

УДК 616.092+615.454.1:616.311+616.34/599.322.4

**С. А. Шнайдер д. мед.н., И. А. Цушко,  
А. П. Левицкий д. биол. н.**Одесский национальный медицинский университет  
Государственное учреждение «Институт стоматологии  
Национальной академии медицинских наук Украины»**АНТИДИСБИОТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ  
ОРАЛЬНЫХ ГЕЛЕЙ С ПРО- И  
ПРЕБИОТИКАМИ НА СЛИЗИСТУЮ ПОЛОСТИ  
РТА И КИШЕЧНИКА КРЫС С ДИСБИОЗОМ,  
ПОЛУЧАВШИХ ВЫСОКОЖИРОВОЙ РАЦИОН**

Используя биохимические методы исследования была изучена эффективность антидисбиотического действия оральных гелей, содержащих про- и пребиотики при дисбиозе в тканях полости рта и кишечника, вызванном введением линкомицина на фоне высокожирового рациона. Оральные аппликации гелей, содержащих про- и пребиотики, предупреждали развитие дисбиоза, уменьшали степень дисбиоза, снижали содержание триглицеридов в печени и в сыворотке крови, а также прирост живой массы крыс.

**Ключевые слова:** дисбиоз, высокожировой рацион, кишечник, слизистая полости рта, пробиотики, пребиотики.

**С. А. Шнайдер, I. О. Цушко, А. П. Левицкий**Одеський національний медичний університет  
Державна установа «Інститут стоматології  
Національної академії медичних наук України»**АНТИДИСБИОТИЧНА ДІЯ ОРАЛЬНИХ ГЕЛІВ  
З ПРО- І ПРЕБІОТИКАМИ НА СЛИЗОВУ  
ПОРОЖНИНУ РОТА ТА КИШКІВНИКА ЩУРІВ  
З ДИСБІОЗОМ, ЯКІ ОТРИМУВАЛИ  
ВИСОКОЖИРОВИЙ РАЦІОН**

Використовуючи біохімічні методи дослідження була вивчена ефективність антидисбіотичної дії оральних гелів, що містять про- і пребіотики при дисбіозі в тканинах порожнини рота і кишківника, викликаному введенням лінкоміцину на тлі високожирового раціону. Оральні аплікації гелів, що містять про- і пребіотики, попереджали розвиток дисбіозу, зменшували ступінь дисбіотичних проявів, знижували вміст тригліцеридів в печінці і в сироватці крові, а також приріст живої маси щурів.

**Ключові слова:** дисбіоз, високожировий раціон, кишківник, слизова порожнини рота, пробіотики, пребіотики..

**S. A. Shnaider, I. A. Tsushko, A. P. Levitsky**Odessa National Medical University  
State Establishment “The Institute of Stomatology  
of the National academy of medical science of Ukraine”**ANTIDYSBIOSIS EFFECT ORAL GELS WITH  
PRE- AND PROBIOTICS ON THE MUCOSA  
OF THE MOUTH AND RAT INTESTINAL  
DYSBIOSIS WITH TO FEED VYSOKOZHIROVOY  
DIET****ABSTRACT**

Research has studied the efficiency of antidisbiotics active oral gels with pro- and prebiotics from dysbiosis in the tissues of the mouth and intestines caused by the introduction of lincomycin on a background vysokozhировой diet use biochemical methods. Oral application of gels containing pro- and prebiotics, prevents the development of dysbiosis reduces the degree of dysbiosis,

lowered triglycerides in the liver and serum, as well as weight gain in rats.

**Key words:** dysbiosis, vysokozhировой diet, bowel, oral mucosa, probiotics, prebiotics.

Результаты экспериментальных исследований показывают, что высокожировые диеты у животных увеличивают концентрацию в плазме кишечного эндотоксина - липополисахарида вследствие преобладания грамотрицательных бактерий, приводят к развитию липотоксичности, вызывают развитие дисбиоза в организме крыс как в кишечнике, так и в полости рта [1, 2]. Наиболее выражены эти изменения при кормлении животных жирами с высоким содержанием пальмитиновой кислоты. К таким жирам относятся пальмовое масло (более 40 % пальмитиновой кислоты) [3] и сливочное масло (28-30 % пальмитиновой кислоты) [4]. При воспроизведении ожирения с помощью высокожирового рациона, в том числе и на фоне введения антибиотика линкомицина, отмечались изменения в организме крыс, а именно развитие дисбиоза в кишечнике, и в биоптатах органов, и в полости рта [2, 4, 5].

**Цель настоящей работы.** Исследование антидисбиотического действия оральных гелей, содержащих про- и пребиотики, на слизистую полости рта и кишечника крыс с дисбиозом, получавших высокожировой рацион.

**Материалы и методы исследования.** В работе были использованы мукозо-адгезивные гели, содержащие пробиотики («Симбитер») или пребиотики («Квертулидон»). Гели «Симбитер» (ТУ У 20.4-13903778-032:2012) содержал бифидобактерии, лактобациллы, пропионибактерии и уксуснокислые бактерии из препарата «Симбитер» (производство ООО «О.Д. Пролісок» (Украина). Конечная концентрация живых бактерий 10<sup>9</sup> КОЕ/мл геля, основу которого составляет карбоксиметилцеллюлоза, натриевая соль (КМЦ). Гель «Квертулидон» (ТУ У 20.4-13903778-032:2012) содержал кверцетин, инулин, имудон и цитрат кальция в 4 %-ной КМЦ. Оба геля производства ООО «Биохимтех» (г. Одесса).

Опыты были проведены на 32 белых крысах линии Вистар (самцы, 5 месяцев, средняя живая масса 200 г), распределенных в 4 равные группы: 1-ая – контроль, получала стандартный комбикорм с содержанием жира 7 %; 2-ая – получала стандартный рацион и с питьевой водой линкомицин в дозе 60 мг/кг в течение 5 дней; 3-я – получала высокожировой рацион (ВЖР), содержащий дополнительно 18 % жира (из которых 15 % – пальмовое масло) и в течение 5 дней линкомицин с питьевой водой в дозе 60 мг/кг; 4-ая получала такой же рацион, как и крысы 3-ей группы, однако ежедневно им делали аппликации на слизистую полости рта по 0,3 мл на крысу гелей «Симбитер» и «Квертулидон». Продолжительность эксперимента составила 20 дней.

Умерщвление животных на 21-й день осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

Определяли прирост живой массы, содержание триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови и в печени ферментативным методом [7], а также степень дисбиоза по Левицкому [8] в слизистой оболочке тонкой кишки, щеки и в десне. Для этого в гомогенатах определяли активность уреазы (маркер микробного обсеменения) [9] и лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [10]. По соотношению относительных

активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза [8].

Результаты опытов были подвергнуты статобработке с определением средней величины (М) и ошибки средней величины ( $\pm m$ ). Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента, принимая за достоверные значения  $p < 0,05$  [11].

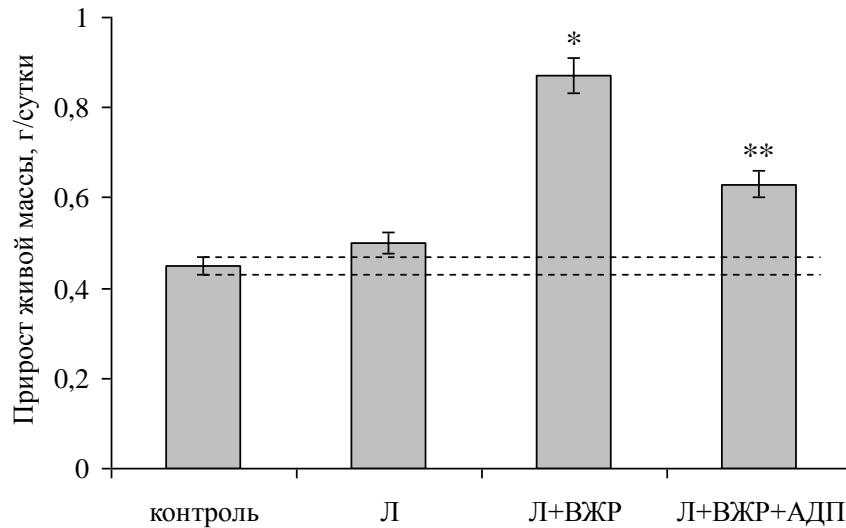


Рис. Влияние антидисбиотических препаратов (АДП) на суточный прирост живой массы крыс, получавших линкомицин (Л) и высокожировую рацион (ВЖР).

**Результаты и их обсуждение.** На рисунке показаны результаты определения прироста живой массы крыс, получавших разные рационы и препараты. Из этих данных видно, что достоверное увеличение прироста живой массы наблюдается лишь у крыс 3-ей группы, получавшей ВЖР на фоне дисбиоза. У крыс 4-ой группы, получавшей оральные аппликации антидисбиотических препаратов, прирост живой массы снижался почти до нормы.

В табл. 1 представлены результаты определения содержания триглицеридов (ТГ) в сыворотке крови и в печени крыс. Из представленных данных видно, что содержание ТГ достоверно возрастает и в сыворотке крови, и в печени при развитии дисбиоза и остается таковым при сочетании дисбиоза с ВЖР. Применение антидисбиотических препаратов путем оральных аппликаций гелей «Симбитер» и «Квертулидон» достоверно снижает содержание ТГ и в сыворотке, и в печени.

Таблица 1

**Влияние антидисбиотических препаратов (АДП) на содержание триглицеридов в сыворотке крови и в печени крыс, получавших линкомицин и высокожировую рацион (ВЖР) ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	Триглицериды	
		Сыворотка, ммоль/л	Печень, ммоль/кг
1	Контроль	0,16 $\pm$ 0,01	7,32 $\pm$ 0,36
2	Линкомицин	0,28 $\pm$ 0,02 $p < 0,01$	8,79 $\pm$ 0,44 $p < 0,05$
3	Линкомицин + ВЖР	0,30 $\pm$ 0,03 $p < 0,01$ $p_1 > 0,3$	8,51 $\pm$ 0,33 $p < 0,05$ $p_1 > 0,5$
4	Линкомицин + ВЖР + АДП	0,22 $\pm$ 0,02 $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$	7,42 $\pm$ 0,22 $p > 0,5$ $p_2 < 0,05$

*Примечание:*  $p$  – в сравнении с гр. 1;  $p_1$  – в сравнении с гр. 2;  $p_2$  – в сравнении с гр. 3.

В табл. 2 представлены результаты определения в слизистой тонкой кишки активности уреазы, лизо-

цима и степени дисбиоза. Из этих данных видно, что введение линкомицина с питьевой водой вызывает

достоверное увеличение активности уреазы, что свидетельствует о росте микробной обсемененности слизистой кишечника. Активность лизоцима, напротив, достоверно снижается, что указывает на существен-

ное снижение неспецифического иммунитета. В итоге степень дисбиоза по Левицкому возрастает в 2,55 раза.

Таблица 2

**Влияние антидисбиотических препаратов (АДП) на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в слизистой оболочке тонкой кишки крыс, получавших линкомицин на фоне высокожирового рациона (ВЖР) ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Контроль	0,85±0,10	220±23	1,00±0,18
2	Линкомицин	1,50±0,13 $p < 0,01$	153±19 $p < 0,05$	2,55±0,29 $p < 0,01$
3	Линкомицин + ВЖР	1,62±0,32 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	132±15 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	3,18±0,34 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$
4	Линкомицин + ВЖР + АДП	1,25±0,20 $p > 0,05$ $p_2 > 0,05$	166±18 $p > 0,05$ $p_2 > 0,05$	1,93±0,22 $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$

*Примечание:*  $p$  – в сравнении с гр. 1;  $p_1$  – в сравнении с гр. 2;  $p_2$  – в сравнении с гр. 3.

Содержание животных на ВЖР еще больше усугубляет положение, увеличивая несколько микробную обсемененность и несколько снижая неспецифический иммунитет, что дает степень дисбиоза 3,18.

Оральные аппликации гелей «Симбитер» и «Квертулидон» снижает активность уреазы и увеличивает активность лизоцима (однако,  $p > 0,05$ ) и достоверно снижает степень дисбиоза, хотя и не возвращает ее к норме.

Таблица 3

**Влияние антидисбиотических препаратов (АДП) на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в десне крыс получавших линкомицин и высокожировую рацион (ВЖР) ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Контроль	0,89±0,10	300±30	1,00±0,16
2	Линкомицин	1,10±0,10 $p > 0,05$	150±50 $p < 0,05$	2,48±0,27 $p < 0,01$
3	Линкомицин + ВЖР	1,24±0,13 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	80±6 $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	5,35±0,55 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$
4	Линкомицин + ВЖР + АДП	0,84±0,11 $p > 0,5$ $p_2 < 0,05$	180±50 $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,57±0,20 $p < 0,05$ $p_2 < 0,05$

*Примечание:*  $p$  – в сравнении с гр. 1;  $p_1$  – в сравнении с гр. 2;  $p_2$  – в сравнении с гр. 3.

Таблица 4

**Влияние антидисбиотических препаратов (АДП) на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в слизистой щеки крыс, получавших линкомицин и высокожировую рацион (ВЖР) ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Контроль	0,44±0,02	270±20	1,00±0,15
2	Линкомицин	0,75±0,04 $p < 0,01$	180±20 $p < 0,05$	2,60±0,28 $p < 0,01$
3	Линкомицин + ВЖР	1,14±0,11 $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	120±30 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	5,89±0,62 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$
4	Линкомицин + ВЖР + АДП	0,61±0,05 $p < 0,05$ $p_2 < 0,01$	190±30 $p < 0,05$ $p_2 > 0,05$	1,99±0,22 $p < 0,05$ $p_2 < 0,01$

*Примечание:*  $p$  – в сравнении с гр. 1;  $p_1$  – в сравнении с гр. 2;  $p_2$  – в сравнении с гр. 3.

В табл. 3 представлены аналогичные данные для десны крыс. Как видно из этих данных, кишечный дисбиоз вызывает развитие дисбиоза в десне крыс (2,48), однако, в отличие от слизистой кишечника, в десне содержание крыс на ВЖР очень сильно снижает активность лизоцима, что в конечном итоге дает резкое увеличение степени дисбиоза (5,35).

Оральные аппликации гелей с антидисбиотическими препаратами нормализуют в десне активность уреазы более чем в 2 раза увеличивают активность лизоцима, что в конечном итоге дает снижение степени дисбиоза в 3,4 раза.

В табл. 4 представлены результаты определения в слизистой щеки активности уреазы, лизоцима и степени дисбиоза. Видно, что кишечный дисбиоз вызывает достоверное повышение активности уреазы, снижение активности лизоцима и увеличение степени дисбиоза (2,60). Содержание крыс на ВЖР еще больше увеличивает активность уреазы, снижает активность лизоцима и дает резкое увеличение степени дисбиоза в щеке (почти в 6 раз).

Оральные аппликации антидисбиотических гелей снижают активность уреазы, повышают активность лизоцима и почти в 3 раза снижают степень дисбиоза.

Таким образом, воспроизведение кишечного дисбиоза с помощью линкомицина индуцирует развитие дисбиоза в тканях полости рта и увеличение содержания ТГ в сыворотке крови и в печени. Высокожировый рацион способствует большему увеличению степени дисбиоза в тканях полости рта.

Нами установлено антидисбиотическое и гиполлипидемическое действие оральных гелей, содержащих про- и пребиотики более выраженное для тканей полости рта.

**Выводы.** 1. Введение с питьевой водой линкомицина вызывает развитие дисбиоза в кишечнике и тканях полости рта, а также увеличение содержания ТГ в сыворотке крови и в печени.

2. Высокожировый рацион усиливает развитие дисбиоза в тканях полости рта.

3. Оральные гели с антидисбиотическими средствами предупреждают развитие дисбиоза и оказывают гиполлипидемическое действие.

#### Список литературы

1. **Obesity**, non-alcoholic fatty liver disease, and atherothrombosis: a role for the intestinal microbiota? / Knaapen M. [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2013 – Vol. 19, № 4. – P. 331–337.
2. **Velichko V. I.** Development of dysbiosis in tissues of rats fed with a high fat food / V. I. Velichko, V. V. Tkachuk, A. P. Levitsky. *Journal of Health Sciences*. – 2014. – № 4(12). – 84-92.
3. **Титов В. Н.** Высокое содержание пальмитиновой жирной кислоты в пище – основная причина повышения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интимы артерий / В. Н. Титов // *Клин. лабор. диагностика*. – 2013. – № 2. – С. 3-10.
4. **Левицкий А. П.** Гиперлипидемическое и продисбиотическое действие сливочного масла / А. П. Левицкий, Е. М. Левченко, С. И. Конкин / *Актуальные проблемы транспортной медицины*. – 2014. – т. 2, № 4 (38-II). – С. 127-131.
5. **Новик Г. И.** Продукция гидролаз и антибиотикорезистентность молочнокислых и бифидобактерий / Г. И. Новик, Н. И. Астапович, Н. Е. Рябая // *Прикладная биохимия и микробиология*. – 2007. – т. 43, № 2. – С. 184-192.
6. **Экспериментальные** методы воспроизведения и определения степени дисбиоза в тканях полости рта / А. П. Левицкий,

О. А. Макаренко, О. В. Денга [и др.] // *Вісник стоматології*. – 2010. – № 2. – С. 22-23.

7. **Інструкція** до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом / ТУ У 24.4-24607793-020-2003.

8. **Патент** на корисну модель, Україна 43140, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А.П., Денга О. В., Селіванська І.О. [та ін.]. – Опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.

9. **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.

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

11. **Лапач О. Н.** Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / Лапач О. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

#### REFERENCES

1. **Knaapen M. [et al.]**. Obesity, non-alcoholic fatty liver disease, and atherothrombosis: a role for the intestinal microbiota? *Clinical Microbiology and Infection*. 2013;4(19): 331–337.
2. **Velichko V. I., Tkachuk V. V., Levitsky A. P.** Development of dysbiosis in tissues of rats fed with a high fat food.. *Journal of Health Sciences*. 2014;4(12):84-92.
3. **Titov V. N.** The high content of palmitic fatty acid in food – the main reason for increase of level of cholesterol of lipoproteins of low density and an atheromatous intims of arteries/ *Клин. лабор. диагностика*. – 2013. – № 2. – С. 3-10.
4. **Levitskiy A. P., Levchenko E. M., Konkin S. I.** Hyperlipidemic and prodysbiotic effect of dairy butter. *Aktual'nye problemy transportnoy meditsiny*. 2014;2;4(38-II):127-131.
5. **Novik G. I., Astapovich N. I., Ryabaya N. E.** The production of hydrolases and antibiotic resistance of lactobacilli and bifidobacilli. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*. 2007; 43 (2): 184-192.
6. **Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Den'ga O. V. i dr.** Experimental methods of reproduction and definition of degree of a disbioz in oral cavity. *Visnyk stomatologii*. 2010;2:22-23.
7. **Інструкція до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом** [Instruction to the set of reagents for determination of triglycerides in a serum and plasma of blood by the colorimetry method of enzyme]. THAT In 24.4-24607793-020-2003.
8. **Levitsky A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. [ta in.]**. 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.
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.
11. **Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N.** Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel [Statistical methods in medical and biological research by using Excel]. *Kiev, Morion*, 2000: 320.

Поступила 27.04.15

