

УДК 616.731-07.23.008+612.045.11

Е. П. Ступак, к. мед. н.

ВГУУ "Украинская медицинская стоматологическая академия"

**ВЛИЯНИЕ ПРЕБИОТИКОВ
НА БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ
ВОСПАЛЕНИЯ И АНТИОКСИДАНТНОЙ
ЗАЩИТЫ В ДЕСНЕ КРЫС
С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ САХАРНЫМ
ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

Моделирование сахарного диабета 2 типа (СД2) с помощью протамина вызывает у крыс развитие в десне воспалительно-дистрофических процессов, оцениваемых снижением уровня антиоксидантной системы.

Испытанные препараты пребиотиков (лизозим, кверцетин, виноградная мука, водный экстракт из ягод черники, мукозин) оказали лечебно-профилактическое действие, особенно, кверцетин и водный экстракт из ягод черники.

Ключевые слова: сахарный диабет 2 типа, пребиотики, десна, воспаление, дисбиоз

О. П. Ступак

ВДУЗ «Українська медична стоматологічна академія»

**ВПЛИВ ПРЕБІОТИКІВ НА БІОХІМІЧНІ
МАРКЕРИ ЗАПАЛЕННЯ
І АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ В ЯСНАХ
ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ
ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ**

Моделювання цукрового діабета 2 типу (СД2) за допомогою протаміну викликає у щурів розвиток в яснах запально-дистрофічних процесів, які визначали зниженням рівня антиоксидантної системи.

Досліджувані препарати пребіотиків (лізоцим, кверцетин, виноградне борошно, водний екстракт з ягід чорниці, мукозин) виявили лікувально-профілактичну дію, особливо, кверцетин і водний екстракт з ягід чорниці.

Ключові слова: цукровий діабет 2 типу, пребіотики, ясна, запалення, дисбіоз.

Е. P. Stupak

HSEE "Ukrainian Medical Dental Academy"

**THE INFLUENCE OF PREBIOTICS
ON BIOCHEMICAL MARKERS
OF INFLAMMATION AND ANTIOXIDANT
PROTECTION IN GUM OF RAT WITH
EXPERIMENTAL II TYPE DIABETES MELLITUS**

The simulation of II type diabetes mellitus (DMII) with the help of protamine causes in rats the development of inflammatory and dystrophic processes, estimated by the decrease of the level of antioxidant system.

The tested preparations of prebiotics (lysozyme, quercethin, grape powder, water extract of bilberries, mucosine) were of treatment and preventive effect, especially, quercethin and water extract of bilberry.

Key words: II type diabetes mellitus, prebiotics, gum, inflammation, disbiosis.

В последние годы получены убедительные доказательства участия микрофлоры в развитии сосудистых осложнений сахарного диабета [1-4]. Показано,

что чрезмерное поступление сахара с пищей или напитками вызывает появление дисбиоза в кишечнике и в полости рта крыс [5]. Моделирование кишечного дисбиоза предопределяет появление сосудистых нарушений, характерных для сахарного диабета [6]. Показано, что значительная часть патологических изменений, наблюдаемых при сахарном диабете, может быть воспроизведена при введении кишечного эндотоксина (липополисахарида), образуемого Грамотрицательными бактериями, большинство из которых относится к условно-патогенным [7]. Известно, что устранение явлений дисбиоза можно осуществить с помощью препаратов про- или пребиотиков [8, 9]. Учитывая, что пробиотики оказывают кратковременный лечебный эффект [9], в последние годы все больше внимания уделяется пребиотикам, которые представлены веществами, стимулирующими рост собственной пробиотической микрофлоры [9].

Цель настоящего исследования. Равнительное изучение лечебно-профилактического действия ряда препаратов пребиотиков, относящихся к различным классам соединений (ферменты, биофлавоноиды, витамины, ингибиторы ферментов) на состояние десны крыс, у которых воспроизводили сахарный диабет 2 типа. Выбор для исследования этой формы диабета обусловлен тем обстоятельством, что почти 90% больных сахарным диабетом, страдают именно диабетом 2 типа, в котором решающим патогенетическим звеном является инсулинорезистентность [10].

Материалы и методы исследования. Исследования были проведены на белых крысах линии Вистар (самцы, 5 месяцев, живая масса 260±10 г). Всего в опыте было использовано 49 крыс, у 42 из которых воспроизводили сахарный диабет 2 типа (СД2) по методу Ульянова и Тарасова (2000) [11] путем внутримышечного введения протамин сульфата в дозе 4,5 мг/кг 2 раза в день (утром и вечером). В качестве пребиотических препаратов были использованы фермент лизоцим из яичного белка («Afilact», производства фирмы «CHR. Hansen», Дания), биофлавоноид кверцетин (фармпрепарат, производства фирмы «Merck», Германия), виноградная мука (измельченные сухие листья винограда сорта Изабелла), водный экстракт из ягод черники с концентрацией сухих веществ 4,9 % и препарат "Мукозин" (ацетоновый порошок слизистой оболочки кишки свиньи, содержащий гепарин). Все животные были разделены на 7 равных групп (табл. 1). Препараты пребиотиков начинали вводить с первого дня опыта в течение 10 дней. Умерщвление животных осуществляли на 14-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Иссекали десну, готовили из нее гомогенат (20 мг/мл 0,05М трис-НСl-буфера рН 7,5) и использовали для биохимических исследований надосадочную жидкость после центрифугирования при 2500 г 15 минут при температуре +4°C. В гомогенате десны определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [12], активность эластазы [12] и каталазы [12]. По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [12].

Таблица 1

Характеристики групп крыс, использованных в опыте (во всех группах n=7)

№ п/п	Группа	Вводимый препарат	Доза на 1 крысу
1	Норма (интактные)	–	–
2	СД2 + плацебо	гель КМЦ	0,5 мл/крысу
3	СД2 + лизоцим	гель яичный лизоцим	0,5 мл/крысу 1 мг/крысу
4	СД2 + кверцетин	гель кверцетин	0,5 мл/крысу 1 мг/крысу
5	СД2 + виноградная мука	гель виноградная мука	0,5 мл/крысу 10 мг/крысу
6	СД2 + водный экстракт из ягод черники	с питьевой водой	2 мл/крысу
7	СД2 + мукозин	гель мукозин	0,5 мл/крысу 10 мг/крысу

Таблица 2

Влияние пребиотических препаратов на уровень эластазы в десне крыс с сахарным диабетом 2 типа (СД2)

№ п/п	Группы	Эластаза, мк-кат/кг	% изменения активности
1	Норма (интактные)	44±3	-100
2	СД2 + плацебо	55±2 p<0,05	0
3	СД2 + лизоцим	47±3 p>0,3 p ₁ <0,05	-72,7
4	СД2 + кверцетин	47±2 p>0,3 p ₁ <0,05	-72,7
5	СД2 + виноградная мука	45±4 p>0,6 p ₁ <0,05	-90,9
6	СД2 + водный экстракт из ягод черники	47±3 p>0,3 p ₁ <0,05	-72,7
7	СД2 + мукозин	52±3 p>0,05 p ₁ >0,3	-27,2

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

Результаты и их обсуждение. Одним из маркеров воспаления в десне является фермент эластаза, продуцируемая, главным образом, лейкоцитами и обладающая широким спектром деструктивного действия на белки [12]. В табл. 2 представлены результаты определения в десне крыс с СД2 активности эластазы. Из этих данных видно, что моделирование СД2 достоверно увеличивает уровень эластазы в десне, а большинство испытанных пребиотиков (за исключением мукозина) достоверно снижают (почти до нормы) активность эластазы. Наиболее эффективным препаратом оказалась мука из виноградных листьев, в которой имеется очень высокое содержание Р-витаминных веществ, представленных биофлавоноидами [13].

Результаты определения второго маркера воспаления – МДА – представлены в табл. 3, из которой видно, что этот показатель, отражающий интенсивность свободнорадикальных процессов окисления, существенно увеличен в десне крыс с СД2 (p<0,001). Все без исключения препараты достоверно снижали уровень МДА, особенно, водный экстракт из пасты черники. Приближается к нему по способности снижать концентрацию МДА в десне, кверцетин, обладающий, как известно, широким спектром биологического действия.

В отличие от МДА, активность антиоксидантного фермента каталазы достоверно снижается при СД2 и лишь два препарата (кверцетин и водный экстракт из ягод черники) достоверно повышают (табл. 4). Все остальные препараты пребиотиков проявляют тенденцию к увеличению активности этого фермента.

Результаты определения индекса АПИ в десне крыс с СД 2 типа представлены в табл. 5. Как видно из этих данных, характер изменения уровня индекса АПИ напоминает особенности изменения активности каталазы в десне крыс с СД2, однако, если последняя

снижается на 14 %, то индекс АПИ снижается в 2,6 раза. Все испытанные препараты пребиотиков достоверно повышают уровень АПИ, причем в наибольшей степени кверцетин и водный экстракт черники.

Таблица 3

Влияние пребиотических препаратов на содержание МДА в десне крыс с СД2

№ п/п	Группы	МДА, ммоль/кг	% изменения содержания
1	Норма (интактные)	14,56±0,74	-100
2	СД2 + плацебо	26,22±1,02 p<0,001	0
3	СД2 + лизоцим	18,89±0,80 p<0,01 p ₁ <0,01	-65,3
4	СД2 + кверцетин	16,35±0,55 p>0,05 p ₁ <0,001	-85,5
5	СД2 + виноградная мука	19,10±1,06 p<0,01 p ₁ <0,01	-63,3
6	СД2 + водный экстракт из ягод черники	15,60±0,43 p>0,05 p ₁ <0,001	-21,6
7	СД2 + мукозин	18,16±1,08 p<0,05 p ₁ <0,001	-70,9

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

Таблица 4

Влияние пребиотических препаратов на активность каталазы в десне крыс с СД2

№ п/п	Группы	Каталаза, мкат/кг	% изменения активности
1	2	3	4
1	Норма (интактные)	8,86±0,34	+100
2	СД2 + плацебо	7,59±0,42 p<0,05	0
3	СД2 + лизоцим	7,97±0,38 p>0,05 p ₁ >0,3	+29,9
4	СД2 + кверцетин	8,71±0,36 p>0,5 p ₁ <0,05	+88,2
5	СД2 + виноградная мука	7,85±0,44 p>0,05 p ₁ >0,3	+20,5
6	СД2 + водный экстракт из ягод черники	8,59±0,32 p>0,5 p ₁ >0,1	+78,7
7	СД2 + мукозин	7,86±0,46 p>0,05 p ₁ >0,5	+21,3

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

Таблица 5

**Влияние пребиотических препаратов на индекс АПИ
в десне крыс с СД2**

№ п/п	Группы	АПИ, ед.	% изменения уровня
1	Норма (интактные)	7,66±0,51	+100
2	СД2 + плацебо	2,89±0,20 p<0,001	0
3	СД2 + лизоцим	4,23±0,29 p<0,01 p ₁ <0,05	+28,1
4	СД2 + кверцетин	5,33±0,31 p<0,05 p ₁ <0,01	+51,2
5	СД2 + виноградная мука	4,11±0,284 p<0,01 p ₁ <0,05	+25,6
6	СД2 + водный экстракт из ягод черники	5,51±0,32 p<0,05 p ₁ <0,01	+54,9
7	СД2 + мукозин	4,33±0,27 p<0,01 p ₁ <0,05	+30,2

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

Сходство в характере действия на уровень факторов прооксидантной и антиоксидантной систем биофлавоноида кверцетина и водного экстракта из ягод черники может свидетельствовать о наличии в водном экстракте черники биофлавоноидов, возможно, кверцетина. Кстати, именно водный экстракт черники в наибольшей степени снижает уровень глюкозы в крови (с 7,12±0,20 ммоль/л у крыс с СД2 до 5,55±0,50 ммоль/л у крыс СД2, получавшим водный экстракт черники). Достоверное гипогликемическое действие на уровень сахара в крови крыс с СД2 оказывает и кверцетин (6,27±0,24 ммоль/л, p<0,05), тогда как все остальные препараты пребиотиков проявляют лишь тенденцию к снижению уровня гликемии. В то же время, если судить по характеру изменения активности другого маркера воспаления – эластазы, то все испытанные препараты (кроме мукозина) достоверно снижали эластазную активность, существенно не отличаясь друг от друга.

На основании проведенных нами исследований можно считать одним из наиболее перспективных лечебно-профилактических препаратов пребиотического действия биофлавоноид кверцетин, обладающий очень широким спектром фармакологических свойств [14]. Не менее перспективным, нам кажется, и дальнейшее изучение водного экстракта из ягод черники.

Выводы. 1. Моделирование СД 2 типа у крыс вызывает развитие в десне воспалительно-дистрофических процессов, обусловленных, в определенной степени, снижением уровня антиоксидантной системы.

2. Из испытанных препаратов пребиотиков наиболее эффективным оказались кверцетин и водный экстракт из ягод черники.

Список литературы

1. **Sykes L. M.** Potential risk of serious oral infections in the diabetic patient: a clinical report / L.M. Sykes, A.Sukha // J. Pros. Dent. – 2001. – V. 86. – P. 569-573.
2. **Патогенетическая** роль дисбактериоза в развитии осложненных сахарного диабета I типа у детей / Г.Н. Розанова, Д.А. Воеводин, М.А. Стенина [и др.] // БЭБИМ. – 2002. – Т. 133, № 2. – С. 196-198.
3. **Antibiotic** treatment partially protects against type 1 diabetes in the bio-breeding diabetes-prone rat. Is the gut flora involved in the development of type 1 diabetes? / Brugman S., Klatter F.A., Visser J.T.J. [et al.] // Diabetologia. – 2006. – V. 49, № 9. – P. 2105-2108.
4. **Скрипников П. Н.** Особенности микробиоценоза слизистой оболочки полости рта у больных сахарным диабетом 2 типа и атеросклерозом, его коррекция антиоксидантами / П.Н. Скрипников, О.Г. Суковач // Вісник проблем біології і медицини. - 2007. - № 3. - С. 134-137.
5. **Левицкий А. П.** Дисбиотические и провоспалительные эффекты сахарной нагрузки (экспериментальные исследования) / А.П. Левицкий, Ю.В. Цисельский // Международный эндокринологический журнал. - 2009. - № 5 (23). - С. 137-140.
6. **Цісельський Ю.В.** Дисбіотичні аспекти патогенезу, профілактики і лікування діабетичної ретинопатії / Ю.В. Цісельський // Автореф. дис. ... доктора мед. наук. – Одеса, 2011. – 30 с.
7. **Кишечный** эндотоксин в патогенезе воспалительной патологии глаз и антиэндотоксиновая составляющая ее лечения / Я.Х. Вышегуров, И.А. Апиховская, Ю.Е. Батманов [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – № 1. – С. 12-14.
8. **Левицкий А. П.** Обґрунтування патогенетичної ролі дисбіотичних умов порожнини рота у виникненні гінгівіту в експерименті / А.П. Левицкий, М.В. Лісничук, В.М. Зубачик // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2008. – № 2 (42). – С. 28-36.
9. **Левицкий А. П.** Пребиотики и проблема дисбактериоза / А.П. Левицкий, Ю.Л. Волянский, К.В. Скидан – Харьков: ЭДЭНА, 2008. – 100 с.
10. **Зиммет П.** Быстрый рост распространенности сахарного диабета II типа и угроза эпидемии этого заболевания в будущем / П. Зиммет // Український медичний часопис. – 2002. – № 3 (29). – С. 5.
11. **Ульянов А. М.** Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина / А.М. Ульянов, Ю.А. Тарасов // Вопросы медицинской химии. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 149-154.

12. **Биохимические** маркеры воспаления тканей ротовой полости: Метод. рекомендации / А.П. Левицкий, О.В. Денъга, О.А. Макаренко [и др.] – Одесса, 2010. – 16 с.

13. **Мука из** виноградных листьев – источник витамина Р в комбикормах / А.П. Левицкий, В.Т. Гулацкий, И.В. Ходаков [и др.] // *Зернові продукти і комбикорми*. – 2011. – № 1. – С. 30-33.

14. **Смірнов О.** Флавоноїди рутин і кверцетин. Біосинтез, будова, функції / О. Смірнов, О. Косик // *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. – 2011. – Вип. 56. – С. 3–11.

Поступила 03.07.12



УДК 615.451.16+616.316

**Т. П. Терешина, д. мед. н. И. В. Лучак,
И. К. Новицкая, к. мед. н**

ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины»
Одесский национальный медицинский университет

ВЛИЯНИЕ НАСТОЯ ЗОЛОТОТЫСЯЧНИКА НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ

Исследования проведены в эксперименте на «атропиновой» модели гипосаливации.

Установлено, что золототысячник оказывает влияние на слюнные железы, стимулируя парасимпатическую НС, медиатором которой является норадреналин. Это приводит к повышению активности слюнных желез с образованием более жидкой обильной слюны.

Ключевые слова: слюнные железы, функциональное активное, лекарственное растение золототысячник.

Т. П. Терешина, I. В. Лучак, I. К. Новицка

ДУ «Институт стоматології НАМН України»
Одеський національний медичний університет

ВПЛИВ НАСТОЮ ЗОЛОТОТИСЯЧНИКА НА ФУНКЦІОНАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ СЛІННИХ ЗАЛОЗ

Дослідження проведені в експерименті на «атропіновій» моделі гіпосаливації.

Встановлено, що золототисячник впливає на слинні залози, стимулюючи парасимпатичну НС, медіатором якої є норадреналін. Це приводить до підвищення активності слинних залоз із утворенням більш рідкої рясної слини.

Ключові слова: слинні залози, функціональна активність, лікарська рослина золототисячник.

T. P. Tereshina, I. V. Luchak, I. K. Novitskaja

SE "the Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine"
Odessa National Medical University

THE INFLUENCE OF INFUSION OF CENTAURY HERB ON FUNCTIONAL ACTIVITY OF SALIVARY GLANDS

The studies were held at the experiment with "atropine" simulation of hyposalivation.

Centaury was revealed to influence the salivary glands, stimulating parasympathetic NS, mediator of which norepinephrine is.

This fact results in the growth of the activity of salivary glands with production of more liquid abundant saliva.

Key words: salivary glands, functional activity, centaury herb.

Слюна, как естественная жидкая биологическая среда, играет огромную роль в жизнедеятельности зубов, слизистой оболочки полости рта и пародонта [1, 2]. Снижение секреции слюны является неблагоприятным фактором, способствующим развитию стоматологической патологии [3-5].

Известно, что деятельность слюнных желез регулируется вегетативной нервной системой (НС): симпатической и парасимпатической. Медиатором симпатической нервной системы является ацетилхолин, а парасимпатической – норадреналин установлено, что активация симпатической нервной системы подавляет генерацию слюны (в основном водной части). При этом слюны выделяется очень мало и она вязкая. Активация парасимпатической НС повышает активность слюнных желез с образованием более жидкой обильной слюны [5-7].

Золототысячник малый (зонтичный) – *Centaureum Minus Moench* содержит алкалоиды, среди которых преобладает генцианин, гликозиды (эритаурин, эритроцентаурин), олеаноловую и аскорбиновую кислоты [8]. Практически золототысячник содержит тот же набор алкалоидов, что и пилокарпин. Активизирует периферические холинорецепторы. Назначают золототысячник для стимуляции желез внешней секреции. В частности пищеварительных желез, с целью возбуждения аппетита, улучшения пищеварения и усиления перистальтики кишечника [9]

Цель настоящей работы состояла в изучении влияния лекарственного растения – золототысячника на функциональную активность слюнных желез.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены в эксперименте на «атропиновой» модели гипосаливации. Для этого на слизистую полости рта наносили 1 каплю р-ра атропина сульфата в концентрации 10 мг/мл ежедневно в течение 2-х недель. Золототысячник применяли в виде полоскания и питья.

Всего было 3 группы животных по 10 штук в каждой. 1-я группа контрольная (только аппликации атропина), 2-я группа - аппликации атропина + полоскание рта отваром золототысячника, 3-я группа - аппликации атропина + питье отвара золототысячника.

Животные находились в эксперименте 45 дней. Содержались на стандартном рационе.

По окончании исследований у животных под тиопенталовым наркозом изучали уровень слюновыделения, вначале спонтанно выделяющуюся слюну, а затем после пилокарпиновой стимуляции. Для оценки результатов использовали кривую валового слюноотделения, предложенную А.Б.Денисовым (фиксация время латентного периода до появления первой капли, время от окончания инъекции пилокарпина до появления первой капли)[10]. В первом и втором случае слюну собирали в течении 30 минут с дальнейшим перерасчетом на мл/мин.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований представлены в табл.