

А.М. Манько, Т.В. Берегова, К.С. Непорада, Д.С.Янковський

Вплив мультипробіотика симбітеру ацидофільного на патологічні зміни у кістковій тканині пародонта при гіпоацидності

На моделі омепразоліндукованого гіпоацидитету обґрунтовано експериментальну корекцію патологічних змін у кістковій тканині пародонта мультипробіотиком симбітером. Доведено, що його використання в умовах тривалої гіпоацидності шлункового соку сприяє попередженню катаболізму колагенових і неколагенових білків органічного матриксу кісток нижніх щелеп і нормалізації NO-ергічної системи.

Ключові слова: пародонт, омепразол, гіпоацидність, протеоглікани, глікопротеїди, оксипролін, NO-ергічна система, симбітер ацидофільний.

ВСТУП

Кислотозалежні захворювання верхніх відділів шлунково-кишкового тракту (ШКТ) займають лідируючі позиції в структурі гастроентерологічної патології та зустрічаються в усіх вікових категоріях населення. Їх поширеність із кожним роком зростає, зокрема в нашій країні. У терапії виразкової хвороби, функціональної диспепсії, гастроєзофагальної рефлюксної хвороби широко застосовують інгібітори протонної помпи (ІПП), наприклад омепразол, лансопрозол. Наслідком тривалого застосування таких препаратів є розвиток гіпоацидитету, що призводить до дисбіозу мікробіоти ШКТ, у тому числі ротової порожнини [16].

Для корекції дисбіозу ротової порожнини при тривалому застосуванні омепразолу в комплексному лікуванні кислотозалежних захворювань органів системи травлення ми застосовували пробіотик, який не тільки коригує порушення мікроекології ШКТ, а й позитивно впливає на імунну та ендокринні системи організму [11].

Мультипробіотик останнього покоління симбітер ацидофільний являє собою мутуа-

лістичний симбіоз 14 штамів пробіотичних бактерій (біфідобактерій, лактобацил, лактококів та пропіоновокислих бактерій) з високою концентрацією життєдіяльних клітин, має важливі фізіологічні та пробіотичні властивості. Він не потребує додаткової активації, а починає проявляти свою дію одразу з ротової порожнини, оскільки це жива біомаса клітин, а не ліофілізат, в якому мікроорганізми знаходяться в анабіозі. Згідно з сучасним уявленням, механізм позитивної дії пробіотика зоснований на багатоманітності властивостей індигенної мікрофлори та передбачає його здатність активно пригнічувати життєдіяльність патогенної та умовно-патогенної мікрофлори, укріплювати бар'єрну функцію слизових оболонок, активувати природну мікробіоту, позитивно впливати на її метаболічну активність, стимулювати імунну систему, брати участь у покращенні травної функції, проявляти антагоністичну, антитоксичну, антимуtagenну та антиоксидантну дію [3].

Метою нашого дослідження було вивчення впливу мультипробіотика симбітеру ацидофільного на кісткову тканину пародонта за умов довготривалого введення омепразолу.

© А.М. Манько, Т.В. Берегова, К.С. Непорада, Д.С.Янковський

МЕТОДИКА

Досліди виконані на щурах-самцях (71 тварина) лінії Вістар масою 180–250 г з дотриманням рекомендацій щодо проведення медико-біологічних досліджень згідно з Європейською конвенцією. Тваринам протягом 7, 14, 21 та 28 діб внутрішньоочередово вводили омепразол (“Sigma”, США) в дозі 14 мг/кг і мультипробіотик симбітер ацидофільний (“О.Д. Пролісок”, Україна), який вводили перорально в дозі 0,14 мл/кг окремо та в поєднанні. Контрольним тваринам упродовж цього часу вводили 0,2 мл води для ін’єкцій. Евтаназію тварин здійснювали під уретановим наркозом через кровопускання. Об’єктами дослідження були кісткова тканина пародонта, в гомогенаті якої визначали вміст вільного оксипроліну [8], фукози [10], глікозаміногліканів (ГАГ) [9], активність NO-синтази (NOS, КФ: 1.14.13.39) [14], вміст нітрит-аніонів [14] і кров тварин. Після завершення експерименту визначали концентрацію гастрину в плазмі крові радіоімунологічним методом із використанням аналітичного набору фірми “MP Biomedicals, LLC” (США). Отримані результати проаналізовані із використанням методів варіаційної статистики.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Нами встановлено, що вміст гастрину в плазмі крові щурів контрольної групи на 28-му добу експерименту становив 59,0 пг/мл \pm 35,5 пг/мл, у дослідних тварин – 170,7 пг/мл \pm 90,7 пг/мл. Отже, за умов тривалого введення ІПП спостерігається гіпергастринемія, яка є наслідком розвитку гіпоацидності шлункового соку.

Оксид азоту є важливим регулятором внутрішньо- та міжклітинних процесів у живих організмах [13]. Для дослідження NO-ергічної системи тканин пародонта щурів за умов омепразол-індукованої гіпергастринемії визначали активність NOS та вміст NO_2^- , який є кінцевим продуктом

обміну NO. Під впливом імуногенних і прозапальних стимулів (ендотоксини, бактеріальні ліпополісахариди (ЛПС) тощо активується експресія гена, що відповідає за синтез індукцибельної NO-синтази – концентрація NO, збільшена в тисячу разів виявляє сильну пошкоджувальну дію на патогенні мікроорганізми, здійснюючи захисну функцію в організмі людини [4]. ЛПС мають виражений пірогенний ефект, у великих дозах викликають некроз тканин макроорганізму та сильну інтоксикацію [12].

Для вивчення експериментальної ефективності використання пробіотиків, щоб відновити нормальну мікрофлору ротової порожнини за умов тривалого застосування омепразолу було обрано мультипробіотик симбітер ацидофільний, основною відмінністю якого від бактеріотерапевтичних засобів попередніх поколінь є наближення його складу та властивостей до природних мікробіоценозів відкритих біологічних систем людини і тварин, які відрізняються полікомпонентністю, широким спектром біологічних активностей та мутуалістичними міжпопуляційними відносинами [2].

Аналізуючи NO-ергічну систему твердих тканин пародонта прослідковується тенденція до зростання активності NOS та вмісту NO_2^- на 7-му та 28-му добу експерименту у щурів з корекцією порівняно зі щурами без корекції. На 7-му добу введення омепразолу активність NOS знижується у 2,52 рази ($P < 0,05$) в кістковій тканині пародонта щурів порівняно з контролем, що призводить до вазоконстрикції. При 28-добовому введенні симбітеру ацидофільного активність NOS підвищується в 1,23 рази в кістковій тканині пародонта, а вміст нітритів – у 1,58 рази порівняно зі тваринами, яким протягом цього часу вводили лише ІПП (табл. 1). Це свідчить про нормалізацію кровотоку та місцевих регуляторних процесів у кістковій тканині пародонта внаслідок нормалізації NO-ергічної системи при корекції мультипробіотиком.

Застосування ІПП у високих дозах

Таблиця 1. Активність NO-синтази та вміст NO₂⁻ в твердих тканинах пародонта щурів за умов тривалого використання інгібіторів протонної помпи та корекції симбітером ацидофільним (M±m)

Групи тварин	Активність NO-синтази, нмоль [NO ₂ ⁻]/г·хв	Вміст NO ₂ ⁻ , ммоль/г
Контроль (n=12)	0,154 ± 0,012	0,058 ± 0,006
Введення омепразолу протягом		
7 діб (n=5)	0,061 ± 0,006*	0,100 ± 0,015
14 діб (n=5)	0,130 ± 0,019	0,112 ± 0,029
21 доби (n=5)	0,265 ± 0,019	0,228 ± 0,055
28 діб (n=17)	0,174 ± 0,018	0,069 ± 0,005
Введення омепразолу та симбітеру протягом		
7 діб (n=5)	0,085 ± 0,024	0,143 ± 0,021
14 діб (n=5)	0,106 ± 0,023	0,102 ± 0,012
21 доби (n=5)	0,162 ± 0,028	0,222 ± 0,034*
28 діб (n=8)	0,181 ± 0,024	0,144 ± 0,015
Введення симбітеру протягом 28 діб (n=4)	0,217 ± 0,033**	0,109 ± 0,020**

Примітка. Тут і в табл. 2 * P<0,05 порівняно з контролем, ** P<0,05 порівняно з тваринами без корекції.

протягом тривалого періоду підвищує ризик переломів стегна. Омепразол не впливає на кількість остеокластів, а сприяє їхній проліферації та активує кислотопродукуючу функцію цих клітин, сприяючи резорбції кісткової тканини [15]. Таким чином, збільшується продукція остеокластами протонів водню, лактату та гідролітичних ферментів, які викликають руйнування органічного матриксу кісткової тканини [7].

Відомо, що в процесах мінералізації кісткової тканини важливу роль відіграє органічний матрикс, 5 % якого становлять неколагенові білки, зокрема глікопротеїни та протеоглікани [5, 6]. Для оцінки змін орга-

нічної фази кісткової тканини пародонта при тривалому гіпоацидитеті досліджували вміст фукози, яка є мономером глікопротеїдів, а також ГАГ – компонентів протеогліканів.

Нами встановлено, що у твердих тканинах пародонта щурів протягом усього періоду досліджень введення омепразолу вміст вільної фукози та ГАГ достовірно збільшувалися порівняно з контролем, найбільше – на 21-шу добу – у 3,41 та в 1,54 раза відповідно (P<0,05). За умов корекції вміст цих речовин достовірно знижувався із максимально вираженою позитивною динамікою на 21-шу добу експерименту. З табл. 2 видно, що у

Таблиця 2. Вміст глікозаміногліканів (ГАГ) та фукози в твердих тканинах пародонта щурів за умов тривалого використання інгібіторів протонної помпи та корекції симбітером ацидофільним (M±m)

Групи тварин	Вміст ГАГ, мкмоль/г	Вміст фукози, мкмоль/г
Контроль (n=12)	0,337 ± 0,013	1,136 ± 0,115
Введення омепразолу протягом		
7 діб (n=5)	0,389 ± 0,012*	3,012 ± 0,433*
14 діб (n=5)	0,407 ± 0,014*	3,227 ± 0,567*
21 доби (n=5)	0,519 ± 0,010*	3,873 ± 0,366*
28 діб (n=17)	0,468 ± 0,011*	2,932 ± 0,214*
Введення омепразолу та симбітеру протягом		
7 діб (n=5)	0,317 ± 0,013	1,148 ± 0,366
14 діб (n=5)	0,351 ± 0,010	1,578 ± 0,268
21 доби (n=5)	0,361 ± 0,014**	1,363 ± 0,134**
28 діб (n=8)	0,358 ± 0,020	1,659 ± 0,214
Введення симбітеру протягом 28 діб (n=4)	0,284 ± 0,016*	0,448 ± 0,090*

тканинах пародонта тварин, яким вводили симбітер ацидофільний вміст фукози та ГАГ вірогідно зменшився в 2,54 та 1,19 раза відповідно порівняно зі щурами контрольної групи. Отже, введення щурам цього мультипробиотика за умов омепразоліндукованого гіпоацидитету запобігає деполімеризації фукопротеїдів і протеогліканів в кістковій тканині пародонта.

Контроль (n=12)	3,790 ± 0,150
Введення омепразолу протягом	
7 діб (n=5)	5,734 ± 0,414
14 діб (n=5)	6,231 ± 0,194
21 доби (n=5)	4,834 ± 0,343
28 діб (n=17)	5,303 ± 0,200
Введення омепразолу та симбітеру протягом	
7 діб (n=5)	4,521 ± 0,131
14 діб (n=5)	5,551 ± 0,251
21 доби (n=5)	4,374 ± 0,155
28 діб (n=8)	4,700 ± 0,182
Введення симбітеру протягом 28 діб (n=4)	3,171 ± 0,161

При введенні омепразолу у кістковій тканині пародонта спостерігається збільшення вмісту вільного оксипроліну порівняно з контрольною групою тварин: на 14-ту добу в 1,64 раза ($P < 0,05$), на 28-му добу – в 1,4 раза ($P < 0,05$). А у тварин, яким вводили симбітер ацидофільний протягом цього часу він достовірно знизився в 1,67 раза порівняно з щурами без корекції ($P < 0,05$). Гіпоацидитет сприяє активації колагенлізу нижньощелепних кісток пародонта, який позитивно коригується застосуванням мультипробиотика симбітеру ацидофільного.

Таким чином, експериментальна ефективність пробіотикотерапії за умов тривалого гіпоацидитету доведена на підставі нормалізації ендотеліальної дисфункції та пригнічення підвищеного катаболізму органічного матриксу кісткової тканини пародонта, що підтверджується зниженням вмісту мономерів колагенових і неколагенових білків.

Колаген є основним білком кісткової тканини пародонта, який катаболізується за участю специфічних металоматричних протеїназ. Оксипролін–маркер катаболізму колагену [1].

Вміст вільного оксипроліну (мкмоль/г) у твердих тканинах пародонта за умов тривалого використання ІПП та корекції симбітером був таким:

А.М. Манько, Т.В. Береговая, К.С. Непорада, Д.С. Янковский

ВЛИЯНИЕ МУЛЬТИПРОБИОТИКА СИМБИТЕРА АЦИДОФИЛЬНОГО НА ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В КОСТНОЙ ТКАНИ ПАРОДОНТА ПРИ ГИПОАЦИДНОСТИ

На модели омепразолиндуцированного гипацидита обоснована экспериментальная коррекция патологических изменений в костной ткани пародонта мультипробиотиком симбитером. Доказано, что его использование в условиях длительной гипацидности желудочного сока способствует предупреждению катаболизма коллагеновых и неколагеновых белков органического матрикса нижнечелюстных костей и нормализации NO-эргической системы. Ключевые слова: пародонт, омепразол, гипацидность, протеогликаны, гликопротеиды, оксипролин, NO-эргическая система, симбитер ацидофильный.

A.M. Manko, T.V. Beregova, K.S. Neporada, D.S. Yankovsky

THE INFLUENCE OF SYMBITER, AN ACIDOPHILIC MULTIPROBIOTIC, ON PATHOLOGICAL CHANGES IN BONE PERIODONTAL TISSUE UNDER HYPOACIDITY

The omeprazole-induced hypoacidity leads to metabolic dis-

orders in the bone periodontal tissue: a disbalance of NO-ergic system, activation of collagen and noncollagen proteins catabolism. We have shown that such disorders are corrected by a multiprobiotic of new generation - symbiter acidophilic. Key words: periodontium, omeprazole, hypoacidity, proteoglycans, glycoproteids, oxyproline, NO-ergic system, symbiter acidophilic.

*Ukrainian Medical Dental Academia, Poltava;
Scientific Production Company "O.O.Prolisok", Kyiv;
Petro Bohach Institute, Department of Biology Faculty,
National Taras Shevchenko University, Kyiv*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Аскерова Т.А., Юсифова Н.А., Гасанова Г.Т. Диагностическая значимость определения свободного оксипролина при наследственных и приобретенных коллагенозах // Клин. лаб. диагностика. – 2009. – №9. – С. 15–17.
2. Бережной В.В., Крамарев С.А. Микроэкологические нарушения у детей и современные возможности повышения эффективности их коррекции // Здоровье женщины. – 2002. – №4 (12). – С. 79–92.
3. Лукьянова Е.М., Антипкин Ю.Г., Янковский Д.С., Дымент Г.С. Перспективы использования пробиотиков в педиатрии // Сучасні аспекти застосування пробіотиків в педіатрії: зб. праць сателітного симпоз., 28 травня 2008: матеріали доп. – К., 2009. – С. 4–21.
4. Мешишен И.Ф. Пішак В.П., Григор'єва Н.П. Біомолекули: структура та функції. – Чернівці: Медик, 1999. – 149 с.
5. Минченко Б.И., Беневоленский Д.С., Тишенина Р.С. Биохимические показатели метаболических нарушений в костной ткани // Клин. лаб. диагностика. – 1999. – Ч. 1: Резорбция кости, №1. – С. 8–15.
6. Минченко Б.И., Беневоленский Д.С., Тишенина Р.С. Биохимические показатели метаболических нарушений в костной ткани // Там же. – Ч. 2: Образование кости, №4. – С. 11–17.
7. Поворознюк В.В., Мазур И.П. Костная система и заболевания пародонта. – К.: Экспрес, 2004. – 446 с.
8. Тетянець С.С. Метод определения свободного оксипролина в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1985. – №1. – С. 61–62.
9. Шараев П.Н. Метод определения гликозаминогликанов в биологических жидкостях // Там же. – 1987. – №5. – С. 530–532.
10. Шараев П.Н., Стрелков Н.С., Кильдиярова Р.Р. Метод определения фукозы, несвязанной с белками // Клин. лаб. диагностика. – 1997. – №4. – С. 17–18.
11. Янковский Д.С. Микробная экология человека. Современные возможности ее поддержания и восстановления. – К.: Эксперт ЛТД, 2005. – 362 с.
12. Branderburg K., Andri J., Miller M. Physico-chemical properties of bacterial glycopolymers in relation to bioactivity // Carbohydr. Res. – 2033. – №338. – P. 2477–2489.
13. Garthwaite J. Nitric oxide from L-arginine: a bioregulatory system. – Amsterdam: Excerpta medica, 1990. – P. 138–155.
14. Hevel I.M. Purification of the inducible murene macrophage nitric oxide synthase // J. Biol. Chem. – 1991. – 266. – №34. – P.22789–22791.
15. Hyun J.J., Kim E.S., Kim H.S., Jung W.W. PPI, is a friend or a foe to the osteoclasts // Gut. – 2009. – 58. – Suppl. II. – P0837.
16. Olbe L., Cederberg C., Lind T., Olausson M. Effect of omeprazole on gastric acid secretion and plasma gastrin in man // Scand J. Gastroenterol., 1989. – 27 (suppl.166) – P. 27–32.

*ВДНЗ України "Укр. мед. стомат. академія", Полтава;
Наук.-вироб. об'єднання "О.Д. Пролісок";
Наук.-досл. ін-т ім. Петра Богача біол. факультету Київ.
нац. ун-ту ім. Тараса Шевченка
E-mail: tanko_ann@mail.ru*

*Матеріал надійшов до
редакції 03.08.2010*