

УДК 616.31-092:612.017.11-078-73

*Т.В. Томила**Харьковский национальный медицинский университет***РАЗВИТИЕ ДИСБИОЗА В ДЕСНЕ КРЫС
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ИММУНОДЕФИЦИТЕ**

Иммунодефицит у крыс вызывали введением циклофосфана и установили двухфазность изменения содержания лейкоцитов в крови: на 7-й день – лейкопению, главным образом за счет лимфоцитов, и на 14-й день – лейкоцитоз, главным образом за счет нейтрофилов. В этот же срок гипоплазия селезенки сменяется спленомегалией. При иммунодефиците в десне наблюдается увеличение активности эластазы и снижение активности лизоцима. Активность уреазы и степень дисбиоза в десне резко увеличиваются при иммунодефиците независимо от уровня лейкоцитов. Изменения содержания малонового диальдегида и активности каталазы в десне крыс с иммунодефицитом несущественны.

Ключевые слова: иммунодефицит, дисбиоз, воспаление, десна, лейкоциты.

Оральный дисбиоз всегда сопровождает стоматологические заболевания. Так, при стоматитах он встречается в 50–89 % случаев [1]. Еще чаще наличие дисбиоза отмечают при пародонтите [2, 3], причем степень дисбиоза прямо коррелирует с ухудшением гигиены полости рта, ростом пародонтальных индексов и интенсивностью кариеса зубов [4].

Важнейшей причиной развития орального дисбиоза является снижение уровня локального иммунитета полости рта [5], которое происходит не только при ВИЧ-инфекции, но и при многих других патологических состояниях организма (тяжелые инфекции, онкозаболевания, радиация, интоксикация) [6].

Целью настоящего исследования стало изучение состояния воспаления и дисбиоза в десне крыс при экспериментальном иммунодефиците.

Материал и методы. Опыты были проведены на 18 крысах-самцах линии Вистар, 10 месяцев, средняя живая масса – (280±12) г. У 12 из них воспроизводили экспериментальный иммунодефицит путем двукратного (с интервалом 2 дня) внутрибрюшинного введения препарата циклостатика «Циклофосфан» в дозе 45 мг/кг на одну инъ-

екцию. Через 7 и 14 дней по 6 крыс умерщвляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца, иссекали десну, выделяли селезенку и получали кровь для анализа клеточного состава [7].

В гомогенате десны (20 мг/мл 0,05 М трис-НСІ-буфера рН 7,5) определяли уровень маркеров воспаления [8]: активность эластазы [9] и содержание малонового диальдегида (МДА) [10]. О степени микробной обсемененности десны судили по активности фермента уреазы [11], состояние неспецифического иммунитета оценивали по уровню активности фермента лизоцима [12], а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [13].

Кроме того, в гомогенате десны определяли содержание гиалуроновой кислоты [14], активность антиоксидантного фермента каталазы [15] и по соотношению активности каталазы и концентрации МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс (АПИ) [8].

Органный индекс селезенки рассчитывали в миллиграммах массы селезенки на 1 г массы тела.

© Т.В. Томила, 2014

Результаты и их обсуждение. Результаты определения клеточного состава крови крыс с экспериментальным иммунодефицитом, а также органный индекс селезенки представлены в таблице. Из этих данных

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что на 7-й день опыта мы наблюдаем истинный иммунодефицит, главным образом за счет снижения числа представителей лимфоцитарной системы. На 14-й день

Лейкоцитарная формула крови и органный индекс селезенки у крыс с иммунодефицитом

| Показатель | Норма | Крысы с иммунодефицитом | |
|-----------------------------------|------------------|---------------------------|----------------------------|
| | | 7-е сутки | 14-е сутки |
| Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$ | 13,98 \pm 2,32 | 4,50 \pm 1,21 p<0,01 | 29,00 \pm 6,47 p<0,05 |
| Нейтрофилы сегментоядерные, % | 26,0 \pm 3,1 | 34,8 \pm 2,5 p<0,05 | 35,60 \pm 2,27 p<0,05 |
| Нейтрофилы палочкоядерные, % | 1,4 \pm 0,5 | 2,5 \pm 0,5 p>0,05 | 4,00 \pm 0,63 p<0,05 |
| Лимфоциты, % | 55,6 \pm 2,7 | 46,2 \pm 0,9 p<0,05 | 38,6 \pm 3,2 p<0,01 |
| Моноциты, % | 10,0 \pm 0,8 | 11,2 \pm 1,5 p>0,3 | 13,4 \pm 0,6 p<0,05 |
| Эозинофилы, % | 7,0 \pm 0,8 | 5,2 \pm 1,3 p>0,05 | 8,4 \pm 2,4 p>0,05 |
| Органный индекс селезенки, мг/г | 2,88 \pm 0,26 | 2,31 \pm 0,18 p>0,05 | 5,57 \pm 0,32 p<0,05 |

Примечание. p – показатель достоверности различий с нормой.

видно, что через 7 дней наблюдается лейкопения (число лейкоцитов снижается в 3 раза), однако на 14-й день она сменяется лейкоцитозом (число лейкоцитов возрастает более чем в 2 раза по сравнению с нормой). Лейкопения происходит главным образом за счет снижения числа лимфоцитов, а лейкоцитоз – за счет увеличения числа нейтрофилов. Органный индекс селезенки снижается на 7-й день иммунодефицита, однако почти в 2 раза увеличивается на 14-й день.

наблюдается компенсаторная регенерация лейкоцитарной системы крови, главным образом за счет нейтрофилов.

Результаты определения в десне уровня маркеров воспаления: эластазы и МДА, а также содержания гиалуроновой кислоты представлены на рис. 1. Видно, что при иммунодефиците достоверно возрастает активность эластазы и проявляется четкая тенденция к снижению содержания гиалуроновой кислоты. Концентрация МДА в десне

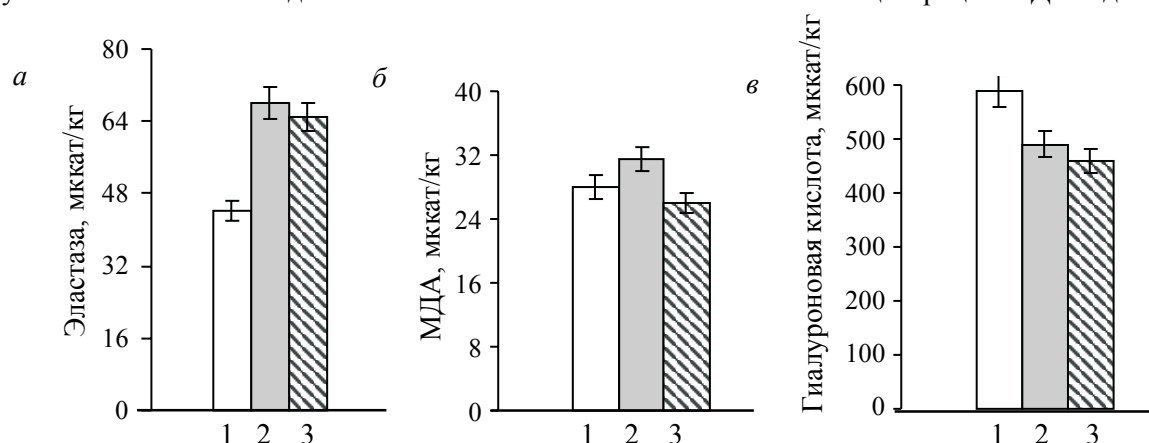


Рис. 1. Уровень маркеров воспаления: эластазы (а) и МДА (б) и гиалуроновой кислоты (в) в десне крыс с иммунодефицитом: 1 – норма; 2 – иммунодефицит, 7-е сутки; 3 – иммунодефицит, 14-е сутки

крыс с иммунодефицитом достоверно не отличается от контроля.

Наблюдаемое нами при иммунодефиците увеличение активности эластазы свидетельствует о развитии воспалительно-дистрофического процесса в пародонте, чему способствует снижение содержания гиалуроновой кислоты, которая является межклеточным «цементом» и снижает проницаемость тканей для макромолекул и бактерий.

Результаты определения в десне активности уреазы, лизоцима и степени дисбиоза представлены на рис. 2. Как видно из этих данных, через 7 дней иммунодефицита актив-

мента лизоцима достоверно снижается при иммунодефиците как на 7-й день, так и еще больше на 14-й день. На 14-й день иммунодефицита активность уреазы возрастает в 10 раз, что свидетельствует о дальнейшем увеличении микробной обсемененности десны как о результате нарушения антимикробной функции печени [16].

Результаты определения активности каталазы и АПИ в десне крыс с иммунодефицитом показаны на рис. 3. Из этих данных видно, что исследуемые показатели достоверно не изменяются ни на 7-й, ни на 14-й день.

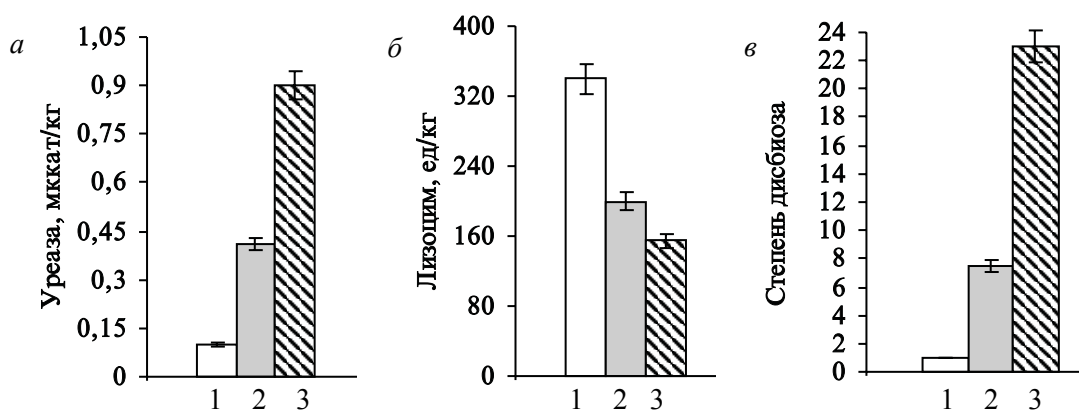


Рис. 2. Активность уреазы (а) и лизоцима (б), степень дисбиоза (в) в десне крыс с иммунодефицитом: 1 – норма; 2 – иммунодефицит, 7-е сутки; 3 – иммунодефицит, 14-е сутки

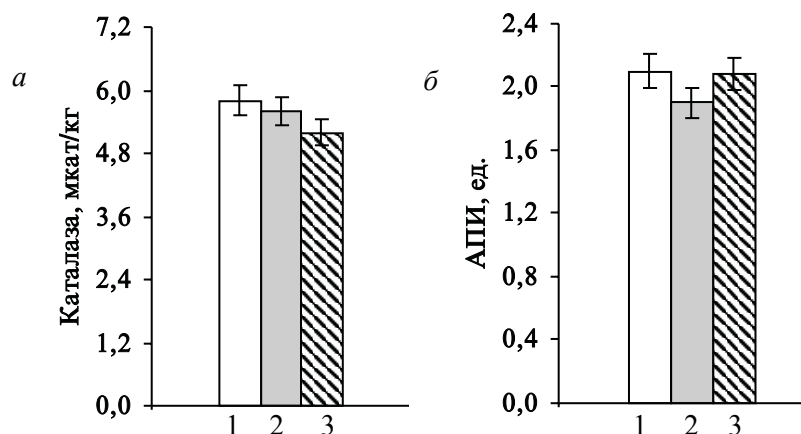


Рис. 3. Активность каталазы (а) и АПИ (б) в десне крыс с иммунодефицитом: 1 – норма; 2 – иммунодефицит, 7-е сутки; 3 – иммунодефицит, 14-е сутки

ность уреазы увеличивается в 4,7 раза, что свидетельствует о росте микробного обсеменения в десне и развитии в ней дисбиоза (степень дисбиоза возрастает в 7,2 раза). Напротив, активность антимикробного фер-

Таким образом, при экспериментальном иммунодефиците в десне крыс наблюдается развитие дисбиоза и воспаления, которые усиливаются независимо от уровня лейкоцитов крови.

Список литературы

1. Изучение микробиоценоза при хронических заболеваниях слизистой оболочки полости рта / В. В. Хазанова, И. М. Рабинович, Е. А. Земская [и др.] // *Стоматология*. – 1996. – Т. 76, № 2. – С. 26–27.
2. *Давыдова Т. Р.* К проблеме дисбактериоза в стоматологической практике / Т. Р. Давыдова, Я. Н. Красенкова, Е. Ю. Хавкина // *Стоматология*. – 2001. – № 2. – С. 23–24.
3. *Савичук Н. О.* Микрoэкология полости рта, дисбактериоз и пути его коррекции / Н. О. Савичук, А. В. Савичук // *Современная стоматология*. – 2002. – № 4. – С. 9–12.
4. *Иванова Л. А.* Частота встречаемости неблагоприятных факторов и стоматологический статус у пациентов с дисбиозом полости рта / Л. А. Иванова, Т. Л. Родионова, А. Б. Чередникова // *Институт стоматологии*. – 2009. – № 1. – С. 74–75.
5. *Булгакова А. И.* Изменения показателей местного иммунитета десны и ротовой полости больных при лечении хронического пародонтита / А. И. Булгакова // *Пародонтология*. – 2002. – № 1–2. – С. 55–59.
6. *Скалли К.* Медицинские проблемы в стоматологии / К. Скалли, Р. А. Каусон // *Клиническая стоматология*. – 2005. – № 1, ч. I. – С. 14–21.
7. *Базарнова М. А.* Клиническое исследование крови / М. А. Базарнова, Т. Л. Сакун // *Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 2 / под ред. М. А. Базарновой*. – К. : Вища школа, 1982. – С. 35–52.
8. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости : метод. рекомендации / [А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
9. *Левицкий А. П.* Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов : метод. рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К. : ГФЦ, 2002. – 15 с.
10. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // *Современные методы в биохимии*. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.
11. *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.
12. *Левицкий А. П.* Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса : КП ОГТ, 2005. – 74 с.
13. 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. 26.12.08 ; опубл. 10.08.09, Бюл. № 15.
14. *Асатиани В. С.* Новые методы биохимической фотометрии / В. С. Асатиани. – М. : Наука, 1965. – 298 с.
15. *Гирин С. В.* Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // *Лабораторная диагностика*. – 1999. – № 4. – С. 45–46.
16. *Левицкий А. П.* Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. – Одесса : КП ОГТ, 2011. – 141 с.

Т.В. Томіліна**РОЗВИТОК ДИСБІОЗУ У ЯСНАХ ЩУРІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ІМУНОДЕФІЦИТІ**

Імунодефіцит у щурів викликали введенням циклофосфану і встановили двофазність зміни вмісту лейкоцитів у крові: на 7-й день – лейкопенію, головним чином за рахунок лімфоцитів, і на 14-й день – лейкоцитоз, головним чином за рахунок нейтрофілів. У цей самий термін гіпоплазія селезінки змінюється спленомегалією. При імунодефіциті в яснах спостерігається збільшення активності еластази і зниження активності лізоциму. Активність уреазы і ступінь дисбіозу в яснах різко збільшуються при імунодефіциті незалежно від рівня лейкоцитів. Зміни вмісту малонового діальдегіду і активності каталази в яснах щурів з імунодефіцитом неістотні.

Ключові слова: імунодефіцит, дисбіоз, запалення, ясна, лейкоцити.

T.V. Tomilina

DEVELOPMENT OF DYSBIOSIS IN THE GUMS OF RATS BY EXPERIMENTAL IMMUNODEFICIENCY

Immunodeficiency in rats was caused by introduction of cyclophosphan and it was found out, that the changes in the content of leukocytes in the blood are biphasic: on the 7th day there was leukopenia, mainly by virtue of lymphocytes, and on the 14th day – leukocytosis, mainly by virtue of neutrophils. In the same period, hypoplasia of the spleen is replaced by splenomegaly. Under immunodeficiency there is increase of elastase activity and reduction of lysozyme activity in the gum. Urease activity and the degree of dysbiosis in the gums increase extremely under immunodeficiency, not depending on the level of leukocytes. Changes in the content of malonic dialdehyde and catalase activity in gums of rats with immunodeficiency are insignificant.

Key words: *immunodeficiency, dysbiosis, inflammation, gum, leukocytes.*

Поступила 30.10.13