

их, потеря эластичности и изменение в цвете (серый оттенок, особенно, околоушных слюнных желез).

Масса слюнных желез у крыс с атропиновой нагрузкой была значительно выше, нежели у интактных животных (таблица). Отличительные данные по околоушной и подчелюстной слюнной железах – достоверны.

Обработка же полости рта метиловым эфиром метакриловой кислоты привела к уменьшению массы слюнных желез. При этом наиболее выраженное отличие с высокой достоверностью ( $P < 0,001$ ) наблюдалось при изучении околоушных слюнных желез.

И самые выраженные отличия, выражавшиеся в уменьшении массы околоушной слюнной железы (почти в 2 раза по сравнению с интактными крысами), отмечались у животных с токсическим поражением слюнных желез эфиром метакриловой кислоты.

Таким образом, при проведении экспериментальных исследований были смоделированы ситуации уменьшения слюновыделения, которые добились путем длительного введения атропина и обработки полости рта эфиром метакриловой кислоты. Исходя из полученных данных (увеличение объема больших слюнных желез при атропиновой нагрузке и уменьшение – при действии мономера на слизистую оболочку рта), механизм снижения слюноотделения разный.

Можем предположить, что длительное введение атропина привело к активизации ацетилхолина – медиатора парасимпатической нервной системы- с образованием густой и вязкой слюны, выделение которой затруднено. Обработка же полости рта эфиром метакриловой кислоты вызвала токсическое поражение больших слюнных желез с отмиранием ацинусов-клеток, выделяющих секрет. Слюнная деятельность слюнных желез уменьшилась.

Однако высказанное предположение требует дополнительных исследований, в частности, морфологического изучения слюнных желез.

**Выводы.** 1. Аппликации атропина на слизистую оболочку полости рта привели к уменьшению слюновыделения. 2. Разработана экспериментальная модель снижения слюновыделения, основанная на разбалансировании иннервации слюнных желез вегетативной нервной системой.

#### Список литературы

1. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна. Ч. 2. Методы моделирования физиологических и патологических процессов / А. Б. Денисов. - М., 2000. - 59 с.
2. Терешина Т. П. Влияние остаточного мономера акриловых зубных протезов на функциональную активность слюнных желез (экспериментальное исследование) / Т. П. Терешина, Р. И. Бабий // Вестник стоматологии. - 2005. - №2. - С. 25-27.
3. Денисов А. Б. Слюнные железы. Слюна / А. Б. Денисов. - М., 2000. - 362 с.
4. Лесовая И. Г. Состояние вегетативной нервной системы и секреторная активность слюнных желез у больных хроническим синуситом / Инновационні технології – в стоматологічну практику: матеріали 111 (X) з'їзду Асоціації стоматологів України, (Полтава, 16-18 жовтня 2008 р.) / М-во охорони здоров'я України / И. Г. Лесовая, Т. В. Ткач, Г. Б. Хасанова. - Полтава: «Дивосвіт», 2008. - С. 303.
5. Abert O. A. Xerostomia. Causes and effect/ O. A. Abert // J. Prosthet. Dent. - 2006. - Vol. 84, N1. - P. 77-81.

Поступила 24.04.12

УДК 616.731-07.23.008+612.045.11

**А. И. Фурдычко, О. Э. Кнава**

ГУ "Институт стоматологии НАМН"

ГУ "Львовский национальный медицинский университет им. Данила Галицкого"

### БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ВОСПАЛЕНИЯ И ДИСБИОЗА ПРИ АППЛИКАЦИИ НА СЛИЗИСТУЮ ПОЛОСТИ РТА КРЫС ГЕЛЯ С ФИТОЛИЗОЦИМОМ, АДсорБИРОВАННОМ НА ХИТОЗАНЕ

*Оральные аппликации 2,5 %-ного геля КМЦ, который со-держал 10 % хитозана с адсорбированным фитолизоцимом, вызывали снижение активности эластазы в десне крыс, что свидетельствовало о противовоспалительном действии препарата, а также существенное снижение активности уреазы в десне и слизистой щęki и языка, что свидетельствует о снижении микробной обсемененности тканей ротовой полости. Как следствие, у крыс, которым делали аппликации препарата, достоверно снижается степень дисбиоза. Оральные аппликации фитолизоцима повышают уровень лизоцима в сыворотке крови.*

**Ключевые слова:** лизоцим, хитозан, эластаза, уреазы, дисбиоз, воспаление, десна, слизистая полости рта.

**Ф. І. Фурдичко, О. Е. Кнава**

ДУ "Інститут стоматології НАМН"

ДУ "Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького"

### БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ЗАПАЛЕННЯ І ДИСБІОЗУ ПРИ АПЛІКАЦІЇ НА СЛИЗОВУ ПОРОЖНИНИ РОТА ЩУРІВ ГЕЛЮ З ФІТОЛІЗОЦИМОМ, АДсорБОВАНИМ НА ХІТОЗАНІ

*Оральні аплікації 2,5 %-ного гелю КМЦ, який містить 10 % хітозану з адсорбованим фітолізоцимом, викликали зниження активності еластази в яснах щурів, що свідчило про антизапальну дію препарату, а також суттєве зниження активності уреазы в яснах та слизовій щоки і язика, що свідчить про зниження мікробного обсіменіння тканини ротової порожнини. Як наслідок, у щурів, яким робили аплікації препарату, достовірно знижується ступінь дисбіозу. Оральні аплікації фітолізоциму підвищують рівень лізоциму в сироватці крові.*

**Ключові слова:** лізоцим, хітозан, еластаза, уреазы, дисбіоз, запалення, ясна, слизова порожнини рота.

**A. I. Furdychko, O. E. Knava**

SE "The Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine"

SE "Lviv National Medical University named after Danylo Galytskyj"

### THE BIOCHEMICAL MARKERS OF INFLAMMATION AND DISBIOSIS AT THE APPLICATION OF GEL WITH PHYTOLYSOZYME, EXHAUSTED AT CHITOZANE, AT THE ORAL MUCOUS MEMBRANE OF RATS

*The oral application of 2.5% gel KMT, containing 10% of chitozane with exhausted phytolysozyme, caused the reduction of elastase activity in rats gum. This fact spoke of the anti-inflammatory effect of the preparation. These applications have*

© Фурдычко А. И., Кнава О. Э., 2012.

also caused the considerable decrease in urease activity in gum and mucous membrane of cheek and tongue, which speak of the reduction of microbe insemination of oral tissues. As a result, the degree of disbiosis is really reduced in rats that have undergone the applications of the preparation. The oral applications of phytolizozyme raise the level of lysozyme in blood serum.

**Key words:** lysozyme, chitozane, urease, disbiosis, inflammation, gum, oral mucous membrane.

Некоторые растения (капуста, редис, хрен) содержат лизоцим (фитолизоцим [1, 2], который избирательно сорбируется на хитозане [3, 4]). Хитозан представляет собой деацетилованный хитин (главный полисахарид панциря крабов и раков [5]). Хитозан, кроме способности сорбировать лизоцим, обладает рядом лечебно-профилактических свойств, обусловивших его применение в медицине [6].

Нами была разработана технология получения фитолизоцима из капусты с использованием хитозана в качестве сорбента. Полученный препарат фитолизоцима, адсорбированный на хитозане, был включен в состав мукозального геля и испытан путем аппликаций на слизистую полости рта крыс. Оценку состояния тканей полости рта осуществляли с помощью биохимических маркеров воспаления [7] и дисбиоза [8].

**Материалы и методы исследования.** Фитолизоцим получали из белокочанной капусты путем измельчения до частиц размером 5-10 мм, прессования в полотняном мешке под механическим прессом, отделения капустного сока [9], встряхивания последнего с хитозаном в соотношении 5 г хитозана на 1 л сока, отделения хитозана с адсорбированным фитолизоцимом и промывки водой, сушки в токе теплого воздуха (не выше +60 °С).

Хитозан получали из хитина (100 г) путем кипячения с 1 л 45 %-ного NaOH в течение 5 часов; после промывки водой до нейтральной реакции и последующей сушки при температуре не более +80 °С получали порошкообразный препарат.

Гель фитолизоцима, адсорбированный на хитозане, готовили на 2,5%-ном КМЦ (карбоксиметилцеллюлозе Na-соль) из расчета 100 мг/мл.

В опыте было использовано 10 белых крыс линии Вистар (самцы, 4 месяца, средняя масса 240±10 г), разделенных на 2 группы: 1 группа – контроль, аппликации на слизистую полости рта осуществляли основой геля, содержащего 2,5% КМЦ; 2 группа – крысы получали аппликации геля, содержащего фитолизоцим, адсорбированный на хитозане. Аппликации осуществляли ежедневно за 1 час до еды в течение 10 дней в дозе 0,5 мл геля на крысу.

Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Иссекали десну, слизистую языка, щеки и получали сыворотку крови. Гомогенаты тканей готовили на 0,05М трис-HCl буфере pH 7,5 из расчета 20 мг/мл. В гомогенатах определяли уровень маркеров воспаления: концентрацию малонового диальдегида (МДА) [10] и активность эластазы [11], активность уреазы (показатель микробной обсемененности) [12], лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [2], каталазы (антиоксидантный фер-

мент) [13]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза [8], а по соотношению активности каталазы и концентрации МДА – антиоксидантно - прооксидантный индекс АПИ [7]. В сыворотке крови определяли активность эластазы, уреазы и лизоцима и рассчитывали степень дисбиоза.

**Результаты и их обсуждение.** В табл. 1 представлены результаты определения биохимических маркеров в десне крыс, которым делали аппликации геля, содержащего фитолизоцим, адсорбированный на хитозане. Из этих данных видно, что препарат фитолизоцима достоверно снизил уровень одного из маркеров воспаления – эластазы и весьма значительно (в 1,8 раза) активность уреазы, что свидетельствует об антимикробном и противовоспалительном действии препарата. Остальные биохимические показатели десны не изменились после аппликаций фитолизоцима.

Таблица 1

**Влияние фитолизоцима, адсорбированного на хитозане, на биохимические показатели десны крыс**

Показатели	Группа № 1, контроль	Группа № 2, фитолизоцим + хитозан
МДА, ммоль/кг	15,06±0,41	15,81±0,57 p>0,3
Эластаза, мк-кат/кг	43±2	39±1 p<0,05
Уреазы, мк-кат/кг	3,73±0,37	2,08±0,28 p<0,01
Лизоцим, ед/кг	350±22	340±12 p>0,3
Каталаза, мкат/кг	7,52±0,52	7,67±0,66 p>0,6
АПИ, ед.	4,99±0,36	4,65±0,41 p>0,5

В табл. 2 представлены результаты определения биохимических показателей в слизистой оболочке языка. Из этих данных видно, что под влиянием фитолизоцима достоверно (в 1,5 раза) снижается активность уреазы и проявляется тенденция к снижению уровня маркеров воспаления: МДА и эластазы.

Аналогичные данные для слизистой оболочки щеки представлены в табл. 3. В этой ткани фитолизоцим оказал лишь антимикробное действие, о чем свидетельствует достоверное (в 1,8 раза) снижение активности уреазы. Остальные биохимические показатели существенно не изменились.

В табл. 4 представлены результаты определения биохимических показателей сыворотки крови. Достоверным явилось увеличение в сыворотке активности лизоцима, что может свидетельствовать о возможном проникновении фитолизоцима из геля в общий кровоток. Что касается маркера воспаления эластазы, то при оральной аппликации фитолизоцима в сыворотке наблюдается лишь тенденция к снижению его уровня. Кстати, в сыворотке, как и ожидалось, наблюдается самая низкая активность уреазы – в 25 раз ниже, чем в десне.

Таблица 2

**Влияние фитолизозима, адсорбированного на хитозане, на биохимические показатели слизистой оболочки языка крыс**

Показатели	Группа № 1, контроль	Группа № 2, фитолизозим + хитозан
МДА, ммоль/кг	6,30±0,31	5,79±0,22 p>0,1
Эластаза, мк-кат/кг	53±2	48±2 p>0,05
Уреаза, мк-кат/кг	0,98±0,09	0,63±0,10 p<0,05
Лизоцим, ед/кг	97±15	99±19 p>0,8
Каталаза, мкат/кг	2,93±0,13	2,93±0,10 p=1
АПИ, ед.	4,65±0,32	5,06±0,38 p>0,3

Таблица 3

**Влияние фитолизозима, адсорбированного на хитозане, на биохимические показатели слизистой оболочки щеки крыс**

Показатели	Группа № 1, контроль	Группа № 2, фитолизозим + хитозан
МДА, ммоль/кг	26,28±1,11	26,92±0,97 p>0,5
Эластаза, мк-кат/кг	35±3	34±1 p>0,5
Уреаза, мк-кат/кг	1,80±0,28	1,06±0,11 p<0,05
Лизоцим, ед/кг	295±13	258±17 p>0,05
Каталаза, мкат/кг	5,16±0,43	5,55±0,35 p>0,5
АПИ, ед.	1,96±0,18	2,06±0,19 p>0,5

Таблица 4

**Влияние фитолизозима, адсорбированного на хитозане, на биохимические показатели сыворотки крови крыс**

Показатели	Группа № 1, контроль	Группа № 2, фитолизозим + хитозан
Эластаза, мк-кат/л	271,2±11,1	255,1±12,8 p>0,3
Уреаза, мк-кат/л	0,154±0,015	0,151±0,015 p>0,8
Лизоцим, ед/кг	68±4	81±2 p<0,05

На рисунке представлены результаты определения степени дисбиоза в исследованных биообъектах крыс, получавших фитолизозим. Как видно, во всех

исследованных тканях полости рта крыс, получавших аппликации фитолизозима, наблюдается достоверное снижение степени дисбиоза (за счет снижения микробной обсемененности). В сыворотке обнаружена лишь тенденция к снижению степени дисбиоза, наблюдаемая у контрольных животных (p>0,1).

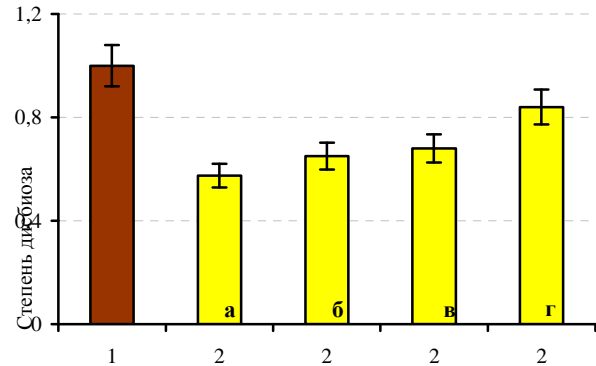


Рис. Степень дисбиоза в десне (а), слизистой языка (б), щеки (в) и в сыворотке крови (г) крыс после аппликаций геля с фитолизозимом, адсорбированного на хитозане (1 – группа № 1, 2 – группа № 2).

Таким образом, препарат фитолизозима, адсорбированного на хитозане в виде 10 %-ного геля на 2,5%-ный КМЦ, обладает четко выраженной антимикробной и антидисбиотической активностью, что дает основание надеяться на наличие у него лечебно-профилактических свойств при стоматологической патологии.

#### Список литературы

1. Бухарин О. В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О. В. Бухарин, Н. В. Васильев. – Томск, 1974. – 120 с.
2. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А.П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
3. Черкасов И. А. Усовершенствованный способ выделения лизоцимов методом фермент-субстратной хроматографии / И.А. Черкасов, Н.А. Кравченко // Биохимия. – 1969. – Т. 34, № 5. – С. 1089–1091.
4. Slcjak-Braen G. Chitin and chitosan Sources, Chemistry, Biochemistry, Physical Properties and Application / G. Slcjak-Braen, T. Anthonson, P. Sanford. – London, New-York: Elsevier, 1989. – 315 p.
5. Хитозан: структура и свойства. Использование в медицине / Ю.А. Петрович, Л.А. Григорьянц, А.Н. Гурин [и др.] // Стоматология. – 2008. – № 4. – С. 72–77.
6. Повышение хитозаном неспецифической резистентности организма при интоксикации липополисахаридом E. coli / Э.И. Хасина, М.Н. Сгребнева, В.Н. Давыдова [и др.] // Эфферентная терапия. – 2006. – Т. 12, № 4. – С. 32–35.
7. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости (метод. рекомендации) / А.П. Левицкий, О.В. Деньга, О.А. Макаренко [и др.] – Одесса, 2010. – 16 с.
8. Пат. 43140 Украина, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицкий А.П., Деньга О.В., Селіванська І.О. [та ін.]. – 2009. – Бюл. № 15.
9. Левицкий А. П. Кормовая ценность капустной выжимки / А.П. Левицкий, В.С. Миронов, И.В. Ходаков // Зернові продукти і комбікорми. – 2011. – № 4 (44). – С. 29–30.
10. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66–68.
11. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов (метод. рекомендации) / А.П. Левицкий, А.В. Стефанов. – Киев: ГФЦ, 2002. – 15 с.
12. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой

области / Л.М. Гаврикова, И.Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спец. вып. – С. 49–50.

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

was estimated by the activity of enzymes of urease and lysozyme, the anti-inflammatory one – by the level of MDA and elastase activity.

**Key words:** disbiosis, oral cavity, phytogels, vine leaves, inflammation, enzymes.

Поступила 22.02.12



УДК 616.36–102.2–07:616–078.33

**Е. Н. Кушнір, І. В. Ходаков**

Одесский национальный медицинский университет  
ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины»

**АНТИДИСБИОТИЧЕСКОЕ  
И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ  
ФИТОГЕЛЯ «ВИНОГРАДНЫЙ»  
НА СЛИЗИСТУЮ ПОЛОСТИ РТА КРЫС  
С ГЕНЕРАЛИЗОВАННЫМ ДИСБИОЗОМ**

*В эксперименте на крысах, у которых вызвали генерализованный дисбиоз введением с питьевой водой линкомицина, показано лечебно-профилактическое действие фитогеля, содержащего экстракт из листьев винограда. Антидисбиотическое действие оценивали по активности ферментов уреазы и лизоцима, а противовоспалительное – по уровню МДА и активности эластазы.*

**Ключевые слова:** дисбиоз, слизистая полости рта, фитогели, виноградные листья, воспаление, ферменты

**Е. М. Кушнір, І. В. Ходаков**

Одеський національний медичний університет  
ДУ «Інститут стоматології НАМН України»

**АНТИДИСБИОТИЧНА І ПРОТИЗАПАЛЬНА  
ДІЯ ФІТОГЕЛЮ „ВИНОГРАДНИЙ”  
НА СЛИЗОВУ ПОРОЖНИНИ РОТА ЩУРІВ  
З ГЕНЕРАЛИЗОВАНИМ ДИСБІОЗОМ**

*В експерименті на щурах, у яких відтворювали генералізований дисбіоз шляхом введення з питною водою лінкоміцину, показали лікувально-профілактичну дію фітогелю, який містить екстракт з листя винограду. Антидисбіотичну дію оцінювали за рівнем активності ферментів уреазы і лізоцима, протизапальну – за рівнем МДА та активності еластази.*

**Ключові слова:** дисбіоз, слизова порожнини рота, фітогелі, виноградні листя, запалення, ферменти

**E. N. Kushnir, I. V. Khodakov**

Odessa State Medical University  
SE “The Institute of Dentistry of the NAMS of Ukraine”

**THE ANTIDISBIOTIC  
AND ANTIINFLAMMATORY INFLUENCE  
OF PHYTOGEL “VINOGRADNYJ” ON THE ORAL  
MUCOUS MEMBRANE OF RATS WITH  
GENERALIZED DISBIOSIS**

*At the experiment with rats, in which the generalized disbiosis was caused by the introduction of lincomycin with table water, the treatment and preventive effect of phytogel, containing the extract of vine leaves, was shown. The antidisbiotic influence*

Генерализованный дисбиоз, развивающийся в результате нарушения видового и количественного состава микрофлоры основных биотопов организма (толстая кишка, полость рта, кожа и др.), сопровождается системной эндотоксинемией, при которой микробный эндотоксин липополисахарид поступает в больших количествах в системный кровоток, оказывая провоспалительное действие на многие органы и ткани [1–2].

**Целью** настоящего исследования стало изучение влияния фитогеля «Виноградный» на состояние слизистой оболочки полости рта крыс при моделировании генерализованного дисбиоза с использованием антибиотика путём определения уровня биологических маркеров воспаления и дисбиоза.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты были проведены на 28 крысах линии Вистар (самки, 11 месяцев, массой 306 ± 15 г), которые были разделены на 4 группы: 1-ая – контроль (интактные); 2-ая – дисбиоз (Д); 3-я – дисбиоз + фитогель «Виноградный»; 4-ая – дисбиоз + фитогель «Инулин». Фитогели готовили в соответствии с ТУ У 20.4–13903778–032:2012 на КМЦ-На. Для фитогеля «Виноградный» использовали водно-спиртовой экстракт из листьев винограда (концентрация спирта 50 %, концентрация экстрактивных веществ 4–5 %), из расчёта 300 мг экстрактивных веществ на 1 крысу. Инулин (препарат “Fibruline Instant”, Бельгия) использовали в дозе 75 мг на крысу также в составе геля КМЦ-На.

Дисбиоз воспроизводили в помощью антибиотика линкомицина путём введения с питьевой водой в течение 5 дней в дозе 70 мг/кг [4]. Аппликации гелей на слизистую полости рта осуществляли ежедневно с первого и до последнего дня опыта (15 дней). Эвтаназию животных проводили под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путём тотального кровопускания из сердца. Иссекали слизистую щеки и языка, в гомогенатах которых определяли активность уреазы (маркер микробной обсеменённости) [5], лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [6] и степень дисбиоза по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима [7]. Кроме того, в гомогенатах слизистых определяли уровень маркеров воспаления [8]: концентрацию малонового диальдегида (МДА) и активность эластазы.

**Результаты исследования и их обсуждение.** В табл. 1 представлены результаты определения активности уреазы и лизоцима, а также степень дисбиоза в слизистой щеки и языка крыс с генерализованным дисбиозом и влияния на эти показатели аппликаций фитогеля, содержащего экстракт из листьев винограда. Как видно из представленных данных, при дисбиозе увеличивается активность уреазы ( $p < 0,05$ ) и резко снижается активность лизоцима ( $p < 0,001$ ). Применение аппликаций фитогеля достоверно снижа-