостатическая губка, гистологические данные, лимфоидная ткань, лимфоциты, остеобласты, соединительная ткань, воспалительный процесс, рубцовая ткань.

Keywords: gold nanoparticles, silver nanoparticles, bone tissue defect, experimental animals, gemostatic sponge, histologic data, lymphoid tissue, lymphocytes, bone-forming cells, connective tissue, inflammatory process, scar tissue.

Введение

Одним из новых направлений в разработке медикаментозных препаратов для лечения воспалительных процессов в стоматологии является использование наночастиц металлов, обладающих антибактериальным действием. Среди них наибольшее внимание привлекает применение наночастиц золота и серебра. Особенностью наночастиц золота, серебра и других металлов является то, что они легко образуют кластеры и коллоиды [5, 8]. Наночастицы имеют большую удельную поверхность, тем самым значительно повышается их бактерицидные свойства на микрофлору и вирусы. Применение золота и серебра в виде наночастиц позволяет в сотни раз снизить их концентрацию с сохранением всех бактерицидных свойств.

Помимо этого, золото и серебро являются мощными иммуномодуляторами, сравнимыми со стероидными гормонами. Под их влиянием повышается количество иммуноглобулинов классов А, М, G, увеличивается процентное содержание абсолютного количества Т-лимфоцитов. Наночастицы золота, обладающие целым рядом уникальных характеристик (оптические свойства, прочность, высокая площадь поверхности), могут служить для усиления сигнала при проведении иммуноферментного анализа за счет их связывания с антителами [5, 8].

Данные свойства наночастиц серебра и золота могут быть использованы для лечения разнообразных патологических процессов, вызванных

микроорганизмами, в том числе и заболеваний периодонта. Показано [9], что золотые наночастицы, используемые как носители антигенов, стимулируют фагоцитирующую активность макрофагов и влияют на функционирование лимфоцитов, что, вероятно, может обуславливать их иммуномодулирующий эффект. Кроме того, золотые наночастицы и их конъюгаты с низко- и высокомолекулярными антигенами стимулируют дыхательную активность клеток ретикулоэндотелиальной системы и активность митохондриальных ферментов макрофагов что, возможно, является одной из причин адъювантных свойств коллоидного золота.

То, что золотые наночастицы действуют и как носитель, и как адъювант (т. е. предоставляют гаптены Т-клеткам), следует признать наиболее интересной стороной проявления иммуногенных свойств коллоидного золота. В частности, золотые наночастицы, конъюгированные с антигенами влияют на активацию Т-клеток: обнаружено увеличение пролиферации в 10 раз по сравнению с добавлением нативного антигена. Этот факт указывает на принципиальную возможность направленного воздействия на Т-клетки с последующей активацией ими макрофагов и уничтожением патогена.

В работе [2] в качестве испытуемого лекарственного средства – препарата с наночастицами золота – был использован мукозальный 3%-й гель натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), содержащий 5 % силикагеля с включением 500 мкг/г наночастиц золота размера 5 нм [1, 3].

Результаты, полученные с препаратами сравнения, подтверждают эффективность применения аппликаций геля с нанозолотом на десну [2].

Цель исследования: Изучить остеорегенерирующее действие наночастиц золота при дефектах кости в эксперименте на животных.

Материалы и методы. Сотрудниками лаборатории синтезированы с использованием энергии импульсной плазмы, создаваемой в жидких углеводородах (ИПЖ) сферические наночастицы меди, серебра и золота [4, 6]. Наночастицы золота из ИПЖ, по данным электронной микроскопии, рентгенофазового анализа, имеют размерность 3–5 нм, в силу чего также

развитую удельную поверхность, которая при растворении наночастиц позволяет получить энергонасыщенный и активный нанораствор [7]. Высокая активность нанораствора была подтверждена экспериментально (см. рис. 1).

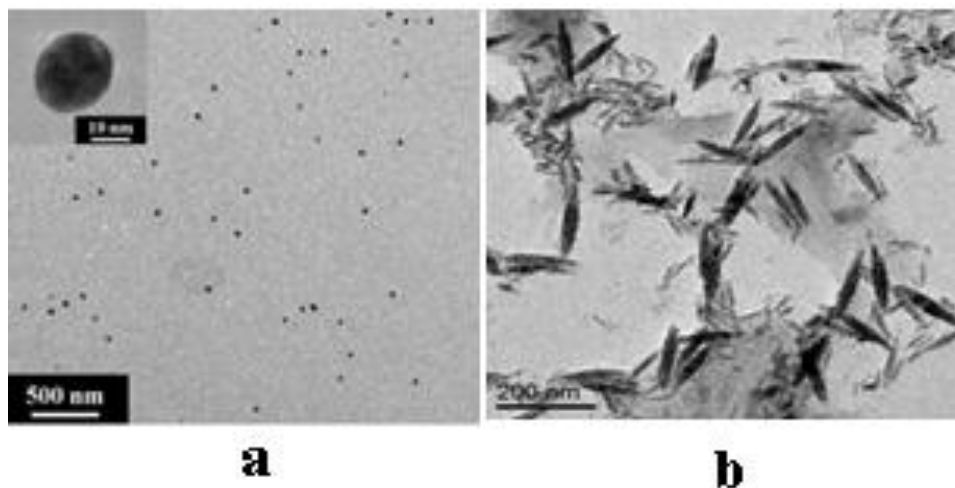
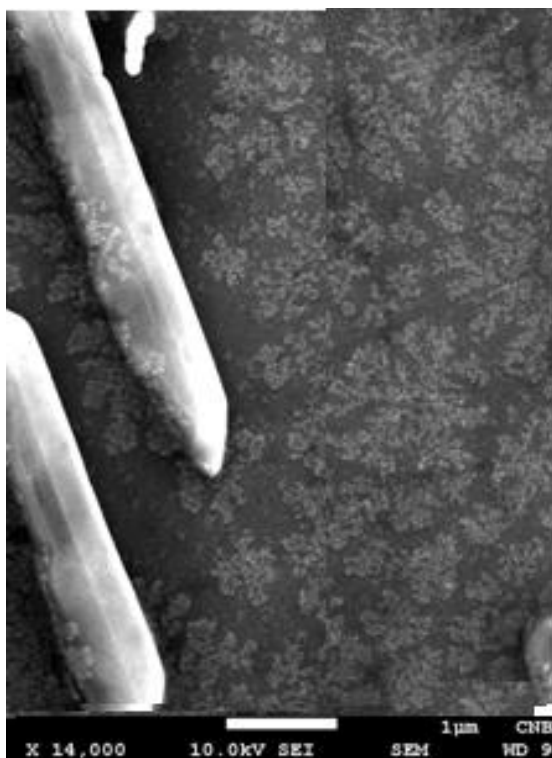


Рисунок 1. ПЭМ снимки наночастиц золота: а) сферические из массивного раствора HAuCl_4 ; б) фузиформные из нанораствора HAuCl_4

Например, при цитратном восстановлении из водного раствора золотохлористоводородной кислоты HAuCl_4 , полученного растворением массивного золота, образуются энергетически выгодные сферические наночастицы золота, в то время как из нанораствора HAuCl_4 , полученного растворением наночастиц, формируются энергоемкие фузиформные наночастицы золота. Формы наночастиц, синтезированных восстановлением из обычного раствора и из нанораствора золота, представлены на рис. 1.

Также наночастицы золота изучены на сканирующем электронном микроскопе (Jeol 7001TTLS) в нанобиомедцентре университета Адама Мицкевича в г. Познань (Польша).

На рис. 2 – изображение нанопалочек на электронном микроскопе СЭМ снимок образца. Видны фрагменты муцина в виде фракталов и нанопалочки золота диаметром 50 нм. Диаметр нанопалочек золота из нанораствора совпадает с диаметром сферических наночастиц золота, синтезированных авторами [4, 6]. Авторы этой работы установили низкую цитотоксичность наночастиц золота с диаметром 50 нм (см. рис. 2).



***Рисунок 2. Изображение нанопалочек на электронном микроскопе СЭМ.
Снимок образца***

Экспериментальная часть работы выполнена на 28 молодых кроликах серебристого и белого цвета массой 4–6 кг (2 группы по 14 животных в каждой). Животные выводились из эксперимента в сроки на 30 сутки. Экспериментальная модель костного дефекта производилась следующим образом. После предварительной подготовки операционного поля, а именно сбривания шерсти в области угла нижней челюсти, животные фиксировались на операционном столе. Затем проводили внутримышечный наркоз (кетамин 5 %–2,5 мл) + местная анестезия раствором новокаина 0,5 %–2,0 мл, отступя от края угла нижней челюсти, скальпелем производили разрез кожи 1–1,5 см, отслаивали кожно-жировой лоскут, мышцы раздвигали с помощью крючков, доходили до надкостницы, которая так же отслаивалась. Далее с помощью бормашины и шаровидной фрезы диаметром 3,5 мм животным производили остеэктомию для создания костного дефекта диаметром 0,7–0,8 мм и глубиной 0,5 мм. Затем после сглаживания краев костного дефекта проводили заполнение костной полости кровоостанавливающей губкой, пропитанной наночастицами золота. После чего послеоперационная рана ушивалась кетгутовой нитью.

На линию швов накладывалась асептическая повязка, пропитанная йодоформом, на 3–4 часа. После окончания сроков на 30 сутки с помощью внутримышечного наркоза (кетамин 5 %–5,0 мл) животные выводились из эксперимента. Резецировалась нижняя челюсть, затем выпиливались костные блоки в размере 1–2 см с костным дефектом посередине. Далее проводилась декальцинация костных блоков, из которых готовились морфо-препараты.

Животным 1-ой группы (14 кроликов) после создания вышеуказанного костного дефекта проводили заполнение костного дефекта гемостатической губкой, пропитанной наночастицами золота. Как показало морфологическое исследование 1-ой группы животных на 30-е сутки, во всех наблюдениях костный дефект полностью замещен зрелой соединительной тканью с хорошо сформированным капиллярами, в просвета которых имеются элементы крови, т. е. соединительная ткань хорошо кровоснабжена. При окраске срезов по ван-Гизону видно, что большая часть волокон рубца коллагеновые, имелись и эластические волокна, но их значительно меньше, чем в контрольной группе экспериментальных животных. По сравнению с предыдущими наблюдениями, площадь костной ткани значительно превосходит площадь рубцовой тканью, т. е. наблюдается тенденции постепенного замещения рубца костной тканью (см. рис. 3).

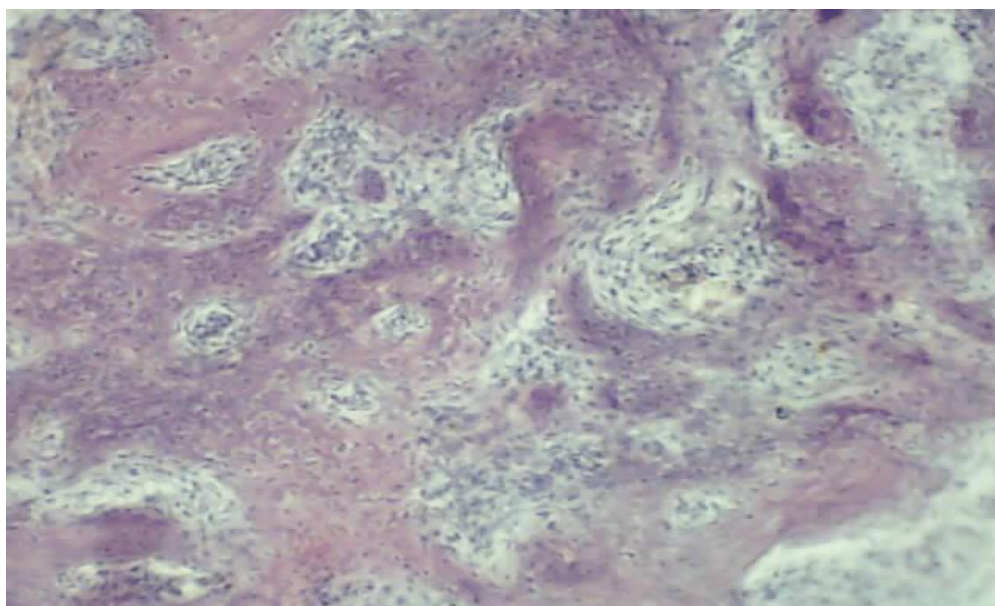


Рисунок 3. Микропрепарат с применением наночастиц золота с образованием большого количества остеобластов

Животные контрольной группы (14 кроликов) на 30-е сутки наблюдения. Морфологическое исследование показало: из клеточных элементов соединительнотканного рубца преобладают более зрелые элементы – фиброциты. Помимо типичных соединительных клеток, имелось довольно значительное количество крупных, полигональной формы клеток-остеобластов, которые локализованы преимущественно по периферии рубцов, и единичные в толще. Помимо них в рубце встречаются единичные макрофаги и небольшие и лимфоидные скопления. Последние обнаруживаются и в толще рубцов. Обращает внимание окраска вновь образованных костных пластинок, они неравномерно базофильны, что расценено нами как неравномерная минерализация. Небольшие поля минерализации имеются в рубцах. Костные регенераты соединены между собой своеобразными перемычками, и в этих пространствах между ними располагается зрелая соединительная ткань, образования костной ткани не наблюдается (см. рис. 4).

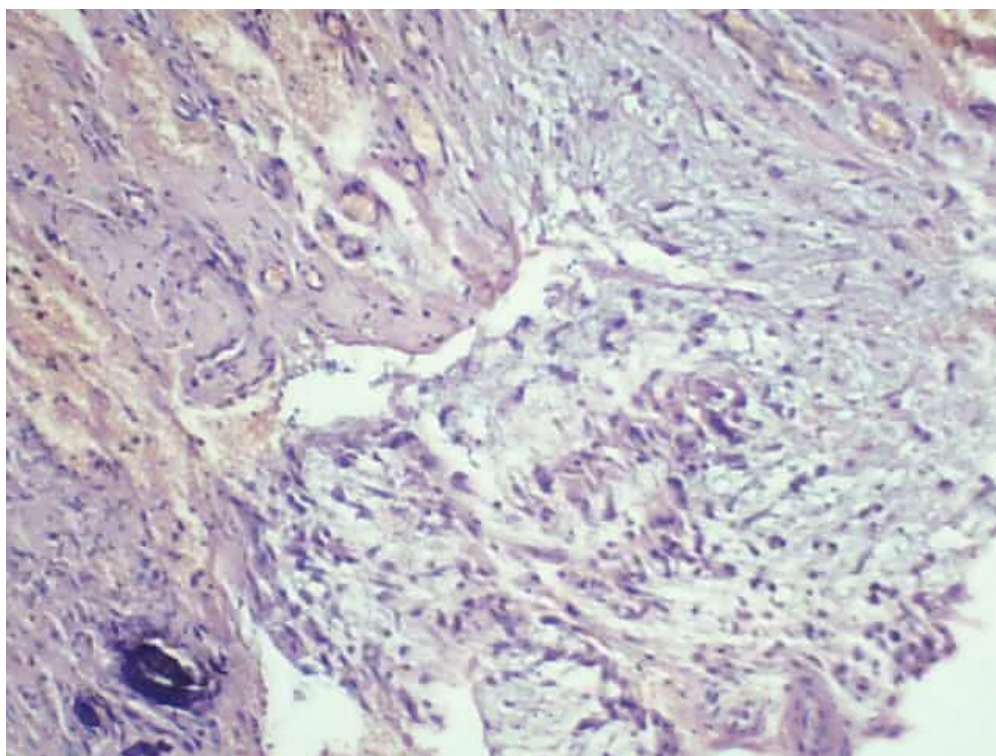


Рисунок 4. Микропрепарат контрольной группы экспериментальных животных с отсутствием остеобластов, показана выраженное воспалительное явление

Выводы: Таким образом, закономерности процесса в репарации в группе животных, у которых применялись наночастицы золота, на 30-е сутки видны количественные и качественные отличия. Гистологические данные показали формирование типичных структур, характерные для нормальной костной ткани. По нашему мнению, восстановительные процессы при применении наночастиц золота идут двумя путями. Во-первых, из грануляционной ткани, которая заполняет костной дефект, выделяются группа мезенхимальных клеток, трансформирующихся в остеобласты, которые строят костную ткань. Во-вторых, интенсивная васкуляризация грануляционной ткани приводит к минерализации рубца с дальнейшей трансформацией его в хрящевую, затем костную ткань. В контрольной же группе животных обнаруженные при гистологическом исследовании изменения позволяют говорить о том, что репарация костной ткани происходит путем замещения дефекта грануляционной тканью, в которой еще сохраняются явления воспаления в виде лимфоидных элементов и лейкоцитов. В то же время виден синтез соединительно-тканых волокон и формирование новых сосудов, некоторые из которых анастомозируют с предшествующими кровеносными сосудами. Выдели пласт группа миотически активных клеток остеобластов, и начинается минерализация отдельных участков грагуляционной ткани.

Список литературы:

1. Борисенко А.В., Ткач О.Б., Левицкий А.П. Влияние оральных аппликаций силикагеля, содержащего наночастицы золота или серебра на степень дисбиоза десны крыс после воздействия липополисахарида // Вісник стоматології. — 2013. — № 3 (84). — С. 2 — 4.
2. Борисенко А.В., Ткач О.Б., Линовичкая О.В. и др. Экспериментальное обоснование применения препаратов нанозолота для лечения заболеваний пародонта // Стоматолог-практик. — 2014. — № 1. — С. 58 — 62.

3. Левицкий А.П., Хлыстун Н.Л., Ступак Е.П. и др. Влияние аппликаций геля с протамином на биохимические показатели воспаления и дисбиоза в десне крыс // Вісник стоматології. — 2012. — Спец. выпуск № 7. — С. 9 — 12.
4. Маметова А.С., Сатиев М.О., Гаффарова Х.И. и др. Самоорганизация наночастиц серебра в импульсной плазме в жидкости // Известия ОшТУ. — Ош, 2011. — № 2. — С. 123 — 127.
5. Москаленко В.Ф., Лісовий В.М., Чекман І.С. и др. Наукові основи наномедицини, нанофармакології та нанофармації // Науковий вісник національного медичного університету імені О.О. Богомольця. — 2009. — № 2. — С. 17–31.
6. Сулайманкулова С.К., Маметова А.С., Гаффарова Х.И. Наночастицы в медицине // Международный семинар «Проблемы использования современных химических технологий в биомедицине и здравоохранении». — Бишкек, 2008. — С. 73 — 77.
7. Сулайманкулова С.К., Маметова А.С., Гаффарова Х.И. и др. Способ получения нанорастворов // Патент КР № 1502. — приоритет 2011 г. — зарегистрировано 2012 г.
8. Чекман И.С., Маланчук В.А., Гордейчук М.А. Нанотехнологии и наноматериалы: применение в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии // Укр. Мед. Часопис. — 2009. — № 6 (74). — XI/XII. — С. 95 — 97.
9. Staroverov S.A., Aksinenko N.M., Gabalov K.P. et al. Nanotechnology // Gold Bull. — 2009. — V. 42. — P. 153 — 156.