

Stupak E. P., Skidan K. V., Skidan M. I., Dem'yanenko S. A. Пародонтопротекторное действие антидисбиотических средств при экспериментальном сахарном диабете 2 типа = Periodontitis-protective effect of anti-dysbiotic means at experimental diabetes mellitus type 2. Journal of Education, Health and Sport. 2015;5(12):588-597. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.44264> <http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/2015%3B5%2812%29%3A588-597> <http://pbn.nauka.gov.pl/works/687233>  
Formerly Journal of Health Sciences. ISSN 1429-9623 / 2300-665X. Archives 2011–2014 <http://journal.rsw.edu.pl/index.php/JHS/issue/archive>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015). 755 Journal of Education, Health and Sport (null) 2391-8306 7  
© The Author (s) 2015;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland and Radom University in Radom, Poland Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited. The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper. Received: 10.12.2015. Revised 15.12.2015. Accepted: 29.12.2015.

УДК 616.731-07.23.008

## ПАРОДОНТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИДИСБИОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 2 ТИПА

### PERIODONTITIS-PROTECTIVE EFFECR OF ANTI-DYSBIOTIC MEANS AT EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS TYPE 2

Е. П. Ступак<sup>1</sup>, К. В. Скидан<sup>2</sup>, М. И. Скидан<sup>2</sup>, С. А. Демьяненко<sup>3</sup>

E. P. Stupak<sup>1</sup>, K. V. Skidan<sup>2</sup>, M. I. Skidan<sup>2</sup>, S. A. Dem'yanenko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ВГУУ «Украинская медицинская стоматологическая академия», г. Полтава

<sup>2</sup>Харьковский национальный медицинский университет

<sup>3</sup>Крымский государственный медицинский университет

им. С. И. Георгиевского, г. Симферополь

<sup>1</sup>HSEI «Ukrainian medical Stomatological Academy», Poltava

<sup>2</sup>Kharkiv national medical university, Kharkiv

<sup>3</sup>Crimean State Medical University named after S.I.Georgievskij, Simferopol

#### Abstract

Aim: To determine the therapeutic and preventive effect of oral gels with anti-dysbiotic means (ADM) on periodont at type 2 diabetes mellitus (DMT2).

Materials and Methods: Diabetes in rats was induced by an intra-muscular administration of protamine sulfate for 10 days. As ADM there were used lysozyme, quercetin, flour,

mucosin and flour from vine leaves, which were applied in form of gels on the oral mucosa of rats for 2 weeks. In the gums' homogenates there were determined the activities of urease, lysozyme, elastase, catalase and the MDA content. The degree of dysbiosis by Levitsky was calculated as the ratio of the relative activities of urease and lysozyme. The antioxidant-prooxidant index API was calculated as the ratio of the catalase activity and the MDA content.

**Results:** The urease activity, the degree of dysbiosis, the elastase activity and the MDA content were increased while the lysozyme activity and the index API were reduced in rats with diabetes type 2 in the periodont. Applied gels containing ADM showed therapeutic and preventive effects.

**Conclusion:** At diabetes type 2 in the periodont of rats there were developing dysbiosis and inflammation. The application of oral gels with ADM provided a therapeutic and preventive treatment.

**Keywords:** diabetes type 2, periodont, dysbiosis, inflammation, anti-dysbiotic means, oral gels.

### **Резюме**

При экспериментальном сахарном диабете 2 типа в десне развивается дисбиоз и воспаление. Оральные гели с антидисбиотическими средствами (лизоцим, кверцетин, мукозин и мука из виноградных листьев) оказывают лечебно-профилактический эффект.

**Ключевые слова:** сахарный диабет 2 типа, пародонт, дисбиоз, воспаление, антидисбиотические средства, оральные гели.

### **Введение**

В патогенезе сахарного диабета 2 типа ведущую роль играет дисбиоз [1]. При моделировании сахарного диабета 2 типа с помощью протамин сульфата

дисбиотические явления наблюдаются и в полости рта [2]. Как известно, оральный дисбиоз является важнейшей причиной развития патологических процессов в тканях полости рта [3].

Для профилактики и лечения орального дисбиоза предложен ряд антидисбиотических средств (АДС), содержащих про- и пребиотики [4] либо биофлавоноиды [5].

*Целью* настоящего исследования стало определение лечебно-профилактического действия на пародонт при диабете 2 типа таких АДС как лизоцим, кверцетин, мука из виноградных листьев и препарат слизистой оболочки тонкой кишки свиней мукозин.

Лизоцим является одним из факторов неспецифического иммунитета [6], мука из виноградных листьев содержит около 10 % полифенольных веществ, среди которых преобладают кверцетин-содержащие соединения [7], а препарат мукозин содержит гиалуроновую кислоту, коллаген и гепарин, укрепляющих сосудистую стенку и препятствующих транслокации бактерий [8].

#### **Материалы и методы исследования**

Опыты были проведены на 42 белых крысах линии Вистар (самцы, 5 месяцев, живая масса  $260 \pm 12$  г), распределенных в 6 равных групп: 1-ая – контроль (норма), 2-6 группы: сахарный диабет 2 типа. 3-я группа получала с первого дня опыта оральные аппликации геля, содержащего лизоцим яичный (2 мг/мл), 4-ая – аппликации геля, содержащего муку из виноградных листьев (20 мг/мл), 5-ая – аппликации геля, содержащего мукозин (20 мг/мл) и 6-ая – аппликации геля, содержащего кверцетин (2 мг/мл).

Сахарный диабет 2 типа вызывали путем введения в/мышечно раствора протамин сульфата в дозе 18 мг/кг 2 раза в день в течение 10 дней [9]. Гели с вышеуказанными АДС на основе карбоксиметилцеллюлозы (Na-соли) наносили на слизистую полости рта ежедневно с первого дня опыта в дозе 0,5 мл на крысу. Эвтаназию животных осуществляли на 15-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/мл) путем тотального кровопускания из сердца.

В гомогенате десны определяли уровень маркеров воспаления [10]: содержание малонового диальдегида (МДА) [11] и активность эластазы [12], а также активность антиоксидантного фермента каталазы [13], микробного фермента уреазы (маркер микробного обсеменения) [14], антимикробного фермента лизоцима [6]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень

дисбиоза по А. П. Левицкому [15], а по соотношению активности каталазы и содержания МДА – антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [10].

Статобработку результатов осуществляли в соответствии с рекомендациями [16], принимая за достоверные различия значения  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены результаты определения содержания глюкозы в сыворотке крови крыс с сахарным диабетом 2 типа, получавших АДС. Видно, что при диабете уровень глюкозы возрастает на 20 %, а аппликации гелей с АДС снижают уровень глюкозы на 8-12 %, причем достоверно гель с кверцетином.

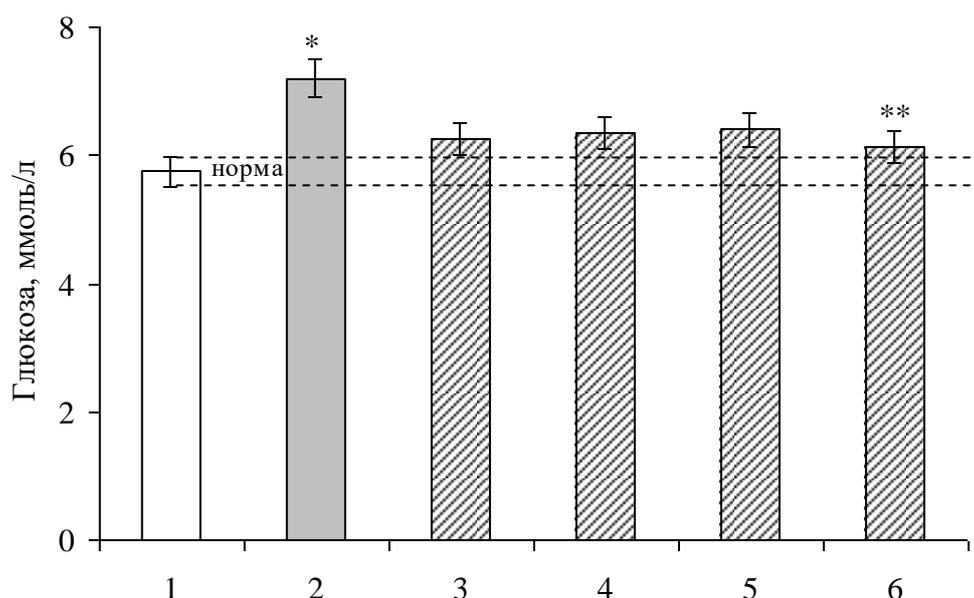


Рис. 1. Влияние АДС на уровень глюкозы в сыворотке крови крыс с сахарным диабетом

2 типа (СД2): 1 – норма; 2 – СД2; 3 – СД2+лизоцим; 4 – СД2+мука из виноградных листьев; 5 – СД2+мукозин; 6 – СД2+кверцетин

(\* –  $p < 0,05$  в сравнении с гр. 1; \*\* –  $p < 0,05$  в сравнении с гр. 2)

В таблице 1 показаны результаты определения активности уреазы и лизоцима в десне крыс с СД2 и получавших АДС. Видно, что при диабете несколько возрастает активность уреазы (на 24 %), свидетельствующая о росте микробной обсемененности тканей пародонта, а под влиянием оральных гелей с АДС уровень уреазы полностью нормализуется. Активность лизоцима в десне, напротив, снижается (на 34 %) при СД2

и повышается после аппликаций гелей с АДС (особенно, после гелей с АДС, содержащими муку из виноградных листьев или мукозин).

Таблица 1

Влияние оральных гелей с АДС на активность уреазы и лизоцима в десне крыс с сахарным диабетом 2 типа (СД2)

№№ пп	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг
1	Контроль (норма)	3,29±0,31	328±24
2	СД2	4,08±0,35 p>0,05	217±20 p<0,05
3	СД2 + лизоцим	3,28±0,29 p>0,9; p <sub>1</sub> >0,05	273±36 p>0,05; p <sub>1</sub> >0,05
4	СД2 + мука из виноградных листьев	3,30±0,24 p>0,9; p <sub>1</sub> >0,05	318±31 p>0,3; p <sub>1</sub> <0,05
5	СД2 + мукозин	3,25±0,23 p>0,7; p <sub>1</sub> >0,05	310±42 p>0,3; p <sub>1</sub> <0,05
6	СД2 + кверцетин	3,28±0,28 p>0,9; p <sub>1</sub> >0,05	267±23 p>0,05; p <sub>1</sub> >0,05

Примечания: p – в сравнении с гр. 1; p<sub>1</sub> – в сравнении с гр. 2.

Рассчитанная по этим показателям степень дисбиоза по Левицкому представлена на рис. 2, из которого следует, что при СД2 достоверно возрастает степень дисбиоза, которая достоверно (почти до нормы) снижается после аппликаций гелей с АДС.

Как результат дисбиоза, развивается воспаление в десне (гингивит), о чем свидетельствует достоверное повышение уровня эластазы и МДА (табл. 2). Оральные аппликации гелей с АДС достоверно снижают уровень обоих маркеров воспаления, причем, в большей степени гель с кверцетином.

В механизме противовоспалительного действия АДС может лежать не только их способность устранять явления дисбиоза, но и способность повышать индекс АПИ (рис. 3), причем, не за счет каталазы (табл. 3), а, главным образом, за счет снижения содержания МДА.

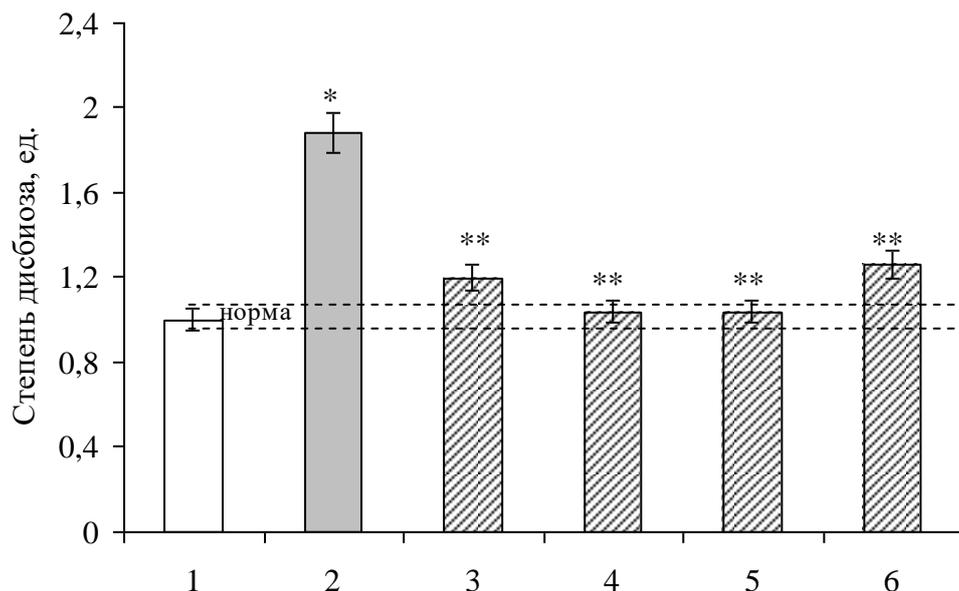


Рис. 2. Влияние АДС на степень дисбиоза в десне крыс с сахарным диабетом 2 типа (1-6; \*, \*\* – см. рис. 1)

Таблица 2

Влияние оральных гелей с АДС на уровень в десне крыс маркеров воспаления: эластазы и МДА при СД2

№№ пп	Группы	Эластаза, мк-кат/кг	МДА, ммоль/кг
1	Контроль (норма)	44±3	14,5±0,7
2	СД2	55±2 p<0,05	26,9±1,0 p<0,001
3	СД2 + лизоцим	47±3 p>0,3; p <sub>1</sub> <0,05	18,8±0,8 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,01
4	СД2 + мука из виноградных листьев	45±4 p>0,6; p <sub>1</sub> <0,05	19,1±1,0 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,01
5	СД2 + мукозин	52±3 p>0,05; p <sub>1</sub> >0,3	18,1±1,1 p<0,05; p <sub>1</sub> <0,01
6	СД2 + кверцетин	47±2 p>0,3; p <sub>1</sub> <0,05	16,3±0,5 p>0,05; p <sub>1</sub> <0,001

Примечания: см. табл. 1.

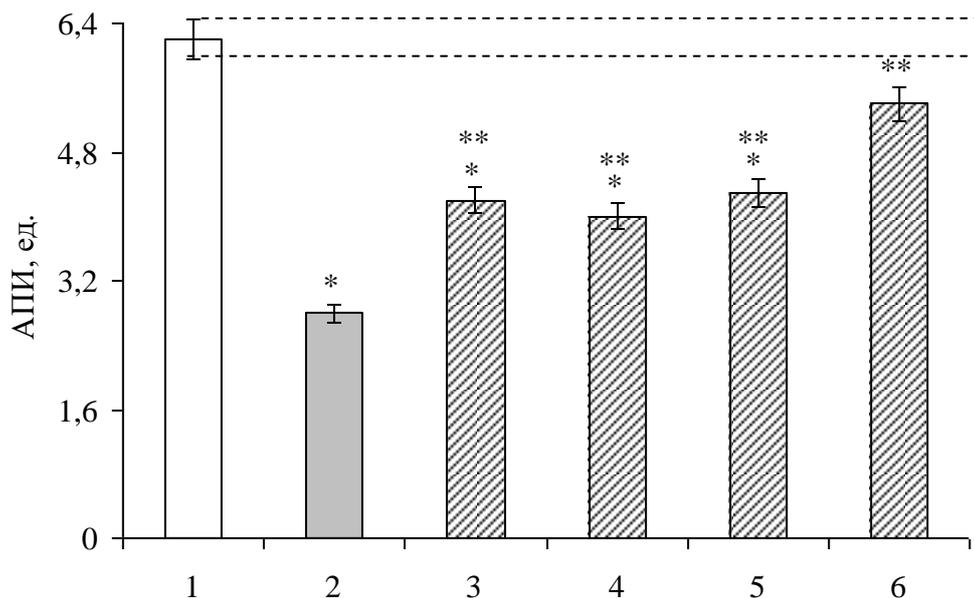


Рис. 3. Антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ в десне крыс с сахарным диабетом 2 типа (1-; \*, \*\* – см. рис. 1)

Таблица 3

Влияние оральных гелей с АДС на активность каталазы в десне крыс с сахарным диабетом 2 типа (СД2)

№№ пп	Группы	Каталаза, мкат/кг
1	Контроль (норма)	8,86±0,34
2	СД2	7,59±0,42 p<0,05
3	СД2 + лизоцим	7,97±0,38 p>0,05; p <sub>1</sub> >0,3
4	СД2 + мука из виноградных листьев	7,85±0,44 p>0,05; p <sub>1</sub> >0,3
5	СД2 + мукозин	7,86±0,48 p>0,05; p <sub>1</sub> >0,3
6	СД2 + кверцетин	8,71±0,36 p>0,5; p <sub>1</sub> <0,05

Примечания: см. табл. 1.

Из испытанных нами АДС трудно выделить наиболее эффективное, поскольку все они обладают и антидисбиотическим, и противовоспалительным, и антиоксидантным действием. В то же время у лизоцима, по-видимому, ведущим

является иммуномодулирующие свойства [6], а у мукозина – мембранопротекторные [8].

Совокупность этих свойств испытанных нами АДС, по-видимому, и определяет их антидисбиотическое действие, поскольку синдром дисбиоза имеет в своей основе и нарушение микробного баланса, и развитие иммунодефицита, и повышение проницаемости гисто-гематических барьеров [4].

Учитывая важную роль дисбиоза в развитии осложнений сахарного диабета, считаем целесообразным использование оральных гелей с АДС для их профилактики.

### **Выводы**

1. При сахарном диабете 2 типа в пародонте развиваются дисбиотические и провоспалительные процессы.

2. Оральные аппликации гелей с АДС (лизоцим, кверцетин, мука из виноградных листьев или препарат из слизистой тонкой кишки) оказывают антидисбиотическое и противовоспалительное действие на пародонт.

### **Литература**

1. Бондаренко В. М. Кишечная микрофлора, ожирение и диабет 2 типа / В. М. Бондаренко, В. В. Малеев, В. Г. Лиходед // ЖМЭИ. – 2014. – № 3. – С. 42-49.

2. Левицкий А. П. Дисбиоз, диабетическая ретинопатия и пребиотики / А. П. Левицкий, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 197 с.

3. Тец В. В. Роль микрофлоры полости рта в развитии заболеваний человека / В. В. Тец // Стоматология. – 2008. – т. 87. № 3. – С. 76-80.

4. Левицкий А. П. Пребиотики и проблема дисбактериоза / А. П. Левицкий, Ю. Л. Волянский, К. В. Скидан. – Харьков: ЭДЭНА, 2008. – 100 с.

5. Левицкий А. П. Применение антидисбиотическим средств в стоматологии / А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2014. – № 4 (89). – С. 89-92.

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

7. Вино как источник витамина Р / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. В. Ходаков [и др.] // Харчова наука і технологія. – 2012. – № 3 (20). – С. 19-22.

8. Левицкий А. П. Влияние геля с мукозином на биохимические показатели слизистой оболочки полости рта крыс с протаминовым стоматитом // А. П. Левицкий, И. А. Давиденко, О. Н. Сенников // Вісник стоматології. – 2012. – № 4. – С. 11-13.

9. Ульянов А. М. Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина / А. М. Ульянов, Ю. А. Тарасов // Вопросы медицинской химии. – 2000. – т. 46, № 2. – С. 149-154.

10. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2010. – 16 с.

11. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // В кн.: Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

12. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторо: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.

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

14. 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. Выпуск. – С. 49-50.

15. Патент на корисну модель № 43140, Україна, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / А. П. Левицький, О. В. Деньга, І. О. Селіванська [та ін.]. – Заявл. 26.12.2008. – u200815092. – Опубл. 10.08.2009. – Бюл. № 15.

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

## References

1. Bondarenko V. M., Maleev V. V., Likhoded V. G. Intestinal microflora, obesity and type 2 diabetes. JMEI. 2014; 3: 42-49

2. Levitsky A. P., Tsiselskiy Yu. V. Disbioz, diabeticheskaya retinopatiya i prebiotiki [Dysbiosis, diabetic retinopathy and prebiotics]. Odessa, KP OGT, 2012: 197.

3. Tets V.V. The role of oral microflora at the development of human diseases. Stomatologiya. 2008; 87(3): 76-80.

4. Levitsky A. P., Volyanskiy Yu. L., Skidan K. V. Prebiotiki I problema disbacterioza [Prebiotics and the problem of dysbacteriosis]. Kharkov, EDENA, 2008:100.

5. Levitsky A. P. The use of antidysbiotic preparations in dentistry. *Visnyk stomatologii*. 2014; 4: 80-88.
6. Levitsky A. P. Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005: 74.
7. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Khodakov I. V. [et al.]. Wine as a source of vitamin P. *Kharchova nauka i tekhnologiya*. 2012; 3(20): 19-22.
8. Levitsky A. P., Davidenko I. A., Sennikov O. N. The effect of the gel with mucosin on biochemical indices of oral mucosa of rats with protamine stomatitis. *Visnyk stomatologii*. 2012; 4: 11-13.
9. Ulyanov A. M., Tarasov Yu. A. The insular system of animals at chronic deficiency of heparin. *Voprosy meditsinskoj khimii*. 2000; 46(2): 149-154.
10. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [et al.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010: 16.
11. 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.
12. Levitsky A. P., Stefanov A. V. Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye inhibitorov: metodicheskie rekomendatsii [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. Kiev, GFK, 2002:15.
13. Girin S. V. The modification of the method of the determination of catalase activity in biological substrates. *Laboratornaya diagnostika*. 1999; 4: 45-46.
14. 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.
15. Levitsky A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. [et al.]. 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.
16. Truhacheva N. V. Matematicheskaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovanijah s primeneniem paketa Statistica [Mathematical Statistics in biomedical research using application package Statistica]. Moskva, GJeOTAR-Media, 2012: 379.