

Shuhtina I. N., Petrenko A. A., Uspensky O. E., Gozhenko A. I. Развитие дисбиоза и воспаления в организме крыс, получавших антихеликобактерную терапию и их профилактика антидисбиотическим препаратом «квертулидон» = Development of dysbiosis and inflammation in rats treated with anti-helicobacter pylori therapy and prevention using antidysbiotic drug "quertulidon". Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(6):619-628. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.56756> <http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3650>

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 eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, 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/4.0/>) 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/4.0/>) 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: 25.05.2016. Revised 25.06.2016. Accepted: 28.06.2016.

УДК 616.33:342.092

РАЗВИТИЕ ДИСБИОЗА И ВОСПАЛЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ АНТИХЕЛИКОБАКТЕРНУЮ ТЕРАПИЮ И ИХ ПРОФИЛАКТИКА АНТИДИСБИОТИЧЕСКИМ ПРЕПАРАТОМ «КВЕРТУЛИДОН»

Шухтина И. Н.¹, Петренко А. А.², Успенский О. Е.³, Гоженко А. И.¹

¹ГУ «Украинский НИИ медицины транспорта МЗУ» (г. Одесса, Украина)

²ГУ «Институт стоматологии НАМН» (г. Одесса, Украина)

³Харьковский национальный медицинский университет (Украина)

Резюме

Антихеликобактерная терапия (омепразол, амоксил, кларитромицин) вызывает развитие неспецифического иммунодефицита, дисбиоза и воспаления. Оральные аппликации квертулидона (имудон, инулин, кверцетин и цитрат кальция) оказывают антидисбиотическое и противовоспалительное действие.

Ключевые слова: антихеликобактерная терапия, иммунодефицит, дисбиоз, воспаление, квертулидон.

DEVELOPMENT OF DYSBIOSIS AND INFLAMMATION IN RATS TREATED WITH ANTI-HELICOBACTER PYROLI THERAPY AND PREVENTION USING ANTIDYSBIOTIC DRUG "QUERTULIDON"

I. N. Shuhtina, A. A. Petrenko, O. E. Uspensky, A. I. Gozhenko

¹SE «Institute of Transport Medicine MZU of Ukraine» (Odessa, Ukraine)

²SE «The Institute of Stomatology of the National academie of medical science of Ukraine» (Odessa, Ukraine)

³State Establishment «Kharkov National Medical University» (Odessa, Ukraine)

Summary

Aim: To determine the preventive effect of the new antidysbiotic drug "Quertulidon" exercising the anti-helicobacter pylori therapy (AHBT).

Materials and methods: Rats have received AHBT (omeprazole in a dose of 1.3 mg / kg, amoxil in a dose of 50 mg / kg and clarithromycin in a dose of 7.5 mg / kg) per os for 8 days. The core group have been receiving oral administrations of phytogel "Quertulidon" (containing imudon, inulin, quercetin and calcium citrate) for 11 days extra. On the day 12, after euthanasia, blood, serum and tissue homogenates (liver, gums, mucous membranes of stomach and cheeks) were analyzed. In blood there were determined neutrophils, lymphocytes and lymphocytic index (LI - the ratio of lymphocytes to neutrophils). In serum and tissue homogenates there were determined inflammation markers (MDA and elastase), the rate of microbial contamination (by urease), the indicator of non-specific immunity (lysozyme) and the degree of dysbiosis by Levitsky.

Results: AHBT induced the 3-fold increase in LI due to the decrease in the number of neutrophils. AHBT also induced the increase

in the MDA, elastase and urease levels; it did the decrease in the lysozyme activity and large raise (2.5 - 5 times) of the degree of dysbiosis. Oral application of quertulidon normalized the level of lysozyme, reduced LI, significantly reduced the MDA, elastase and urease levels; and reduced the degree of dysbiosis by 1.4 - 1.8 times.

Conclusion: Quertulidon has immunostimulant, antidysbiotic and anti-inflammatory effect that allows to suggest it for the prevention of AHBT-related complications.

Keywords: anti-helicobacter pylori therapy, immune deficiency, dysbiosis, inflammation, quertulidon.

Введение

H. pylori является ведущим фактором в этиологии и патогенезе язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки [1-3]. Использование для эрадикации этого патогена разных схем антихеликобактерной терапии (АХБТ), включающей сильнодействующие антибиотики [4, 5], вызывает побочные эффекты, обусловленные развитием дисбиоза, поражением печени и других органов [6, 7].

Целью настоящего исследования стало определение возможного профилактического действия нового антидисбиотического препарата «Квертулидон», содержащего иммуностимулятор имудон [8, 9], пребиотик инулин [10], биофлавоноид кверцетин [11] и цитрат кальция [12].

Материалы и методы исследования

В эксперименте было использовано 30 белых крыс линии Вистар (самки, 10 месяцев, живая масса 300 ± 12 г), распределенных в 3 равные группы: 1-ая – контроль (норма), 2-ая + 3-я группа получали *per os* ежедневно АХБТ (омепразол в дозе 1,3 мг/кг, амоксил в дозе 50 мг/кг и кларитромицин в дозе 7,5 мг/кг) в течение 8 дней. Крысы 3-ей группы дополнительно с первого дня опыта получали ежедневно аппликации на слизистую оболочку полости рта фитогель «Квертулидон» (производства НПА «Одесская биотехнология») в дозе 0,5 мл на крысу в течение 11 дней.

Эвтаназию животных осуществляли на 12-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. В крови определяли содержание нейтрофилов и лимфоцитов [13] и рассчитывали лимфоцитарный индекс (соотношение лимфоциты/нейтрофилы) [14].

В сыворотке крови, в гомогенатах тканей (печени, десны, слизистых щęki и желудка) определяли уровень маркеров воспаления [15]: содержание малонового диальдегида [16], активность эластазы [17], активность уреазы (показатель микробного

обсеменения) [18], активность лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) бактериолитическим методом [18]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [19].

Статобработку полученных результатов осуществляли в соответствии с рекомендациями [20] и представили в виде средней величины (М) и ошибки средней величины ($\pm m$), принимая за достоверные различия значения $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

На рисунке показано, как изменяются показатели неспецифического иммунитета (лизоцима сыворотки и лимфоцитарный индекс) после АХБТ и после аппликации геля «Квертулидон».

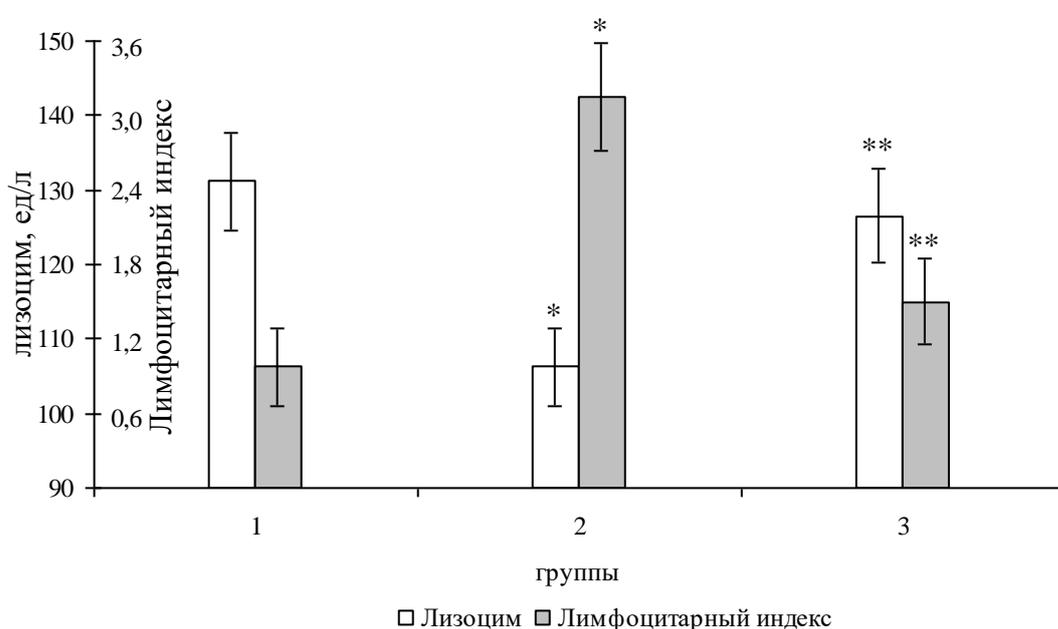


Рис. Влияние оральных аппликаций геля «Квертулидон» (гр. 3) на активность лизоцима в сыворотке крови и лимфоцитарный индекс крови крыс, получавших АХБТ (гр. 2 и 3)

* - $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1; ** - $p < 0,05$ в сравнении с гр. 2

Из этих данных видно, что АХБТ вызывает достоверное снижение активности лизоцима (на 18,3 %) и почти 3-кратное увеличение лимфоцитарного индекса (главным образом за счет снижения числа нейтрофилов). Это свидетельствует о существенном снижении после АХБТ уровня неспецифического иммунитета. Оральные аппликации геля «Квертулидон» практически нормализуют уровень лизоцима и достоверно снижают лимфоцитарный индекс.

В таблицах 1 и 2 представлены результаты определения биохимических маркеров

воспаления: МДА и эластазы. Из данных таблицы 1 видно, что содержание МДА в тканях достоверно возрастает после АХБТ, а после оральных аппликаций препарата снижается, причем в сыворотке крови и в десне достоверно.

Таблица 1

Влияние оральных аппликаций геля «Квертулидон» на содержание МДА в тканях крыс, получавших АХБТ ($M \pm m$, $n=10$)

Ткани	Группы		
	Контроль	АХБТ	АХБТ+Квертулидон
Сыворотка крови, ммоль/л	$0,56 \pm 0,03$	$0,69 \pm 0,03$ $p < 0,05$	$0,60 \pm 0,03$ $p > 0,3; p_1 < 0,05$
Печень, ммоль/кг	$20,7 \pm 3,0$	$33,9 \pm 3,1$ $p < 0,01$	$30,2 \pm 2,9$ $p < 0,05; p_1 > 0,3$
Желудок, ммоль/кг	$9,5 \pm 0,5$	$11,6 \pm 1,1$ $p < 0,05$	$10,4 \pm 0,7$ $p > 0,05; p_1 > 0,3$
Щека, ммоль/кг	$15,4 \pm 1,5$	$23,8 \pm 2,8$ $p < 0,05$	$18,9 \pm 2,5$ $p > 0,05; p_1 > 0,05$
Десна, ммоль/кг	$13,2 \pm 1,2$	$19,2 \pm 1,5$ $p < 0,05$	$14,1 \pm 1,5$ $p > 0,3; p_1 < 0,05$

Примечания: p – по сравнению с гр. № 1; p_1 – по сравнению с гр. № 2.

Таблица 2

Влияние оральных аппликаций геля «Квертулидон» на активность эластазы в тканях крыс, получавших АХБТ ($M \pm m$, $n=10$)

Ткани	Группы		
	Контроль	АХБТ	АХБТ+Квертулидон
Сыворотка крови, нкат/л	$141 \pm 8,8$	$177 \pm 5,6$ $p < 0,05$	149 ± 10 $p > 0,3; p_1 < 0,05$
Печень, нкат/кг	$254 \pm 6,0$	306 ± 9 $p < 0,01$	258 ± 8 $p > 0,3; p_1 < 0,01$
Желудок, нкат/кг	67 ± 3	94 ± 3 $p < 0,01$	80 ± 5 $p > 0,05; p_1 < 0,05$
Щека, нкат/кг	20 ± 2	28 ± 3 $p < 0,05$	21 ± 2 $p > 0,3; p_1 < 0,05$
Десна, нкат/кг	20 ± 1	33 ± 2 $p < 0,01$	23 ± 2 $p > 0,1; p_1 < 0,05$

Примечания: см. табл. 1.

Из таблицы 2 видно, что после АХБТ во всех исследованных тканях достоверно возрастает уровень второго маркера воспаления – активность эластазы, которое достоверно во всех тканях снижается (вплоть до нормы) после аппликаций геля

«Квертулидон».

Эти данные свидетельствуют о высокой противовоспалительной эффективности оральных аппликаций антидисбиотического препарата «Квертулидон».

В таблице 3 представлены результаты определения биохимического маркера микробного обсеменения – активности уреазы. Из этих данных видно, что после АХБТ наблюдается повышение активности уреазы на 17,6 – 134%, а в сыворотке крови даже в 6,5 раз. Оральные аппликации геля «Квертулидон» снижают активность уреазы на 11-39%, что свидетельствует об антимикробном действии квертулидона.

Таблица 3

Влияние оральных аппликаций геля «Квертулидон» на активность уреазы в тканях крыс, получавших АХБТ ($M \pm m$, $n=10$)

Ткани	Группы		
	Контроль	АХБТ	АХБТ+Квертулидон
Сыворотка крови, нкат/л	$0,20 \pm 0,01$	$1,30 \pm 0,01$ $p < 0,001$	$1,20 \pm 0,02$ $p < 0,001; p_1 < 0,05$
Печень, нкат/кг	210 ± 20	320 ± 20 $p < 0,05$	240 ± 20 $p > 0,3; p_1 < 0,05$
Желудок, нкат/кг	106 ± 11	248 ± 15 $p < 0,01$	151 ± 18 $p < 0,05; p_1 < 0,01$
Щека, нкат/кг	418 ± 42	648 ± 43 $p < 0,01$	567 ± 32 $p < 0,05; p_1 > 0,05$
Десна, нкат/кг	323 ± 23	380 ± 29 $p > 0,05$	339 ± 24 $p > 0,3; p_1 > 0,05$

Примечания: см. табл. 1.

В таблице 4 показаны результаты определения активности лизоцима, из которых видно, что во всех тканях после АХБТ достоверно снижается активность этого маркера неспецифического иммунитета (на 18-53%). Оральные аппликации геля «Квертулидон» повышают активность лизоцима на 20-58%, что свидетельствует о наличии иммуностимулирующих свойств у этого препарата.

Результаты определения степени дисбиоза в тканях крыс, получавших АХБТ, представлены в таблице 5, из которой видно, что во всех исследованных тканях степень дисбиоза возрастает в 2,5-5 раз, что еще раз свидетельствует о продисбиотическом действии АХБТ. Оральные аппликации геля в 1,4-1,8 раза снижают степень дисбиоза, особенно в слизистой желудка.

Таблица 4

Влияние оральных аппликаций геля «Квертулидон» на активность лизоцима в тканях крыс, получавших АХБТ ($M \pm m$, $n=10$)

Ткани	Группы		
	Контроль	АХБТ	АХБТ+Квертулидон
Сыворотка крови, ед/л	131 ± 8	107 ± 4 $p < 0,05$	126 ± 4 $p > 0,3; p_1 < 0,05$
Печень, ед/кг	104 ± 12	41 ± 8 $p < 0,01$	53 ± 9 $p < 0,05; p_1 > 0,3$
Желудок, ед/кг	39 ± 7	19 ± 2 $p < 0,01$	30 ± 5 $p > 0,1; p_1 < 0,05$
Щека, ед/кг	300 ± 40	140 ± 40 $p < 0,05$	240 ± 50 $p > 0,3; p_1 > 0,05$
Десна, ед/кг	151 ± 11	103 ± 10 $p < 0,05$	124 ± 11 $p > 0,05; p_1 > 0,05$

Примечания: см. табл. 1.

Результаты определения степени дисбиоза в тканях крыс, получавших АХБТ, представлены в таблице 5, из которой видно, что во всех исследованных тканях степень дисбиоза возрастает в 2,5-5 раз, что еще раз свидетельствует о продисбиотическом действии АХБТ. Оральные аппликации геля в 1,4-1,8 раза снижают степень дисбиоза, особенно в слизистой желудка.

Таблица 5

Влияние оральных аппликаций геля «Квертулидон» на степень дисбиоза в тканях крыс, получавших АХБТ ($M \pm m$, $n=10$)

Ткани	Группы		
	Контроль	АХБТ	АХБТ+Квертулидон
Сыворотка крови	1,00 ± 0,10	4,01 ± 0,41 $p < 0,01$	1,50 ± 0,19 $p < 0,05; p_1 < 0,01$
Печень	1,00 ± 0,15	3,87 ± 0,35 $p < 0,01$	2,23 ± 0,24 $p < 0,05; p_1 < 0,05$
Желудок	1,00 ± 0,15	5,10 ± 0,78 $p < 0,01$	1,35 ± 0,20 $p > 0,05; p_1 < 0,01$
Щека	1,00 ± 0,25	3,39 ± 0,22 $p < 0,001$	1,59 ± 0,19 $p < 0,05; p_1 < 0,01$
Десна	1,00 ± 0,15	2,51 ± 0,33 $p < 0,05$	1,85 ± 0,24 $p < 0,05; p_1 > 0,05$

Примечания: см. табл. 1.

Таким образом, полученные нами данные еще раз подтверждают результаты ранее

проведенных исследований, свидетельствующих о развитии дисбиоза и воспаления после АХБТ, причем эти осложнения носят генерализованный характер.

Проведенные исследования влияния комплексного антидисбиотического средства «Квертулидон» показали его способность оказывать иммуностимулирующее, антидисбиотическое и противовоспалительное действие, тем самым давая основания рекомендовать его применение для профилактики осложнений после АХБТ.

Выводы

1. Антихеликобактерная терапия вызывает развитие иммунодефицита, дисбиоза и системного воспаления.

2. Оральные аппликации геля «Квертулидон», содержащего имудон, кверцетин, инулин и цитрат кальция, оказывают профилактический эффект за счет снижения иммунодефицита и степени дисбиоза.

Литература

1. Pattison C. Ph. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease: evolution to revolution to resolution / C. Ph. Pattison, M. F. Combs, B. F. Marshall // *American Journal of Roentgenology*. – 1997. – No 168 (6). – P. 1415-1420.

2. Барышникова Н. В. Актуальные проблемы диагностики хеликобактериоза / Н. В. Барышникова // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. – 2009. - № 2. – С. 50-56.

3. Цодиков Г. В. Достижения и перспектива изучения *Helicobacter pylori*-инфекции / Г. В. Цодиков, А. М. Зякун, Е. В. Климова // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2011. – № 2. – С. 46-49.

4. Неньковський С. Порівняльна ефективність основних схем антихелікобактерної терапії у дітей / С. Неньковський, О. Івахненко // *Ліки України*. – 2004. - № 11. – С. 75-78.

5. Сравнительная эффективность схем эрадикационной терапии / А. С. Свиницкий, Г. А. Соловьева, Е. Г. Курик [и др.] // *Сучасна гастроентерологія*. – 2015. – № 2 (82). – С. 7-14.

6. Циммерман Я. С. *Helicobacter pylori*-инфекция: внежелудочные эффекты и заболевания (критический анализ) / Я. С. Циммерман // *Клиническая медицина*. – 2006. – № 4. – С. 63-67.

7. Исаева Г. Ш. Возможное участие бактерий рода *Helicobacter* в патогенезе гепатобилиарных заболеваний / Г. Ш. Исаева // *Российский журнал гастроэнтерологии,*

гепатологии, колопроктологии. – 2008. – № 4. – С. 14-22.

8. Сысоев Н. П. Оценка эффективности местной иммунокорректирующей терапии препаратом имудон в комплексном лечении заболеваний пародонта у детей с ревматоидным артритом / Н. П. Сысоев, Н. Н. Каладзе // Современная стоматология. – 2004. – № 1 (25). – С. 60-62.

9. Особенности эффективности «Имудона» у больных хроническим генерализованным пародонтитом в зависимости от тонзиллярной патологии / Л. Ф. Азнабаева, Н. А. Арефьева, Т. С. Чемикосова [и др.] // Пародонтология. – 2008. – № 2. – С. 20-25.

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

11. Биофлаваноиды как органопротекторы (кверцетин, корвитин, квертин) / Н. П. Максютин, А. А. Мойбенко, Н. А. Мохорт [и др.]. – К. : Наукова думка, 2012. – 274 с.

12. Лечебное действие антидисбиотического препарата «Квертулидон» на состояние тканей полости рта крыс при антихеликобактерной терапии / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.] // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2015. – № 2 (40). – С. 137-145.

13. Базарнова М. А. Клиническое исследование крови / М. А. Базарнова, Т. Л. Сакун. – Київ : Вища школа, 1982. – Ч. 2. – С. 35-52.

14. Гаркави Л. Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Гаркави Л. Х., Квакина Е. Б. – Ростов н/Д : Изд-во Ростовского университета, 1990. – 224с.

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

16. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии : под ред. Орехович В. Н. – Москва, 1977. – С. 66-68.

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

18. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – Киев : ГФЦ МЗУ, 2007. – 22 с.

19. Пат. 43140 Україна, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу

(дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Деньга О. В., Селіванська І. О. [та ін.]. - № u200815092; заявл. 26.12.2008; опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.

20. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ «STATISTICA» / О. Ю. Реброва – М. : МедиаСфера. – 2002.

References

1. Pattison C. Ph., Combs M. F., Marshall B. F. Helicobacter pylori and peptic ulcer disease: evolution to revolution to resolution. American Journal of Poentgenology. 1997; 168 (6): 1415-1420.
2. Baryshnikova N. V. Actual problems of helicobacteriosis diagnosis. Experimental and clinical gastroenterology. 2009; 2: 50-56.
3. Tsodikov G. V., Zyakun A. M., Klimova E. V. Achievements and perspectives of studying Helicobacter pylori-infection. Epidemiology and Infectious Diseases. 2011; 2: 46-49.
4. Nenkovsky S., Ivakhnenko A. Comparative efficacy of major schemes of Helicobacter therapy in children. Medicines Ukraine. 2004; 11: 75-78.
5. Svintsitsky A. S., Solovyov G. A., Couric E. G. [et al.]. Comparative efficacy of schemes of eradication therapy. Modern Gastroenterology. 2015; 2 (82): 7-14.
6. Zimmerman Y. S. Helicobacter pylori-infection: no stomach effects and disease (critical analysis). Clinical Medicine. 2006; 4: 63-67.
7. Isayeva G. Sh. Possible involvement of bacteria of the Helicobacter genus in the pathogenesis of hepatobiliary diseases. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2008; 4: 14-22.
8. Sysoev N. P., Kaladze N. N. Evaluation of local the immunocorrective therapy using imudon drug in treatment of periodontal disease in children with rheumatoid arthritis. Modern dentistry. 2004; 1 (25): 60-62.
9. Aznabaeva L. F. , Aref'eva N. A., Chemikosova T. S. [et al.]. Particular effectiveness of "Imudon" in patients with chronic generalized periodontitis, depending on the tonsillitis pathology. Periodontology. 2008; 2: 20-25.
10. Levitsky A. P., Volyanskiy Y. L., Skidan K. V. Prebiotiki i problema disbakterioza [Prebiotics and problems of dysbiosis]. Kharkiv, EDENA, 2008: 100.
11. Maksyutina N. P., Moybenko A. A., Mokhort N. A. [et al.]. Bioflavanoidy kak organoprotektory (kvertsetin, korvitin, kvertin) [Bioflavonoids such as antioxidants (quercetin, corvutin, quertin)]. – К., Naukova Dumka, 2012: 274.

12. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. The therapeutic effect of the antidysbiotic drug "Quertulidon" on the state of the oral tissues of rats at anti-H. pylori therapy. Actual problems of transport medicine. 2015; 2 (40): 137-145.
13. Bazarnova M. A., Sakun T. L. Klinicheskoe issledovanie krovi [Clinical study of blood]. – Kiev, High School, 1982,- Part 2: 35-52.
14. Garkavi L. H., Kvakina E. B. Adaptatsionnye reaktsii i rezistentnost' organizma [Adaptable reactions and resistance of the body]. – Rostov, Rostov University, 1990: 224.
15. 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.
16. Stalnaya I. D., Garishvili T. G. Method for determination of malondialdehyde using thiobarbituric acid. – Modern methods in biochemistry: ed. Orekhovich V. N. – Moscow, 1977: 66-68.
17. Levitsky A. P., Stefanov A. V. Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov: metodicheskie rekomendatsii [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. Kiev, GFK, 2002: 15.
18. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. Fermentativnyy metod opredeleniya disbioza polosti rta dlya skringa pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendatsii [Enzymatic methods for determination of oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics: method guidelines]. Kiev, GFC, 2007: 22.
19. 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.
20. Rebrova O. Yu. Statisticheskiy analiz meditsynskikh dannykh. Primeneniye paketa prikladnykh program «Statistika» [Statistical analysis of medical data. Application of the software package «Statistics»]. Moskva, Media Sfera, 2002.