

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.153:588.152:616.633:612.31

**Ю. З. Лабуш¹, А. В. Марков¹, к. мед. н.,
В. М. Зубачик¹, д. мед. н.,
А. П. Левицький², д. біол. н.**

¹Львівський національний медичний університет
ім. Данила Галицького

²Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національної академії медичних наук України»

**ЛКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНА
ДІЯ ЛІЗОЦИМА-ФОРТЕ НА СЛИЗОВУ
ОБОЛОНКУ ЩОКИ ЩУРІВ, ЯКІ ОТРИМУ-
ВАЛИ ПЕРОКСИДНУ СОНЯШНИКОВУ
ОЛІЮ**

У щурів, які тривалий час отримували з кормом пероксидну соняшникову олію, розвивається стоматит, дисбіоз і знижується рівень антиоксидантного захисту і неспецифічного імунітету. Додаткове введення з кормом антидисбіотичного засобу лізоцим-форте здійснює мукозопротекторну дію, причому за антидисбіотичною і антизапальною активністю він перевищує дію препарату порівняння квертуліну.

Ключові слова: пероксидна олія, слизова оболонка порожнини рота, дисбіоз, запалення, лізоцим, антиоксидантний захист.

**Ю. З. Лабуш¹, А. В. Марков¹, В. М. Зубачик¹,
А. П. Левицький²**

¹Львовский национальный медицинский университет
им. Данилы Галицкого

²Государственное учреждение «Институт
стоматологии и челюстно-лицевой хирургии
Национальной академии медицинских наук Украины»

**ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОЕ
ДЕЙСТВИЕ ЛИЗОЦИМА-ФОРТЕ
НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ ЩЕКИ
КРЫС, КОТОРЫЕ ПОЛУЧАЛИ
ПЕРЕОКИСЛЕННОЕ ПОДСОЛНЕЧНОЕ
МАСЛО**

У крыс, которые длительное время получали с кормом перекисленное подсолнечное масло, развивается стоматит, дисбиоз и снижается уровень антиоксидантной защиты и неспецифического иммунитета. Дополнительное введение с кормом антидисбиотического средства лизоцим-форте оказывает мукозопротекторное действие, причем по антидисбиотической и противовоспалительной активности он превышает действие препарата сравнения квертулина.

Ключевые слова: перекисленное масло, слизистая оболочка полости рта, дисбиоз, воспаление, лизоцим, антиоксидантная защита.

Iu. Z. Labush¹, A. V. Markov¹, V. M. Zubachik¹, A. P. Levitsky²

¹Lviv National Medical University named after Danylo
Galytskyj

²State Establishment "The Institute of Stomatology
and Maxillo-Facial Surgery National Academy
of Medical Science of Ukraine"

**THE THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC
EFFECTS OF LYSOZYME-FORTE
ON THE CHEEK MUCOSA OF RATS, THAT
RECEIVED SUPER-OXIDIZED SUNFLOWER
OIL**

ABSTRACT

The aim. To determine the therapeutic and prophylactic effect of the new complex antidysbiotic drug Lysozyme – forte with the introduction of the body super-oxidized of sunflower oil (SOSO).

The materials and methods. As a drug of comparison, the flavans-containing Quertulin was used, which, like Lysozyme – forte, was administered with food at a dose of 300 mg/kg daily, starting from the 31st day of the experiment. SOSO was administered with feed at a dose of 1 ml/rat for 2,5 month. The activity of elastase, urease, lysozyme, catalase and malonic dialdehyde (MDA) were determined in the homogenate of the cheek mucosa. The ratio of catalase and MDA activity was used to calculate the API index, and the ratio of relative urease and lysozyme activity was used to calculate the degree of dysbiosis.

The findings. In rats received for a long time SOSO, develop in oral mucosa dysbiosis phenomenon, inflammation and decreased activity of the antioxidant system. Lysozyme-forte all restored, surpassing in these indicators Quertulin.

The conclusion. Lysozyme-forte has mucosoprotective effect when consumed super-oxidized oil.

Key words: super-oxidized oil, the mucous membrane of the mouth, dysbiosis, inflammation, Lysozyme, antioxidant protective.

В наших попередніх роботах [1, 2] було показано, що споживання пероксидної соняшникової олії (ПСО) викликає у щурів розвиток стоматиту і дисбіозу, які можна попередити флавановмісними гепатопротекторами, зокрема квертуліном [3].

Нами був запропонований комплексний антидисбіотичний засіб лізоцим-форте, який містить яєчний лізоцим, кверцетин, желатин, інулін і цитрат кальція [4]. Такий комплекс дозволяє підсилити і пролонгувати терапевтичну дію лізоцима. На лізоцим-форте розроблена нормативна документація і отримано дозвіл МОЗУ

на застосування з профілактичною метою.

Мета даної роботи. Дослідження мукозопротекторної дії на слизову оболонку порожнини рота (СОПР) щурів, які отримували ПСО, лізоцим-форте в порівнянні з відомим флаванвмісним засобом квертуліном [5].

Матеріали і методи дослідження. Характеристика використаних засобів представлена в таблиці 1. Обидва препарати виробництва НВА «Одеська біотехнологія» (Україна). Переокиснену соняшникову олію (ПСО) отримували шляхом нагрівання олії при температурі 110-115 °С на протязі двох годин в присутності йонів міді [1].

Таблиця 1

Склад і нормативна документація на антидисбіотичні засоби (АДЗ)

| АДЗ | Склад | ТУ У | Гігієнічний висновок МОЗУ |
|----------------------------------|---|------------------------|---------------------------------------|
| 1. Препарат порівняння Квертулін | Лецитин, інулін, кверцетин, цитрат кальцію | 10.8-13903778-040:2012 | № 05.03.02-06/44464 від 17.05.2012 р. |
| 2. Новий препарат Лізоцим-форте | лізоцим, кверцетин, желатин, інулін, цитрат кальцію | 10.8-37420386-004:2016 | № 602-123-20-2/5734 від 12.12.2016 р. |

В досліді було використано 27 білих щурів лінії Вістар (самці, 7 місяців, початкова жива маса 238-253 г), яких було поділено на 4 групи: 1-а – контроль (5 щурів) інтактні, 2-а, 3-я і 4-а групи отримували з кормом по 1 мл ПСО щоденно на протязі 2,5 місяців. Щурі 3-ої групи, починаючи з 31-го дня досліду, додатково отримували з кормом по 300 мг/кг квертуліну (препарат порівняння), а щури 4-ої групи отримували по 300 мг/кг лізоцим-форте. Щурів піддавали евтаназії на 76-й день досліду під тиопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотальної кровотечі із серця. Відсікали слизову оболонку щоки, в гомогенаті якої визначали рівень біохімічних маркерів запа-

лення [6]: активність еластази [7] та вміст малнового діальдегіду (МДА) [8], активність уреаз (показник бактеріального обсіменіння) [9], лізоцима (індикатор стану неспецифічного імунітету) [10], антиоксидантного фермента каталази [11]. За співвідношенням активності каталази і вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [6], а за співвідношенням відносних активностей уреаз і лізоцима розраховували ступінь дисбіоза за А. П. Левицьким [12].

Результати дослідів піддавали стандартній статобробці [13].

Таблиця 2

Вплив лізоцима-форте на рівень маркерів запалення в СОПР щурів, які отримували пероксидну соняшникову олію (ПСО)

| №№ | Групи | Еластаза, мк-кат/кг | МДА, ммоль/кг |
|----|---------------------|--|--|
| 1 | Контроль | 47,2±2,0 | 35,1±0,7 |
| 2 | ПСО | 60,0±2,0 p<0,01 | 48,0±1,9 p<0,01 |
| 3 | ПСО + квертулін | 49,9±2,1 p>0,3; p ₁ <0,05 | 36,3±1,6 p>0,3; p ₁ <0,01 |
| 4 | ПСО + лізоцим-форте | 43,2±1,2 p>0,05; p ₁ <0,01; p ₂ <0,05 | 41,1±1,1 p<0,05; p ₁ <0,05; p ₂ <0,05 |

Примітка: p – в порівнянні з гр. 1; p₁ – в порівнянні з гр. 2; p₂ – в порівнянні з гр. 3.

Результати дослідження та їх обговорення. В таблиці 2 представлено результати визначення рівня маркерів запалення в СОПР щурів, які отримували ПСО і вищезазначені препарати. З цих даних видно, що споживання пероксидної соняшникової олії викликає розвиток стоматиту, про що свідчить достовірне підвищення рівня еластази і МДА, причому лізоцим-форте виявився більш ефективним за таким показником як еластаза, а квертулін виявився більш ефективним за вмістом МДА.

В таблиці 3 представлено результати визначення в СОПР активності уреаз і лізоцима. З цих даних видно, що у щурів, які отримували ПСО, достовірно зростає активність уреаз, що свідчить про збільшення бактеріального обсіменіння, однак активність лізоцима достовірно знижується, що свідчить про зниження рівня неспецифічного імунітету. Лізоцим-форте значно знижує активність уреаз (на 43 %), тоді як квертулін суттєво не вплинув на стан уреаз. Обидва

препарати підвищують активність лізоцима (в більшій мірі, лізоцим-форте).

Розрахована за цими показниками ступінь дисбіозу СОПР представлена на рисунку, з якого

видно, що лізоцим-форте достовірно знижує ступінь дисбіозу, тоді як квертулін проявив себе в значно меншій мірі.

Таблиця 3

Вплив лізоцима-форте на активність уреазу і лізоцима в СОПР щурів, які отримували пероксидну соняшникову олію (ПСО)

| №№ | Групи | Уреаза, мк-кат/кг | Лізоцим, од/кг |
|----|---------------------|---|--|
| 1 | Контроль | 0,55±0,05 | 172±12 |
| 2 | ПСО | 0,70±0,05 p<0,05 | 125±10 p<0,05 |
| 3 | ПСО + квертулін | 0,66±0,02 p<0,05; p ₁ >0,3 | 140±9 p<0,05; p ₁ >0,2 |
| 4 | ПСО + лізоцим-форте | 0,40±0,04 p<0,05; p ₁ <0,01; p ₂ <0,01 | 147±8 p>0,05; p ₁ >0,05; p ₂ >0,3 |

Примітка: див. табл. 2.

Таблиця 4

Вплив лізоцима-форте на активність каталази та індекс АПІ в СОПР щурів, які отримували пероксидну соняшникову олію (ПСО)

| №№ | Групи | Каталаза, мкат/кг | АПІ, од. |
|----|---------------------|---|---|
| 1 | Контроль | 9,55±0,58 | 2,72±0,15 |
| 2 | ПСО | 6,88±0,39 p<0,05 | 1,43±0,16 p<0,01 |
| 3 | ПСО + квертулін | 8,60±0,23 p>0,05; p ₁ <0,05 | 2,37±0,13 p>0,05; p ₁ <0,01 |
| 4 | ПСО + лізоцим-форте | 8,01±0,33 p<0,05; p ₁ >0,05; p ₂ >0,05 | 1,95±0,14 p<0,05; p ₁ <0,05; p ₂ <0,05 |

Примітка: див. табл. 2.

В таблиці 4 представлено результати визначення в СОПР активності каталази та індекса АПІ. Видно, що у щурів, які отримували ПСО, достовірно знижується активність каталази і майже втричі індекс АПІ. Обидва препарати підвищують активність каталази та індекс АПІ, однак за цими показниками більш ефективним виявився квертулін.

Таким чином, на підставі отриманих даних можна стверджувати, що лізоцим-форте володіє антидисбіотичною і протизапальною дією, перевищуючи за цими показниками препарат порівняння квертулін. В той же час лізоцим-форте поступається квертуліну за антиоксидантною дією.

Враховуючі ці данні, можна рекомендувати застосування лізоцима-форте сумісно з квертуліном для профілактики стоматиту і дисбіозу, які виникають внаслідок споживання пероксидної олії.

Висновки. 1. Споживання ПСО викликає розвиток стоматиту, дисбіозу та зниження рівня антиоксидантного захисту.

2. Лізоцим-форте здійснює антидисбіотичну і протизапальну дію на СОПР, однак за антиоксидантною дією поступається квертуліну.

Список літератури

1. **Перекисная** модель стоматита / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, В. Н. Почтарь [и др.] // Вісник стоматології. – 2005. – № 4. – С. 7-10.
2. **Лабуш Ю. З.** Розвиток стоматиту у щурів, які вживали переокиснену соняшникову олію / Ю. З. Лабуш // Вісник стоматології. – 2018. – № 2. – С. 15-19.
3. **Лікувально-профілактична** дія флаванвісних антидисбіотичних засобів на слизову оболонку порожнини рота щурів, які отримували пероксидну соняшникову олію / А. В. Марков, Ю. З. Лабуш, В. М. Зубачик [та ін.] // Фітотерапія. Часопис. – 2018. – № 2. – С. 65-69.
4. **Профілактика** стоматиту і гінгівіту з використанням лізоцима-форте / М. О. Остафійчук, Г. З. Борис, А. І. Фурдичко [та ін.] // Вісник стоматології. – 2017. – № 2(100). – С. 6-11.
5. **Квертулін:** вітамін Р, пребіотик, гепатопротектор / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 20 с.
6. **Биохимические** маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
7. **Левицкий А. П.** Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.
8. **Стальная И. Д.** Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии (под редакцией Орехович В. Н.). – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

9. **Гаврикова Л. М.** Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой и одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спецвыпуск. – С. 49-50.

10. **Левицкий А. П.** Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

11. **Гирин С. В.** Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45-46.

12. **Патент** на корисну модель № 43140. МПК 2009 Патент на корисну модель № 43140. МПК 2009 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, І. О. Селіванська [та ін.]. – № у 200815092 від 26.12.2009; Опубл. 10.08.2009. Бюл. № 15.

13. **Трухачева Н. В.** Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева. – М.: ГЭОТАР, 2012. – 379 с.

REFERENCES

1. **Levitsky A.P., Makarenko O.A., Pochtar' V.N. i dr.** The peroxide model of stomatitis. *Visnyk stomatologii'*. 2005; 4: 7-10.

2. **Labush Iu. Z.** The development of stomatitis in rats that consumed peroxide sunflower oil. *Visnyk stomatologii'*. 2018; 2: 15-19.

3. **Markov A. V., Labush Iu. Z., Zubachik V. M. ta in.** Therapeutic and preventive action flavan-containing antidiabetic means on a mucose membrane of the oral cavity of the rats, received peroxide sunflower oil. *Fitoterapija. Chasopys.* 2018; 2: 65-69.

4. **Ostafychuk M. A., Boris G. Z., Furdychko A. I. ta in.** Prophylaxis of stomatitis and gingivitis by use of the lysozyme-forte. *Visnyk stomatologii'*. 2017; 3(100): 6-11.

5. **Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. i dr.** *Kvertulin. Vitamin P, prebiotik, gepatoprotektor*

[“Querthulin”, Vitamin P, prebiotic, hepatoprotector]. Odessa, KP OGT, 2012: 20.

6. **Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. i dr.** *Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii* [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010: 16.

7. **Levitsky A. P., Stefanov A. V.** *Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov: metodicheskie rekomendatsii* [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. Kiev, GFK, 2002:15.

8. **Stalnaya I. D., Garishvili T. G.** *Metod opredeleniya malonovogo dialdegida s pomoshchyu tiobarbiturovoy kisloty* [The method of revelation of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid]. Moskva, Meditsina, 1977: 66-68.

9. **Gavrikova L. M., Segen I. T.** Urease activity of oral liquid in patients with acute odontogenic infection of maxillo-facial part. *Stomatologiya.* 1996; The extra issue: 49-50.

10. **Levitsky A. P.** *Lizotsym vmesto antibiotikov* [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005: 74.

11. **Girin S. V.** The modification of the method of the determination of catalase activity in biological substrates. *Laboratornaya diagnostika.* 1999; 4: 45-46.

12. **Levitsky A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. i dr.** The method of estimation of the degree of dysbiosis (dysbacteriosis) of organs and tissues. Patent of Ukraine 43140. IPC (2009) G01N 33/48. Application number u 200815092. Date of filling: 26.12.2008. Publ.: 10.08.2009. Bul. № 15.

13. **Truhacheva N. V.** *Matematischekaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s primeneniem paketa Statistica* [Mathematical Statistics in biomedical research using application package Statistica]. Moskva, GJeOTAR-Media, 2012: 37.

Надійшла 17.07.18

