

В. Н. Почтарь

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

ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины»

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), пребиотики (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 – интактные;
- 2 – экспериментальная модель стоматита (ЭС);
- 3 – ЭС + «Бифидумбактерии»;
- 4 – ЭС + «Лактобактерин»;
- 5 – ЭС + инулин;
- 6 – ЭС + «Бакулин».

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-й и 7-й 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 «Бакулин» 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 трис-НСI буфера pH 7,5 и для исследования активности ферментов (маркеров воспаления) использовали надосадочную жидкость. Центрифугирование осуществляли в рефрижераторной центрифуге при 3000 об/мин в те-

чение 15 минут при температуре $+4^\circ\text{C}$.

Активность фосфолипазы A_2 (ФЛА₂) определяли методом [11]. Общую протеолитическую активность (ОПА) определяли казеинолитическим методом [12], активность 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 избранные нами препараты регуляторов микробиоценоза достоверно снизили активность ФЛА₂, причем в наибольшей степени это произошло под воздействием «Бакулина», 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 $p > 0,05$.

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

Таблица 1

№ п/п	Группа	ФЛА ₂ , 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 p1<0,001	109,5±10,9 p<0,05 p1>0,05	10,4±0,4 p<0,001 p1<0,01
4	ЭС + «Лактобактерин»	72±21 p<0,001 p1<0,001	100,5±9,8 p<0,05 p1<0,05	9,5±0,5 p<0,001 p1<0,001
5	ЭС + инулин	191±20 p<0,001 p1<0,001	116,9±9,1 p<0,01 p1>0,5	13,4±1,1 p<0,001 p1>0,05
6	ЭС + «Бактулин»	58±17 p<0,001 p1<0,001	102,3±6,1 p<0,01 p1<0,05	12,2±0,4 p<0,001 p1<0,05

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

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

Таблица 2

№ п/п	Группа	ФЛА ₂ , 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 p1<0,01	195,4±5,5 p<0,001 p1<0,05	9,9±0,9 p>0,05 p1>0,05
4	ЭС + «Лактобактерин»	65±16 p<0,001 p1<0,001	202,2±5,7 p<0,001 p1<0,05	7,9±0,4 p>0,6 p1<0,01
5	ЭС + инулин	108±26 p<0,001 p1<0,01	198,4±5,6 p<0,001 p1<0,05	11,1±1,1 p<0,05 p1>0,3
6	ЭС + «Бактулин»	82±9 p<0,001 p1<0,001	204,5±6,1 p<0,001 p1<0,05	9,6±1,0 p>0,05 p1>0,05

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

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 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] биохимических маркеров воспалительно-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 в слизистой полости рта значительно возрастает активность маркеров воспаления: ФЛА₂, ОПА и КФ.

2. Препараты про- и пребиотиков снижают активность маркеров, что свидетельствует об их лечебном действии при стоматите.

Література

1. Дисбиотические аспекты патогенеза, профилактики и лечения стоматологических заболеваний / А. П. Левицкий, А. К. Николишин, Е. П. Ступак [и др.] // Проблемы экологии 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. Микрофлора полости рта: норма и патология / Е. Г. Зеленова, М. И. Заславская, Е. В. Салина [и 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. Пребиотики и проблема дисбактериоза / А. П. Левицкий, Ю. Л. Волянский, К. В. Скидан. – Харьков: ЭДЭНА, 2008. – 100 с.
8. Регуляция микробиоценоза полости рта с помощью про- и пребиотиков / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, Л. Н. Россаханова [и др.] // Вісник стоматології. – 2008. – № 1. – С. 12-13.
9. Пат. 36218 Україна, МПК (2008) А61К 36/18. Спосіб моделювання гінгівіту / А. П. Левицький, І. О. Селіванська, О. А. Макаренко [та ін.]. – Заявл. 04.03.2008; опубл. 27.10.2008, 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. Левицький А. П. Вплив біофлаванолідів на активність фосфоліпази А2 з підшлункової залози і бджолиної отрути / А. П. Левицький, 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 [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.

Стаття надійшла
5.03.2012 р.

Резюме

У крыс после воспроизведения стоматита (апликации на слизистую полости рта пчелиного яда на фоне дисбиоза) установлено достоверное повышение активности маркеров воспаления – фосфоліпазы А2, общей протеолітичної активності та кислій фосфатази. Орошение полости рта суспензиями препаратов про-, пре- и синбиотиков снижают уровень маркеров воспаления, причем слабее в этом отношении оказался пребиотик инулин.

Ключевые слова: стоматит, дисбиоз, маркеры воспаления, пробиотики, пребиотики, синбиотики.

Резюме

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

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

Summary

A reliable increase in the activity of the inflammation markers such as phospholipase A2, general proteolytic activity and acid phosphatase in rats after the reproduction of stomatitis (achieved with the application of bee poison to the oral cavity mucosa against the background of disbiosis) is fixed. The irrigation of the oral cavity with the suspensions of preparations, pre- and synbiotics reduces the level of the inflammation markers. Prebiotics inulin occurred to be the weakest in this respect.

Key words: stomatitis, disbiosis, inflammation markers, probiotics, prebiotics, synbiotics.