

© Євтушок В.В., Цебенко М.О., Непорада К.С.

УДК 616-056.52:616.45-001.1/3

DOI <https://doi.org/10.31718/med.2022.26.1-2.02>

ВПЛИВ ОЖИРІННЯ, СТРЕСУ ТА ПРОБІОТИКА НА РЕЗОРБЦІЮ АЛЬВЕОЛЯРНОГО ВІДРОСТКА ЩЕЛЕП ЩУРІВ

Євтушок В.В., Цебенко М.О., Непорада К.С.

Полтавський державний медичний університет, м. Полтава

*We studied the role of the probiotic *Lactobacillus casei* in correcting the resorptive effect on the alveolar process of the jaws in obesity and stress in a model of glutamate-induced obesity and in combination with immobilization stress in rats. We found a reliably significant difference between the groups of intact rats and rats with induced obesity; a group of rats subjected to immobilization stress, and a group of rats with comorbidity of these conditions. The obtained results indicate the resorptive effect of obesity and stress on the bone tissue of the alveolar process of the jaws in animals. At the same time, no statistically significant difference between the groups of rats with obesity, stress, and obesity under stress was found, indicating approximately the same effect of obesity, stress and their combination on the resorption of alveolar bone of the jaws in the studied animals. Analyzing the effectiveness of the probiotic *Lactobacillus casei*, we found reliable changes between the group of rats in which obesity was modeled and animals with comorbidity of these conditions as compared to the corresponding control. Thus, in the groups of rats, subjected to obesity, and obesity with stress, probiotic correction showed an antiresorptive effect, which is confirmed by a reliably significant difference in the coefficient of exposure of molar roots as compared to the corresponding groups without correction.*

Key words: obesity, stress, periodontium, probiotic

*На моделі глутамат-індукованого ожиріння та у поєднанні з іммобілізаційним стресом у щурів досліджували роль пробіотику *Lactobacillus casei* в корекції резорбтивного ефекту на альвеолярний відросток щелеп при ожирінні та стресі. Нами отримано достовірно значиму різницю між групами інтактних щурів та: щурів з індукованим ожирінням; групою щурів що піддавались іммобілізаційному стресу, та групою щурів з коморбідністю цих станів. Отримані результати свідчать про резорбтивну дію впливу ожиріння та стресу на кісткову тканину альвеолярного відростку щелеп тварин. В той же час, статистично значимої різниці між групами щурів з ожирінням, стресом, та ожирінням на тлі стресу не виявлено, що свідчить про приблизно однаковий вплив факторів ожиріння, стресу та їх комбінації на резорбцію альвеолярної кістки щелеп досліджуваних тварин. Аналізуючи ефективність пробіотику *Lactobacillus casei* нами виявлено вірогідні зміни між групою щурів яким моделювали ожиріння та тваринами з коморбідністю цих станів у порівнянні з відповідним контролем. Отже, в групах щурів, що піддавались ожирінню; та ожирінню з стресом корекція пробіотиком показала антирезорбтивний ефект, що підтверджується достовірно значимою різницею коефіцієнта оголення коренів молярів в порівнянні з відповідними групами без корекції.*

Ключові слова: ожиріння, стрес, пародонт, пробіотик

Вступ

Втрата альвеолярної кістки – процес резорбції кісткової тканини пародонта, що призводить до оголення кореня зуба та подальшу його елімінацію. Як і в інших кісткових тканинах, ремоделювання альвеолярної кістки регулюється остеокластами та остеобластами. Високодинамічне оновлення у порівнянні з іншими відділами скелету та зв'язок із зубами і пародонтом підкреслюють підвищену складність ремоделювання альвеолярної кістки. Патогенна інфекція, механічний стрес, прийом ліків і системні патологічні фактори є частими причинами втрати альвеолярної кістки. Особливу увагу слід приділяти системним станам, які широко поширені в населення, зокрема, ожиріння та стрес, які виділяють пандеміями 21 сторіччя [2]. Ожиріння може викликати чи посилювати проблеми зі здоров'ям, як самостійно, так і в поєднання з іншими хронічними захворюваннями [3]. В теперішній час жирова тканина визнана багатofункціональним органом, яка в додаток до своєї основної резервної функції зберігання ліпідів виконує ендокринну функцію, а також здатна виділяти більше 100 біоактивних адипокінів. Продукція цих речовин збільшується при ожирінні, а підвищений рівень

декількох таких білків гострої фази і прозапальних цитокінів приводять до думки, що люди з надмірною кількістю жирової тканини характеризуються станом хронічного низько інтенсивного запалення [9]. Саме синдром системної запальної відповіді і слугує індуктором диференціації преостеокластів, що збільшує перший та другий етапи ремоделювання кісткової тканини активуючи остеолізис, та інгібітором діяльності остеобластів в тканинах пародонта, що і призводить до резорбції альвеолярного відростка. Згідно останніх досліджень таку реакцію пов'язують з діяльністю інфламасом, що являють собою надмолекулярні білкові комплекси, що формуються у відповідь на молекулярні патерни, пов'язані з пошкодженням, а також у відповідь на секрецію прозапальних цитокінів і активацію запальних реакцій. Активація інфламасоми може бути не тільки промотором, а й наслідком запальної втрати кісткової тканини, що вказує на її роль у механізмі позитивного зворотного зв'язку посиленого запального руйнування кістки [4].

Іншою прогресуючою проблемою населення є стрес, якому піддаються люди все частіше з року в рік. Реакція на стрес – це когнітивні, емоційні та біоло-

*Цитування при атестації кадрів: Євтушок В.В., Цебенко М.О., Непорада К.С. Вплив ожиріння, стресу та пробіотику на резорбцію альвеолярного відростка щелеп щурів // Проблеми екології і медицини. – 2022. – Т. 26, № 1-2. – С. 7-10.

гічні реакції, які викликають ці стресові події [1]. Справедливо також припустити, що пандемія COVID-19 і відповідні зміни у повсякденному житті, зокрема жорсткі карантинні обмеження, призвели до більш широкого поширення стресу. Мета-аналіз 2021 року вказав поширення стресу 36,5% серед загального населення [7] та серед лікарів, задіяних у боротьбі з коронавірусною хворобою, поширеність стресу складала 44,86% [6]. Стрес є хронічною активацією гіпоталамо-гіпофізарно-наднирничкової вісі, що порушує нервову регуляцію обмінних процесів [8]. Така активація резервів організмів є анорексигенною відповіддю на стрес; з іншого боку, активність глюкокортикоїдів та нейропептиду Y викликає післястресове ожиріння. Більше того, хронічний стрес викликає окисний дисбаланс, який може потенціювати або призводити до морфологічних, структурних або метаболічних ушкоджень альвеолярної кістки [5].

Як відомо, провідним фактором в розвитку генералізованого пародонтиту є дисбіоз мікробіоти ротової еколізи, тому, на нашу думку, використання пробіотикотерапії може бути ефективним у запобіганні резорбції альвеолярного відростка. Пробиотики – набір живих мікроорганізмів, які при вживанні покращують чи відновлюють мікрофлору реципієнта, зокрема ШКТ, тим самим впливаючи на метаболізм організму в цілому.

Досі не існує чіткого механізму впливу мікробіому на обмінні процеси організму людини. В той же час пробиотики як бактеріальна культура проявляє міжвидову взаємодію, яка добре задокументована в ротовій порожнині, зокрема, *Lactobacillus casei*. Його місцева дія в порожнині рота заключається в когезії і коагрегації, опосередкованою адгезин-рецепторами, а також суцесії пародонтопатогенів і потужна антагоністична дія [11]. Також доведено, що пародонтопатогенна мікрофлора не тільки є ключовим джерелом та виконує тригерну роль в розвитку локального та системного хронічного запалення, а і виступає в якості незалежного фактора ризику ішемічної хвороби серця [10].

Метою дослідження є виявлення впливу ожиріння та стресу на рівень резорбції альвеолярної кістки, як окремо, так і в сукупності коморбідності цих станів у нелінійних щурів; дослідження ролі пробіотика *Lactobacillus Casei* в корекції резорбтивного ефекту ожиріння та стресу.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження виконані з дотриманням біоетичних норм на 101 нелінійному щурі обох статей які були розподілені на 8 груп: 1 група (n=11) – інтактні щури, 2 група (n=11) – щури з ожирінням, 3 група (n=16) – щури з ожирінням що піддавались дії стресу, 4 група (n=15) – щури що піддавались дії стресу, 5 група (n=10) – інтактні щури яким вводився пробіотик, 6 група (n=12) – щури з ожирінням та корекцією пробіотиком, 7 група (n=16) – щури з ожирінням що піддавались дії стресу та корекції пробіотиком, 8 група (n=10) – щури що піддавались дії стресу та корекції пробіотиком. Моделювали глутамат-індуковане ожиріння шляхом підшкірного введення глутамату натрію (4 мг/г) у об'ємі 8 мкл/г маси тіла щура новонародженим щурам на 2, 4, 6, 8 та 10 день життя з подальшим стандартним харчуванням віварію. Моделювання стресу проводилось за Сельє Г. для цього досліджуваних щурів фіксували на спині протягом 1 години упродовж 5 днів у віці 4 місяців. Пробиотик *Lactobacillus casei* вводився щурам почи-

наючи з одномісячного віку внутрішньошлунково в об'ємі 1мл ($5 \cdot 10^8$ КУО) двотижневими курсами з перервами у 2 тижні. Під дією тіопенталу натрію 4-х місячних щурів виводили з експерименту шляхом кровопускання, видаляли та зважували вісцеральний жир. Вимірювали довжину тіла, розраховували індекс маси тіла (ІМТ) відношення маси тіла у грамах до квадрату довжини тіла у сантиметрах квадратних та індекс Лі (відношення кубічного кореня маси тіла у грамах до довжини тіла у сантиметрах). Оцінку розвитку стрес-синдрому здійснювали за показниками виразкоутворення, розраховували відносну вагу тимусу та наднирників. Об'єктом дослідження були альвеолярні відростки нижніх щелеп щурів в яких досліджували втрату альвеолярної кістки шляхом визначення коефіцієнту оголення коренів молярів, що дорівнює $\frac{\Delta L}{L} * 100$, де L – це відстань від маргінального краю альвеолярного відростку до верхнього краю коронки зубу, а ΔL - це відстань від маргінального краю альвеолярного відростку до нижнього краю коронки (Рис.1).



Рисунок 1. Методика розрахунку коефіцієнту оголення коренів молярів. Червона лінія означає довжину L, а зелена лінія означає довжину ΔL

Вимірювання проводилось по кожному з трьох молярів за допомогою стереомікроскопу з окуляром мікрометром (Рис 2).

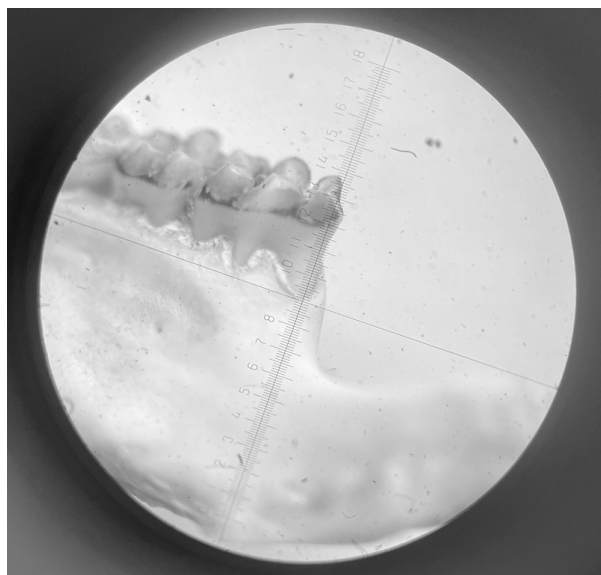


Рисунок 2. Нижня щелепа щура під час дослідження під стереомікроскопом.

Статистичну обробку було проведено в програмі IBM SPSS Statistics v.26.0 за допомогою критерію Шапіро-Уїлка для оцінки розподілу, та за допомогою Т-критерію Стьюдента для незв'язаних вибірок.

Результати та їх обговорення

Аналізуючи антропометричні показники досліджуваних тварин нами встановлено, що глутамат-індуковане ожиріння викликає вірогідне зростання маси вісцерального жиру, ІМТ та індексу Лі у порівнянні з інтактними тваринами (табл. 1). Сполучення ожиріння та стрес-синдрому сприяє вірогідному зростанню індексу Лі та кількості вісцерального депо жирової тка-

нини у порівнянні з першою групою щурів (табл.1). Пробиотик *Lactobacillus casei* запобігав розвитку ожиріння у тварин з коморбідними станами, про що свідчить достовірне зниження індексу Лі, ІМТ та відсутність вісцерального жиру у порівнянні з щурами, яким моделювали ожиріння на тлі стрес-синдрому без корекції (табл. 1).

Таблиця 1
Антропометричні показники досліджуваних тварин

Групи тварин	Індекс Лі	Маса вісцерального жиру, г	ІМТ
1.Інтактні n=10	0,254+0,003	0,50+0,26	0,35+0,01
2.Ожиріння n=14	0,268+0,003*	11,42+1,30*	0,43+0,01*
3.Ожиріння+стрес n=17	0,263+0,002*	12,90+0,74*	0,39+0,01
4.Стрес n=10	0,258+0,002	0,09+0,09	0,37+0,01
5.Пробиотик n=10	0,250+0,001	2,45+0,36	0,33+0,005
6.Ожиріння+пробиотик n=12	0,253+0,003*#	7,38+0,85#	0,39+0,01* #
7.Стрес+пробиотик n=16	0,260+0,004	3,18+0,38	0,39+0,004
8.Ожиріння+стрес+про-біотик n=10	0,243+0,004***	-	0,36+0,01**

Примітка: * P <0,05 до інтактних тварин, # P₂₋₆ <0,05, ** P₃₋₈ <0,05

Таким чином, пробиотик *Lactobacillus casei* є ефективним для корекції ожиріння у тварин за умов моделювання ізольованого ожиріння та на тлі загального адаптаційного синдрому.

Експериментальна ефективність пробиотику *Lactobacillus casei* доведена нами на підставі аналізу пока-

зників, що відображають тяжкість стресу, а саме, розвиток улцераций слизової оболонки шлунку: повна відсутність у щурів з ожирінням на тлі корекції та зменшення частоти, тяжкості і множинності виразок у тварин зі стресом, ожирінням зі стресом на тлі корекції у порівнянні з відповідним контролем (табл. 2).

Таблиця 2
Показники тяжкості стрес-синдрому досліджуваних тварин

Група тварин	Відносна вага тимусу, мг/г	Відносна вага наднирників, мг/г	Показники СОШ		
			Частота виразок, %	Множинність виразок, к-сть виразок на 1 щура	Тяжкість, бали
1.Інтактні n=11	1,08+0,17	0,21+0,02	-	-	-
2.Ожиріння n=11	1,10+0,07	0,16+0,02	-	-	-
3.Ожиріння+стрес n=16	0,99+0,09	0,20+0,02	59,2	0,93	5
4.Стрес n=15	0,77+0,16	0,30+0,04*	75	1,79	6
5.Пробиотик n=10	1,17+0,18	0,20+0,03	-	-	-
6.Ожиріння+пробиотик n=12	1,49+0,11#	0,20+0,03	-	-	-
7.Стрес+пробиотик n=16	0,85+0,10	0,22+0,05#	14,3	0,14	1
8.Ожиріння+стрес+про-біотик n=10	1,29+0,09**	0,25+0,02	15,3	0,31	2

Примітка: * P <0,05 до інтактних тварин, # P₂₋₆ <0,05, ** P₃₋₈ <0,05

У тварин, яким моделювали ожиріння і ожиріння на тлі стрес-синдрому за умов введення пробиотику *Lactobacillus casei* зменшувалась інволюція тимусу, про що свідчать вірогідні зміни відносної ваги вілочкової залози порівняно з відповідними контрольними тваринами (таб. 2).

При вивченні коефіцієнту резорбції альвеолярного відростка щурів усіх досліджуваних груп нами були отримані наступні результати, що представлені на рисунку 3.

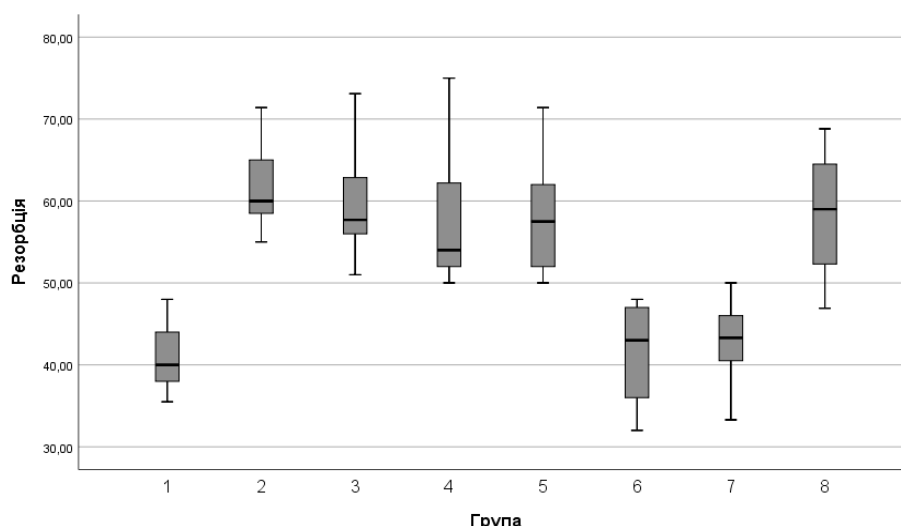


Рисунок 3. Коефіцієнт оголення кореня молярів (%).

Група 1 – інтактні, група 2 – ожиріння, група 3 – ожиріння + стрес, група 4 – стрес, група 5 – пробіотик, група 6 – ожиріння + пробіотик, група 7 + ожиріння + стрес + пробіотик, група 8 – стрес + пробіотик.

Нами отримано достовірно значиму різницю між групами інтактних щурів та: щурів з індукованим ожирінням; групою щурів що піддавались іммобілізаційному стресу, та групою щурів з коморбідністю цих станів (рис. 3). Отримані результати свідчать про резорбтивну дію впливу ожиріння та стресу на кісткову тканину альвеолярного відростку щелеп. В той же час, статистично значимої різниці між групами щурів з ожирінням, стресом, та ожирінням на тлі стресу не виявлено, що свідчить про приблизно однаковий вплив факторів ожиріння, стресу та їх комбінації на резорбцію альвеолярної кістки щелеп досліджуваних тварин. Аналізуючи ефективність пробіотику *Lactobacillus casei* нами виявлено вірогідні зміни між групою щурів яким моделювали ожиріння та тваринами з коморбідністю цих станів у порівнянні з відповідним контролем (рис. 3). Отже, в групах щурів, що піддавались ожирінню; та ожирінню з стресом корекція пробіотиком показала антирезорбтивний ефект, що підтверджується достовірно значимою різницею в порівнянні з відповідними групами без корекції.

Висновки

1. Виявлено вплив глутаматіндукованого ожиріння та хронічного стресу на резорбцію альвеолярного відростка як окремо, так і у випадку поєднаного впливу цих станів у тварин.

2. Пробиотик *Lactobacillus casei* є ефективним для корекції ожиріння у тварин за умов моделювання ізольованого ожиріння та на тлі загального адаптаційного синдрому.

3. Пробиотик *Lactobacillus casei* показав антирезорбтивний ефект на альвеолярний відросток щелеп щурів з індукованим ожирінням та групою щурів, яким моделювали ожиріння і стрес.

Література

1. Crosswell, Alexandra D, and Kimberly G Lockwood. "Best practices for stress measurement: How to measure psychological stress in health research." *Health psychology open* vol. 7,2 2055102920933072. 8 Jul. 2020, doi:10.1177/2055102920933072
2. Deitel M. Overweight and obesity worldwide now estimated to involve 1.7 billion people. *Obes Surg.* 2003 Jun;13(3):329-30. doi: 10.1381/096089203765887598.

3. González-Muniesa P, Martínez-González MA, Hu FB, Després JP, Matsuzawa Y, Loos RJF, Moreno LA, Bray GA, Martínez JA. Obesity. *Nat Rev Dis Primers.* 2017 Jun 15;3:17034. doi: 10.1038/nrdp.2017.34.
4. Li Y, Ling J, Jiang Q. Inflammasomes in Alveolar Bone Loss. *Front Immunol.* 2021 Jun 9;12:691013. doi: 10.3389/fimmu.2021.691013.
5. Lopes Castro MM, Nascimento PC, Souza-Monteiro D, Santos SM, Arouck MB, Garcia VB, Araújo RF Jr, de Araujo AA, Balbinot GS, Collares FM, Rosing CK, Monteiro MC, Ferraz Maia CS, Lima RR. Blood Oxidative Stress Modulates Alveolar Bone Loss in Chronically Stressed Rats. *Int J Mol Sci.* 2020 May 25;21(10):3728. doi: 10.3390/ijms21103728.
6. Mahmud S, Hossain S, Mueyed A, Islam MM, Mohsin M. The global prevalence of depression, anxiety, stress, and insomnia and its changes among health professionals during COVID-19 pandemic: A rapid systematic review and meta-analysis. *Heliyon.* 2021 Jun 26;7(7):e07393. doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07393.
7. Nochaiwong S, Ruengorn C, Thavorn K, Hutton B, Awiphan R, Phosuya C, Ruanta Y, Wongpakaran N, Wongpakaran T. Global prevalence of mental health issues among the general population during the coronavirus disease-2019 pandemic: a systematic review and meta-analysis. *Sci Rep.* 2021 May 13;11(1):10173. doi: 10.1038/s41598-021-89700-8.
8. Rabasa C, Askevik K, Schéle E, Hu M, Vogel H, Dickson SL. Divergent Metabolic Effects of Acute Versus Chronic Repeated Forced Swim Stress in the Rat. *Obesity (Silver Spring).* 2019 Mar;27(3):427-433. doi: 10.1002/oby.22390.
9. Trayhurn P, Wood IS. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr.* 2004 Sep;92(3):347-55. doi: 10.1079/bjn20041213.
10. Vesnina L.E., Izmailova O.V., Shlykova O.A., Kaidashev I.P. Features of NF-κB-mediated signal transduction and development of systemic inflammation in patients with diseases of internal organs are determined by microbial factor and individual reactivity of the body (review of own research findings) *Problemy ekologii ta medyt-syny.* 2015. Vol 19, No 3-4, 30-37.
11. Wen ZT, Liao S, Bitoun JP, De A, Jorgensen A, Feng S, Xu X, Chain PSG, Caufield PW, Koo H, Li Y. *Streptococcus mutans* Displays Altered Stress Responses While Enhancing Biofilm Formation by *Lactobacillus casei* in Mixed-Species Consortium. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017 Dec 20;7:524. doi: 10.3389/fcimb.2017.00524.

Матеріал надійшов до редакції 21.02.2022 р.