

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
СУСПЕНЗИИ СИНБИОТИКА И ГЕЛЯ ДЛЯ ДЕСЕН, МОДИФИЦИРОВАННОГО
ПРОБИОТИКОМ НА БЕЛЫХ КРЫСАХ

Н.В. ЧИРКОВА, Ж.В. ВЕЧЕРКИНА, Е.А. АНДРЕЕВА, А.А. ПЛУТАХИНА

ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет имени Н.Н. Бурденко»
Министерства здравоохранения РФ, ул. Студенческая, д. 10, г. Воронеж, 394036, Россия

Аннотация. Введение. В структуре заболеваний пародонта преобладают хронический катаральный гингивит. Недостаточно регулярные профилактические мероприятия и обращения к врачу-пародонтологу с целью лечения заболеваний тканей пародонта отягощают течение заболевания, которое при отсутствии лечения прогрессирует. Доказано, что заболевания тканей пародонта развиваются в результате нарушения баланса между микробной флорой ротовой полости и иммунной защитой организма. На состав микрофлоры ротовой полости оказывает непосредственное влияние местный иммунитет ротовой полости, гигиена полости рта и особенности питания пациента. При заболеваниях тканей пародонта, вместо применения антибактериальных препаратов, возможно использование методик биотерапевтического действия, которые предполагают использование местного и системного действия синбиотиков, пробиотиков, фагов и других препаратов. **Цель исследования** – показать эффективность и целесообразность включения этих препаратов в терапию хронического катарального гингивита и увеличить степень приверженности пациентов к рекомендациям врача. **Материалы и методы исследования.** Выполнение токсикологического исследования проводили в НИИ ЭБМ ВГМУ им. Н.Н. Бурденко. Были использованы лабораторные половозрелые белые крысы линии *Wistar*, весом 200 ± 5 гр. – $n=40$, разделенные на 3 группы: 1-я – 15 шт., им нанесли резаную рану на слизистой оболочке внутренней части нижней губы длиной 0,5 см., рану не обрабатывали; 2-я – 10 шт., им наносили на рану гель «Асепта с прополисом», 3-я – 15 шт., им наносили на рану модифицированный гель и ежедневно внутривентриально вводили суспензию синбиотика «Бифистим». Проводили оценку течения раневого процесса на слизистой оболочке нижней губы и гистологическое исследование внутренних органов после внутривентриального введения суспензии синбиотика «Бифистим» и нанесения модифицированного геля в сравнительном аспекте с контрольной группой. Для проведения морфологических исследований применяли: изучение динамики заживления раны слизистой оболочки нижней губы с помощью обзорной микроскопии; использовали окрашивание гематоксилином и эозином, метод Маллори, комбинированный метод импрегнации серебром с толудиновым синим; для прицельного изучения морфофункционального состояния внутренних органов, помимо рутинных окрашиваний использовали ГОФП (гематоксисин – основной фуксин – пикриновая кислота) для оценки ишемических изменений миокарда; комбинированная методика ШИК-реакция и альциановый синий (рН 2,5) для изучения морфологических и функциональных особенностей тонкой кишки. **Результаты и их обсуждение.** При изучении препаратов печени было отмечено, что балочное строение печени сохранено и хорошо выражено. Отмечались хорошо выраженные порталы печени, а строение гепатоцитов изучаемого органа соответствовало полигональной форме. Отсутствовали митотически делящиеся клетки, камбиальные зоны печени имели хорошее развитие, при анализе было выявлено значительное количество двуядерных гепатоцитов, что соответствует норме. Микроскопическое строение коркового и мозгового вещества правой и левой почек соответствовало нормальному строению. на 7 сутки эксперимента наблюдали участок глубокого раневого дефекта, некроз ткани, отек, полнокровие и выраженную воспалительную инфильтрацию с примесью нейтрофилов. На 14 сутки после начала эксперимента во всех группах наблюдали регенераторные процессы. Наиболее быстро процессы заживления раны протекали в 3-й группе, где применяли лечение раны слизистой оболочки нижней губы с помощью модифицированного геля и ежедневного внутривентриального введения объемом 500 г/кг суспензии синбиотика «Бифистим». **Заключение.** Данные исследования позволили сделать вывод о положительном влиянии использования пробиотических препаратов.

Ключевые слова: пробиотик, синбиотик, токсикологические исследования, хронический гингивит.

TOXICOLOGICAL EXPERIMENTAL STUDY OF THE USE OF SYNBIOTIC
SUSPENSION AND GINGIVE GEL MODIFIED WITH PROBIOTIC ON WHITE RATS

N.V. CHIRKOVA, Zh.V. VECHERKINA, E.A. ANDREEVA, A.A. PLUTAKHINA

Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko,
Studencheskaya Str., 10, Voronezh, 394036, Russia

Abstract. Introduction. A structure of periodontal diseases is dominated by chronic catarrhal gingivitis. Insufficiently regular preventive measures and visits to a periodontist to treat diseases of periodontal tissues aggravate the course of the disease, which progresses if left untreated. It has been proven that periodontal tissue

diseases develop as a result of an imbalance between the microbial flora of the oral cavity and the body's immune defenses. The composition of the microflora of the oral cavity is directly affected by the local immunity of the oral cavity, oral hygiene and the patient's nutritional habits. In diseases of periodontal tissues, instead of using antibacterial drugs, it is possible to use methods of biotherapeutic action, which involve the use of local and systemic action of synbiotics, probiotics, phage and other drugs. However, at present, the effectiveness and feasibility of including these drugs in the treatment of chronic catarrhal gingivitis are few and insufficiently studied, as well as studies conducted to increase the degree of patient adherence to doctor's recommendations. **The research purpose** is to show the effectiveness and expediency of including these drugs in the treatment of chronic catarrhal gingivitis and to increase the degree of adherence of patients to the doctor's recommendations. **Materials and research methods.** The toxicological study was carried out at the Research Institute of Voronezh State Medical University named after N.N. Burdenko. We used laboratory mature white rats of the Wistar line, weighing 200 ± 5 g. - $n=40$, divided into 3 groups: 1st - 15 pcs., they were inflicted with a cut wound on the mucous membrane of the inner part of the lower lip 0.5 cm long, the wound was not treated; 2nd group - 10 pcs., they were given Asepta with propolis gel on the wound, 3rd - 15 pcs., they were applied a modified gel to the wound and daily intragastrically injected a suspension of the synbiotic "Bifistim". **Results and its discussion.** We assessed the course of the wound process on the mucous membrane of the lower lip and histological examination of the internal organs after intragastric administration of the suspension of the synbiotic "Bifistim" and the application of the modified gel in a comparative aspect with the control group. For morphological studies, the following methods were used: study of the dynamics of wound healing of the mucous membrane of the lower lip using survey microscopy; used staining with hematoxylin and eosin, Mallory method, combined method of silver impregnation with toluidine blue; for a targeted study of the morphofunctional state of internal organs, in addition to routine staining, GOFP (hematoxylin - basic fuchsin - picric acid) was used to assess ischemic changes in the myocardium; combined method PAS-reaction and alcian blue (pH 2.5) to study the morphofunctional features of the small intestine. **Conclusion.** These studies led to the conclusion about the positive impact of the use of probiotic preparations.

Keywords: probiotic, synbiotic, toxicological studies, chronic gingivitis.

Актуальность. Заболевания тканей пародонта развиваются в результате нарушения баланса между микробной флорой ротовой полости и иммунной защитой организма [1, 5]. На состав микрофлоры ротовой полости оказывает непосредственное влияние местный иммунитет ротовой полости, гигиена полости рта и особенности питания пациента. В результате уменьшения количества нормальной микрофлоры, которая непосредственно влияет на метаболизм и противоинфекционную защиту организма пациента, происходит активация условно-патогенной флоры, появление патогенной микрофлоры и воспалительных изменений в тканях пародонта. В последние годы были выявлены формы заболеваний тканей пародонта, обусловленные результатом действия нетипичных инфекционных агентов: вирусов, грибов, резистентных к проведению терапии антибактериальными средствами. В настоящее время в современной терапевтической стоматологии в процессе лечения пациентов с хроническим катаральным гингивитом используются препараты антибактериального действия, которые негативно влияют на микробную флору полости рта и, как следствие, еще больше снижает местные факторы антибактериальной защиты [3, 7].

При заболеваниях тканей пародонта, вместо применения антибактериальных препаратов возможно использование методик биотерапевтического действия, которые предполагают использование местного и системного действия синбиотиков, пробиотиков, фагов и других препаратов [2, 6]. Однако, в настоящее время, эффективность и целесообразность включения этих препаратов в состав лечения хронического катарального гингивита малочисленны и недостаточно изучены, как и исследования, проводимые с целью увеличения степени приверженности пациентов к рекомендациям врача.

Материалы и методы исследования. Токсикологическое экспериментальное исследование проводили на базе НИИ ЭБМ ВГМУ им. Н.Н. Бурденко на 40 лабораторных половозрелых белых крысах линии *Wistar*, вес тела которых составлял 200 ± 5 г [4]. Животные были распределены на три группы: 1-я – 15 шт., им наносили резаную рану на слизистой оболочке внутренней части нижней губы длиной 0,5 см., рану не обрабатывали; 2-я – 10 шт., им наносили на рану гель «Асепта с прополисом», 3-я – 15 шт., им наносили на рану модифицированный гель и ежедневно внутривентриально вводили суспензию синбиотика «Бифистим». Работа одобрена Этическим комиссией ВГМУ им. Н.Н. Бурденко (протокол № 7 от 27 ноября 2017 г).

Изучали динамику течения раневого процесса, проводя осмотр нижней губы на этапах дифференцированного лечения. Через 7 и 14 суток после нанесения резаной раны – по 5 крыс из каждой группы выводили из эксперимента путем передозировки эфира. После забора материала и фиксации в 10% нейтральном забуференном формалине проводилась заливка в парафин согласно стандартной процедуре пробоподготовки и изготавливали гистологические микропрепараты. Также, через 7, 14 суток и через 1 месяц проводили морфологический анализ состояния внутренних органов животных 1-й и 3-й группы с

помощью обзорного окрашивания гематоксилином и эозином. Анализ структур внутренних органов особей (печени, левой и правой почек, легкого, селезенки, сердца и тонкого кишечника) проводили с использованием методик окрашивания гематоксилином и эозином, ГОФП, комбинированной методики ШИК-реакция и альциановый синий. Планиметрический анализ раневого участка слизистой оболочки нижней губы осуществлялся на поле зрения с использованием объектива $\times 20$.

Таблица 1

Объем экспериментальных исследований

Исследуемая группа	Методика	Названия исследований	Количество животных (n=40)
Группа контроля	под внутримышечным наркозом (золетил – 100 0,2 мл) наносили резаную рану на слизистой оболочке нижней губы длиной 0,5 см	гистологическое исследование биоматериала на месте раны через 7, 14 суток; изучение веса внутренних органов и их весовых коэффициентов, общий анализ крови, гистологическое исследование внутренних органов через 7, 14 суток и через 1 месяц	15
Группа 2	под внутримышечным наркозом (золетил – 100 0,2 мл) наносили резаную рану на слизистой оболочке нижней губы длиной 0,5 см; нанесение на рану – гель «Асепта с прополисом»	гистологическое исследование биоматериала на месте раны через 7, 14 суток	10
Группа 3	под внутримышечным наркозом (золетил – 100 0,2 мл) наносили резаную рану на слизистой оболочке нижней губы длиной 0,5 см; нанесение на рану – гель «Асепта с прополисом», модифицированный пробиотиком «Бифилиз»; ежедневное внутрижелудочное введение суспензии синбиотика «Бифистим»	гистологическое исследование биоматериала на месте раны через 7, 14 суток; изучение веса внутренних органов и их весовых коэффициентов, общий анализ крови, гистологическое исследование внутренних органов через 7, 14 суток и через 1 месяц	15

Для подсчетов при имеющейся возможности использовали 60 полей зрения на аппаратно-программном комплексе для биологических исследований с системой документирования исследовательского микроскопа *ZEISS Axio Imager.A2* (производитель – *Carl Zeiss Microscopy*, Германия). Изображения были документированы цветной камерой для светлопольной микроскопии *Camera AxioCam 506 color*.

Результаты и их обсуждение. Проведенный морфологический анализ ряда внутренних органов экспериментальных животных показал соответствие нормальному строению изучаемых органов во всех группах исследования.

Обзорная микроскопия препаратов печени показала структурированный баланс между паренхимой и стромой органа. В экспериментальных группах животных капсула печени была тонкая, а внутридольковая соединительная ткань обнаруживалась только в области вокруг сосудов с низким содержанием. При изучении препаратов печени было отмечено, что балочное строение печени сохранено и хорошо выражено. Отмечались хорошо выраженные портальные тракты печени, а строение гепатоцитов изучаемого органа соответствовало полигональной форме. Отсутствовали митотически делящиеся клетки, камбиальные зоны печени имели хорошее развитие, при анализе было выявлено значительное количество двуядерных гепатоцитов, что соответствует норме. Признаков воспаления, расширения синусоидов, дистрофии жировой ткани и холестаза обнаружено не было (рис. 1).

Микроскопическое строение коркового и мозгового вещества правой и левой почек соответствовало нормальному строению. Почечные тельца были представлены сосудистыми клубочками, расположенными между ними мезангиальными клетками, париетальным и висцеральным листками капсулы Шумлянско-Боумена и умеренно выраженным мочевым пространством. Проксимальные извитые каналы, выстланные однослойным кубическим эпителием имели хорошо различимую щеточную каемку. Между проксимальными каналами выявлялись в значительно меньшем количестве поперечные срезы

дистальных извитых канальцев. Строма коркового и мозгового вещества имела умеренное развитие, без признаков воспалительных явлений (рис. 2).

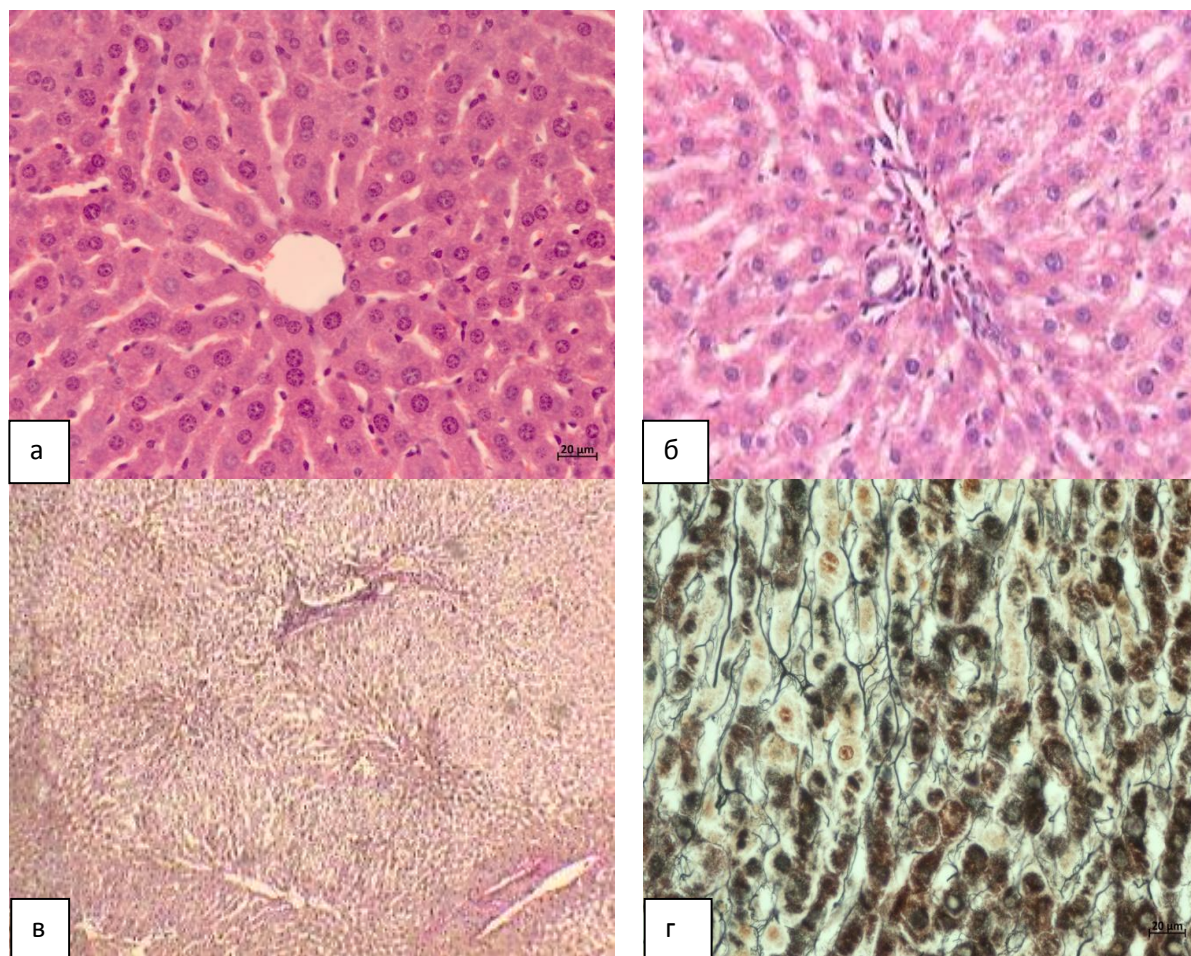


Рис. 1. Печень: окрашивание гематоксилином и эозином (а, б, в) и импрегнация серебром с выявлением ретикулярных волокон (г). Увеличение: а, б, г – $20\mu\text{m}$, в – $100\mu\text{m}$

Почечная лоханка слизистой оболочкой с переходным эпителием с разной толщиной, при этом токсическое поражение почек не фиксировали.

Исследование срезов стенки сердца визуализировало эндокард, выстланный уплощенными эндотелиоцитами, подэндотелиальный слой включал умеренно фуксинофильные коллагеновые волокна, миокард состоял из кардиомиоцитов с палочковидным базофильным ядром на фоне оксифильной цитоплазмы, образующих пучки, разделенные интерстицием. Эпикард был представлен тонкой соединительнотканной пластинкой, сращенной с миокардом и покрыт мезотелием. С использованием специальной методики окрашивания ГОФП участки ишемии не определялись, кардиомиоциты окрашивались с одинаковой интенсивностью в желтоватый цвет, ядра клеток – в темно-красный. Таким образом, изменений миокарда, воспалительных и дистрофических явлений отмечено не было (рис. 4).

Анализируя слизистую оболочку тонкой кишки крыс было фиксировано бархатистое строение рельефа за счет часто расположенных длинных ворсинок и умеренно углубленных крипт (рис. 5).

Строма ворсин не содержала воспалительного инфильтрата, пейеровы бляшки в подвздошном отделе кишки имели умеренно выраженный размер, соответствующий норме. Бокаловидные клетки располагались по всей длине ворсин, количественно увеличиваясь в области перехода в крипты. Функциональный состав бокаловидных клеток характеризовался умеренно наполненными слизью структурами.

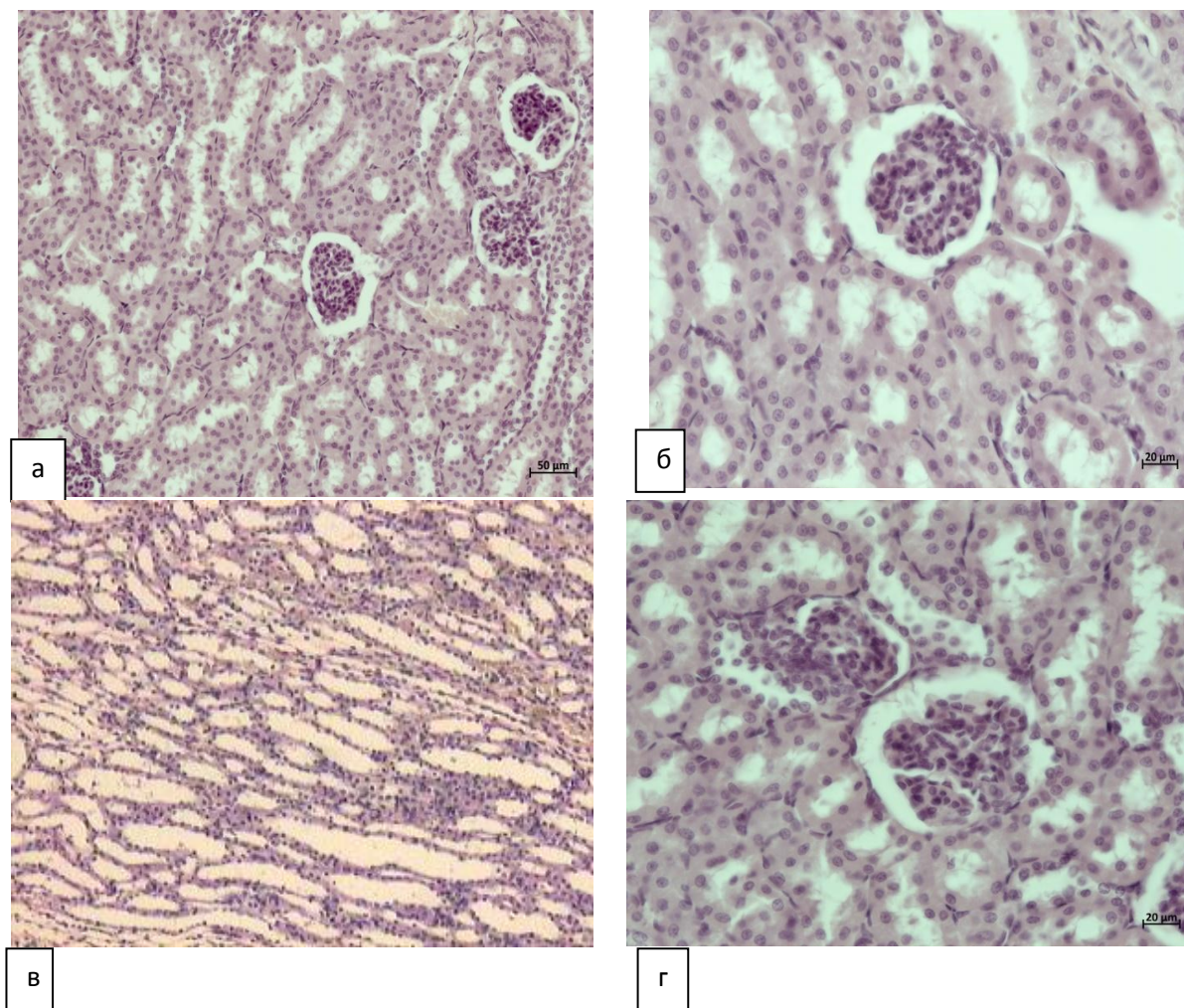


Рис. 2. Почка окрашивание: гематоксилином и эозином. Кортиковое (а, б, г) и мозговое вещество. Увеличение: а, в – 50 μm, б, г – 20 μm

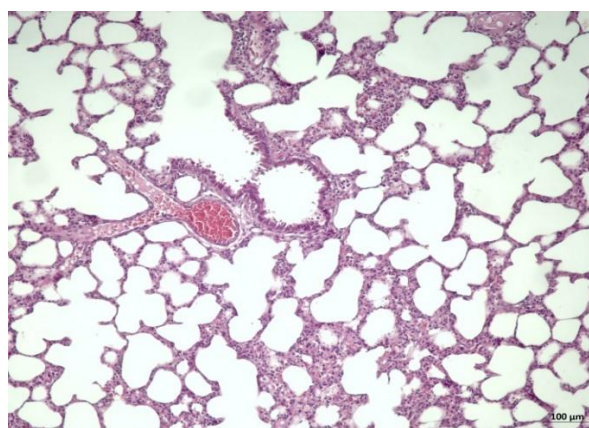


Рис. 3. Легкое окрашено с гематоксилином и эозином, увеличение 100 μm

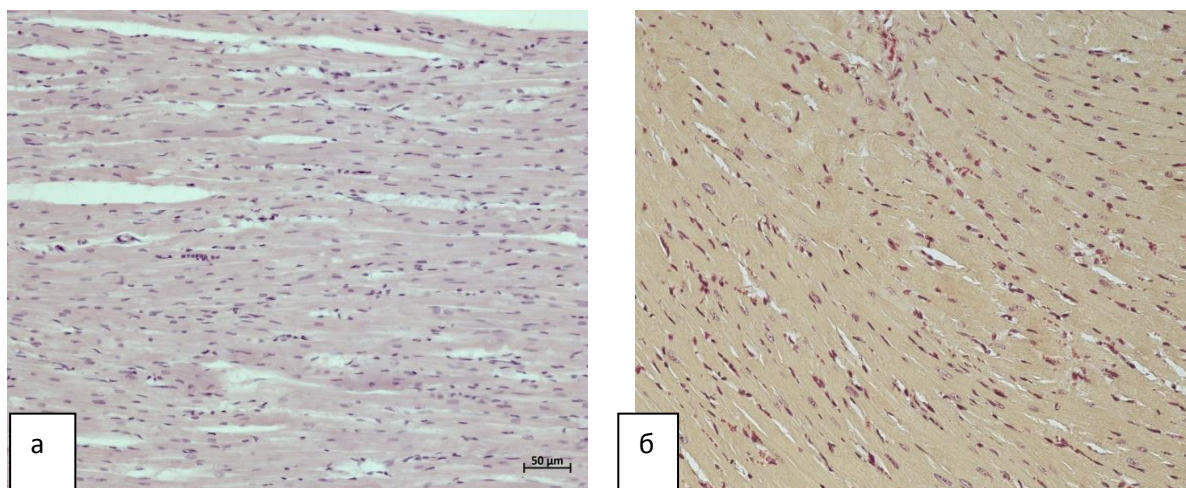


Рис. 4. Срез миокарда сердца крысы, окрашивание: а – гематоксилин и эозин, б – ГОФП. Увеличение – 50 µ

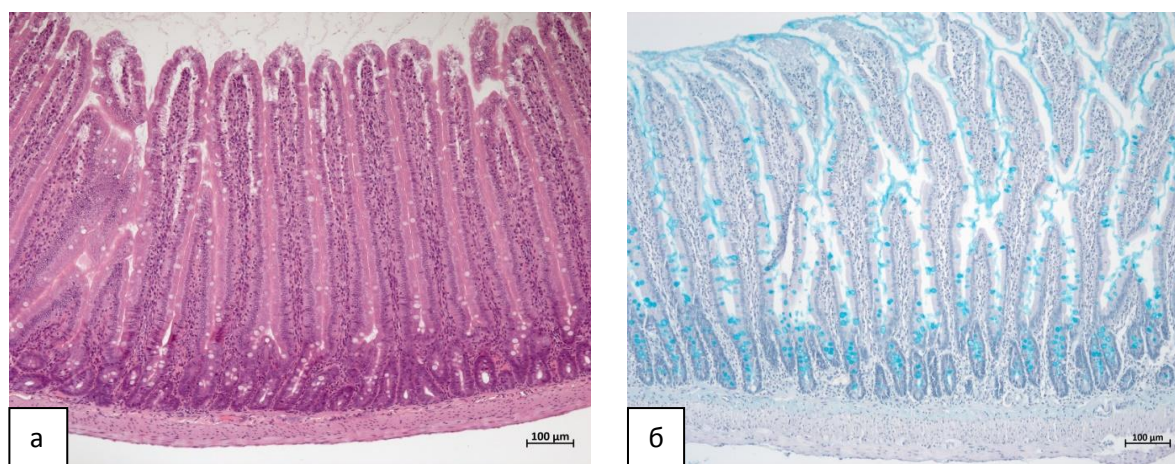


Рис. 5. Слизистая оболочка тонкой кишки крысы линии Wistar после введения суспензии синбиотика «Бифистим». а – методика гематоксилин и эозин; б – методика альциановый синий. Увеличение: а, б – 100 µm; в – 20 µm

Таким образом, гистологическое изучение строения внутренних органов экспериментальных животных, после введения суспензии синбиотика «Бифистим» свидетельствовало о том, что нарушений, которые бы указывали на развитие патологических процессов не было отмечено. Полученные сведения проведенных исследований свидетельствовали о том, что изучаемый препарат не токсичен и может использоваться для лечения пациентов. Во всех исследованных группах крыс после нанесения раны на внутреннюю поверхность нижней губы на 7 сутки эксперимента наблюдали участок глубокого раневого дефекта, некроз ткани, отек, полнокровие и выраженную воспалительную инфильтрацию с примесью нейтрофилов. На 14 сутки после начала эксперимента во всех группах наблюдали регенераторные процессы. Зоны раневого дефекта эпителизировались, отмечалась слабая выраженность воспалительных изменений. Однако, степень описанных изменений в группах исследованных животных была вариабельна. Наиболее быстро процессы заживления раны, согласно данным морфологического анализа, протекали в 3-й группе, где применяли лечение раны слизистой оболочки нижней губы с помощью модифицированного геля и ежедневного внутрижелудочного введения объемом 500 мг/кг суспензии синбиотика «Бифистим», что подтверждало правильность разработанного лечения.

Выводы:

1. Проведенное гистологическое исследование тканей внутренних органов экспериментальных белых крыс показало, что изменений, указывающих на процесс интоксикации организма не выявлено.
2. Наиболее быстро процессы заживления раны слизистой оболочки внутренней поверхности нижней губы экспериментальных животных, согласно данным морфологического анализа, протекали в третьей группе, что подтверждало необходимость применения разработанного лечения.

Литература

1. Антоненков Ю.Е., Чайкина Н.Н., Саурина О.С., Смолькин Е.Б., Чернов А.В., Титова С.Н. О стоматологической службе Воронежской области // Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины. 2020. Т. 28, № 2. С. 239–242.
2. Вечеркина Ж. В., Шалимова Н. А., Чиркова Н. В., Андреева Е.А., Бобешко М. Н. Оценка эффективности лечебно-профилактических мероприятий дисбиоза в стоматологической практике // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2020. Т. 19, № 4. С. 78–88.
3. Вечеркина Ж.В., Шалимова Н.А., Чиркова Н.В., Морозов А.Н., Попова Т.А. Анализ этиопатогенеза дисбиоза в стоматологии (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. 2020. Т. 27, № 3. С. 11–19.
4. Голубев Н.А., Фомина К.А., Чиркова Н.В., Морозов А.Н., Вечеркина Ж.В. Токсиметрическая оценка раствора на основе ионов серебра для дезинфекции съемных протезов // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2017. Т. 16, № 3. С. 541–545.
5. Есауленко И.Э., Морозов А.Н., Чиркова Н.В., Вечеркина Ж.В. Симуляционное обучение в системе подготовки врача-стоматолога для улучшения качества стоматологической помощи // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. 2015. Т. 14, № 2. С. 334–337.
6. Чиркова Н.В., Петросян А.Э., Антонян А.Б., Вечеркина Ж.В. Особенности в совершенствовании подходов к лечению заболеваний пародонта воспалительного характера // Актуальные научные исследования в современном мире. 2020. № 5-9 (61). С. 136–140.
7. Чиркова Н.В., Петросян А.Э., Антонян А.Б., Плутахина А.А., Вечеркина Ж.В. Разработка новых подходов при лечении воспалительных заболеваний пародонта // Тенденции развития науки и образования. 2020. № 59-1. С. 80–82.

References

1. Antonenkov YuE, Chaikina NN, Saurina OS, Smolkin EB, Chernov AV, Titova SN. O stomatologicheskoy sluzhbe Voronezhskoy oblasti [About the dental service of the Voronezh region]. Problems of social hygiene, health care and history of medicine. 2020;28(2):239-42. Russian.
2. Vecherkina ZhV, Shalimova NA, Chirkova NV, Andreeva EA, Bobeshko MN. Ocenka jeffektivnosti lechebno-profilakticheskikh meroprijatij disbioza v stomatologicheskoy praktike [Evaluation of the effectiveness of therapeutic and preventive measures of dysbiosis in dental practice]. System analysis and management in biomedical systems. 2020;19(4):78-88. Russian.
3. Vecherkina ZhV, Shalimova NA, Chirkova NV, Morozov AN, Popova TA. Analiz jetiopatogenezisa disbioza v stomatologii (obzor literatury) [Analysis of etiopathogenesis of dysbiosis in dentistry (literature review)]. Bulletin of New Medical Technologies. 2020;27(3):11-9. Russian.
4. Golubev NA, Fomina KA, Chirkova NV, Morozov AN, Vecherkina ZhV. Toksimetricheskaja ocenka rastvora na osnove ionov serebra dlja dezinfekcii semnyh protezov [Toxicometric evaluation of a solution based on silver ions for disinfection of removable prostheses]. System analysis and management in biomedical systems. 2017;16(3):541-5. Russian.
5. Esaulenko IE, Morozov AN, Chirkova NV, Vecherkina ZhV. Simuljacionnoe obuchenie v sisteme podgotovki vracha-stomatologa dlja uluchshenija kachestva stomatologicheskoy pomoshhi [Simulation training in the system of training a dentist to improve the quality of dental care]. System analysis and management in biomedical systems. 2015;14(2):334-7. Russian.
6. Chirkova NV, Petrosyan AE, Antonyan AB, Vecherkina ZhV. Osobennosti v sovershenstvovani-i podhodov k lecheniju zabolevanij parodonta vospalitel'nogo haraktera [Features in improving approaches to the treatment of inflammatory periodontal diseases]. Actual scientific research in the modern world. 2020;5-9:136-40. Russian.
7. Chirkova NV, Petrosyan AE, Antonyan AB, Plutakhina AA, Vecherkina ZhV. [Razrabotka novyh podhodov pri lechenii vospalitel'nyh zabolevanij parodonta] Development of new approaches in the treatment of inflammatory periodontal diseases. Trends in the development of science and education. 2020;59-1:80-2. Russian.

Библиографическая ссылка:

Чиркова Н.В., Вечеркина Ж.В., Андреева Е.А., Плутахина А.А. Токсикологическое экспериментальное исследование использования суспензии синбиотика и геля для десен, модифицированного пробиотиком на белых крысах // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2022. №1. Публикация 3-3. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-1/3-3.pdf> (дата обращения: 31.01.2022). DOI: 10.24412/2075-4094-2022-1-3-3*

Bibliographic reference:

Chirkova NV, Vecherkina ZhV, Andreeva EA, Plutakhina AA. Toksikologicheskoe jeksperimental'noe issledovanie ispol'zovanija suspenzii sinbiotika i gelja dlja desen, modificirovannogo probiotikom na belyh kryсах [Toxicological experimental study of the use of synbiotic suspension and gingive gel modified with probiotic on white rats]. Journal of New Medical Technologies, e-edition. 2022 [cited 2022 Jan 31];1 [about 7 p.]. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-1/3-3.pdf>. DOI: 10.24412/2075-4094-2022-1-3-3

* номера страниц смотреть после выхода полной версии журнала: URL: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2022-1/e2022-1.pdf>