

В. Н. Почтарь

ЛЕЧЕБНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРО-, ПРЕ- И СИНБИОТИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СТОМАТИТЕ

ГУ «Інститут стоматології НАМН України»

Как известно, в патогенезе стоматитов значительную роль играет микробный фактор [1, 2]. Нарушения в системе орального микробиоценоза, обозначаемые обычно как дисбактериоз (дисбиоз), состоят в изменении видового и количественного состава микроорганизмов, обитающих в полости рта и, главным образом, на поверхности слизистой оболочки [3, 4].

Для нормализации орального микробиоценоза и устранения дисбиотических нарушений в полости рта предложено использовать не только антимикробные средства [5], а в последнее время и промикробные, направленные на восстановление численности пробиотической микрофлоры, представленной бифидобактериями, лактобациллами, пропионибактериями и рядом видов стрептококков [6-8]. В качестве промикробных препаратов используют пробиотики (живые пробиотические бактерии), пре-биотики (вещества, стимулирующие рост пробиотической микрофлоры) и синбиотики (сочетание про- и пребиотиков).

Целью настоящего исследования явилось изучение лечебного действия препаратов про-, пре- и синбиотиков при экспериментальном стоматите.

Материалы и методы исследования. Эксперименты были проведены на 60 крысах линии Вистар (самцы, возраст 2 месяца, средняя масса 150 ± 10 г), разделенных на 6 равных групп:

- 1-ая – интактные;
- 2-ая – экспериментальная модель стоматита (ЭС);

3-я – ЭС + «Бифидумбактерии»;

4-ая – ЭС + «Лактобактерин»;

5-ая – ЭС + инулин;

6-ая – ЭС + «Бактулин».

Экспериментальное моделирование стоматита осуществляли следующим образом [9, 10]. Вначале крысы 2-6 групп получали в течение 5 дней с питьевой водой антибиотик линкомицин в дозе 60 мг/кг. После этого на 6 и 7 дни опыта на слизистую полости рта наносили суспензию пчелиного яда (по 2 мл, 2 мг яда на крысу дважды в день). Начиная с 8-го дня опыта и в течение 5 дней животным 2-й группы (контроль) орошали слизистую водой, животным 3-й группы – суспензией бифидобактерина в дозе 10^7 КОЕ на 1 крысу, 4-й – суспензией лактобактерина в дозе 10^7 КОЕ/крысу, 5-й – суспензией инулина в дозе 70 мг/крысу и 6-й – суспензией синбиотика «Бактулин» в дозе 10^7 КОЕ/крысу и 50 мг инулина/крысу.

На 13-й день крыс умерщвляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг), иссекали слизистую щеки и языка и сохраняли до исследования при -30°C в герметичной таре.

Гомогенаты слизистой готовили из расчета 50 мг ткани на 1 мл 0,01М три-НСІ буфера pH 7,5 и для исследования активности ферментов (маркеров воспаления) использовали надосадочную жидкость. Центрифугирование осуществляли в рефрижераторной центрифуге при 3000 об/мин в течение 15 минут при температуре $+4^{\circ}\text{C}$.

Активность фосфолипазы А₂ (ФЛА₂) определяли по методу [11]. Общую протеолитическую активность (ОПА) определяли казеинолитическим методом [12], актив-

ность кислой фосфатазы (КФ) – по гидролизу р-нитрофенилфосфата [12].

Результаты и их обсуждение. В табл. 1 представлены результаты определения активности трех ферментов, являющихся маркерами воспалительно-дистрофических процессов [12]. Как видно из этих данных, при воспроизведении стоматита (локальное действие пчелиного яда на фоне дисбиоза) [10] наблюдается значительное повышение уровня всех трех маркеров воспаления, особенно ФЛА₂, активность которой вообще не определяется в слизистой щеки здоровых крыс. Все выбранные нами препараты регуляторов микробиоценоза достоверно снижают активность ФЛА₂, причем в наибольшей степени это произошло под влиянием «Бактулина», содержащего бифидобактерии, лактобациллы, а также пребиотик инулин. ОПА достоверно снижается после применения пробиотиков и синбиотика, а при действии инулина наблюдается лишь тенденция к снижению. Аналогичная ситуация отмечена и в отношении лизосомального фермента – кислой фосфатазы: пробиотик и синбиотик достоверно снижают ее активность, а пребиотик инулин снижает, однако $p>0,05$.

В табл. 2 представлены результаты определения уровня биохимических маркеров воспаления в слизистой оболочке языка крыс, которым воспроизводили стоматит и лечили его препаратами про-, пре- и синбиотиков.

Как и в слизистой щеки, в слизистой языка здоровых крыс активность ФЛА₂ отсутствует. Она

Таблиця 1

Влияние про-, пре- и синбиотиков на уровень маркеров воспаления в слизистой оболочке щеки крыс с экспериментальным стоматитом (n=10)

№ п/п	Група	ФЛА, мк-кат/кг	ОПА, нкат/кг	КФ, мк-кат/кг
1	Интактные	0	68,0±7,2	5,7±0,2
2	Экспериментальный стоматит (ЭС)	334±30 p<0,001	128,5±9,1 p<0,001	15,5±0,8 p<0,001
3	ЭС + «Бифидумбактерин»	92±17 p<0,001 p<0,001	109,5±10,9 p<0,05 p>0,05	10,4±0,4 p<0,001 p<0,01
4	ЭС + «Лактобактерин»	72±21 p<0,001 p<0,001	100,5±9,8 p<0,05 p<0,05	9,5±0,5 p<0,001 p<0,001
5	ЭС + инулин	191±20 p<0,001 p<0,001	116,9±9,1 p<0,01 p>0,5	13,4±1,1 p<0,001 p>0,05
6	ЭС + «Бактулин»	58±17 p<0,001 p<0,001	102,3±6,1 p<0,01 p<0,05	12,2±0,4 p<0,001 p<0,05

p – показатель достоверности различий с группой № 1; p₁ – показатель достоверности различий с группой № 2.

Таблиця 2

Влияние про-, пре- и синбиотиков на уровень маркеров воспаления в слизистой оболочке языка крыс с экспериментальным стоматитом (n=10)

№ п/п	Група	ФЛА, мк-кат/кг	ОПА, нкат/кг	КФ, мк-кат/кг
1	Интактные	0	88,0±6,2	7,7±0,8
2	Экспериментальный стоматит (ЭС)	243±34 p<0,001	252,9±19,3 p<0,001	12,5±1,2 p<0,01
3	ЭС + «Бифидумбактерин»	88±14 p<0,001 p<0,01	195,4±5,5 p<0,001 p<0,05	9,9±0,9 p>0,05 p>0,05
4	ЭС + «Лактобактерин»	65±16 p<0,001 p<0,001	202,2±5,7 p<0,001 p<0,05	7,9±0,4 p>0,06 p<0,01
5	ЭС + инулин	108±26 p<0,001 p<0,01	198,4±5,6 p<0,001 p<0,05	11,1±1,1 p<0,05 p>0,3
6	ЭС + «Бактулин»	82±9 p<0,001 p<0,001	204,5±6,1 p<0,001 p<0,05	9,6±1,0 p>0,05 p>0,05

p – показатель достоверности различий с группой № 1; p₁ – показатель достоверности различий с группой № 2.

появляется при стоматите и достоверно снижается при лечении.

ОПА слизистой языка при стоматите возрастает в 3 раза и достоверно снижается после применения всех препаратов. Активность кислой фосфатазы в слизистой языка также возрастает при стоматите, однако достоверное снижение уровня этого фермента наблюдается лишь после применения «Лактобактерина».

Таким образом, проведенные нами исследования показывают высокую диагностическую и прогностическую ценность предложенных ранее [12] биохими-

ческих маркеров воспалитель- но-дистрофических процессов в

тканях полости рта. Результаты наших исследований, свидетельствующие о лечебном действии про- и пребиотиков, дают дополнительные основания считать дисбиоз важнейшим этиопатогенетическим фактором стоматита.

Мы не нашли существенных различий в действии разных препаратов пробиотиков, однако действие лишь одного пребиотика оказалось несколько слабее. Возможно, нами была выбрана не самая эффективная доза инулина и будущие исследования в этом

направлении дадут более четкую информацию по этому вопросу.

Выводы

1. При экспериментальном стоматите на фоне дисбиоза значительно возрастает в слизистой оболочки полости рта активность маркеров воспаления: ФЛА, ОПА и КФ.

2. Препараты про-, пре-, синбиотики снижают активность маркеров воспаления, что свидетельствует об их лечебном действии при стоматитах.

3. Существенной разницы в противовоспалительном действии про-, пре-, и синбиотиков не выявлено.

Література

1. Дисбіотичні аспекти патогенеза, профілактики і лічення стоматологічних захворювань / А. П. Левицкий, А. К. Ніколишин, Е. П. Ступак [і др.] // Проблеми екології та медицини. – 2011. – Т. 15, № 3-4. – додаток 1. – С. 103.
2. Лобань Г. А. Роль резидентної мікрофлори в розвитку патологічних процесів порожнини рота / Г. А. Лобань // Український стоматологічний альманах. – 2009. – № 3. – С. 3-5.
3. Мікрофлора полости рта: норма і патологія / Е. Г. Зеленова, М. І. Заславська, Е. В. Салина [і др.]. – Н. Новгород: НГМА, 2004. – 158 с.
4. Мартынова Е. А. Полость рта как локальная экологическая система / Е. А. Мартынова, И. М. Макеева, Е. В. Рожнова // Стоматология. – 2008. – № 3. – С. 68-75.
5. Савичук Н. О. Микроэкология полости рта, дисбактериоз и пути его коррекции / Н. О. Савичук, А. В. Савичук // Современная стоматология. – 2002. – № 4. – С. 9-12.
6. Левицкий А. П. Физиологическая микробная система полости рта / А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2007. – № 1. – С. 6-11.
7. Левицкий А. П. Пребіотики і проблема дисбактеріоза / А. П. Левицкий, Ю. Л. Волянський, К. В. Скідан // Хар'ков : ЭДНА, 2008. – 100 с.
8. Регуляция микробиоценоза полости рта с помощью про- и пре-биотиков / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, Л. Н. Россаханова [і др.] // Вісник стоматології. – 2008. – № 1. – С. 12-13.
9. Пат. 36218 Україна. МПК (2008) A61K 36/18. Спосіб моделювання гингіvitу / А. П. Левицький, О. Селіванська, О. А. Макаренко [та ін.]; заявл. 04.03.08; опубл. 27.10.08, Бюл. № 20.
10. Ткачук Н. И. Биохимические изменения в тканях полости рта крыс при воспроизведении стоматита с помощью пчелиного яда / Н. И. Ткачук, В. Я. Скиба, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2007. – № 6. – С. 16-20.
11. Левицкий А. П. Вплив бджолиного яда на активність фосфоліпази А2 з підшлункової залози і бджолиного отрути / А. П. Левицкий, Л. М. Розсаханова // Досягнення біології та медицини. – 2007. – № 1 (9). – С. 8-11.
12. биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости (метод. рекомендации) / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [і др.] – Одесса, 2010. – 16 с.

Стаття надійшла
11.06.2012 р.

Резюме

У худьків після воспроизведення стоматита (аппікації на слизисту полости рта пчелиного яда на фоне дисбіозу) установлено достовірне підвищення активності маркерів воспалення – фосфоліпази А₂, обичної протеолітичної активності та кислої фосфатази. Орошення полости рта суспензіями препаратів про-, пре- і синбіотиків снижує рівень маркерів воспалення, причем слабіше в цьому відношенні оказался пребіотик інулін.

Ключові слова: стоматит, дисбіоз, маркери воспалення, пробіотики, пребіотики, синбіотики.

Résumé

У худьків після відтворення стоматиту (аппікації на слизову оболонку порожнини рота бджолиного отрути на тлі дисбіозу) встановлено достовірне підвищення активності маркерів запалення – фосфоліпази А₂, загальної протеолітичної активності та кислої фосфатази. Зрошення порожнини рота суспензіями про-, пре- і синбіотиків знижує рівень маркерів запалення, причому слабішим у цьому відношенні виявився пребіотик інулін.

Ключові слова: стоматит, дисбіоз, маркери запалення, пробіотики, пребіотики, синбіотики.

Summary

Reliable increase of the activity of inflammation marker phospholipase A₂, general proteolytic activity and acid phosphatase was fixed in rats with the reproduced stomatitis (apitoxin was applied to their oral cavity at the dysbiosis background). Oral cavity irrigation with the suspensions of pro-, pre- and symbiotics preparations reduce the inflammation marker level. The weakest effect was reached with the application of prebiotic inulin.

Key words: stomatitis, dysbiosis, inflammation markers, probiotics, prebiotics, symbiotics.