

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.31

**В. В. Ткачук¹, В. И. Величко¹, д. мед. н.,
А. П. Левицкий², д. биол. н.**

¹Одесский национальный медицинский университет

²Государственное учреждение

«Институт стоматологии Национальной академии
медицинских наук Украины»

ВЛИЯНИЕ СТОМАТОГЕННОЙ ЭНДОТОКСИНЕМИИ НА ЛИПИДНЫЙ ОБМЕН И СИСТЕМНОЕ ВОСПАЛЕНИЕ

Апликации в течение 10 дней на слизистую полости рта крыс липополисахарида (ЛПС) в ежедневных дозах 40 или 200 мкг/кг вызывают в печени дозозависимое развитие дисбиоза, определяемого по соотношению активности уреазы и лизоцима, увеличение содержания триглицеридов (ТГ). В сыворотке крови увеличивается содержание ТГ, активность эластазы и содержание МДА, снижается активность лизоцима и каталазы. ЛПС дозозависимо увеличивает прирост живой массы.

Ключевые слова: липополисахарид, печень, оральные гели, липидный обмен, дисбиоз, воспаление.

В. В. Ткачук, В. И. Величко, А. П. Левицкий

¹Одеський національний медичний університет

²Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

ВПЛИВ СТОМАТОГЕННОЇ ЕНДОТОКСИНЕМІЇ НА ЛІПІДНИЙ ОБМІН І СИСТЕМНЕ ЗАПАЛЕННЯ

Аплікації протягом 10 днів на слизову порожнини рота щурів ліпополісахариду (ЛПС) у добових дозах 40 або 200 мкг/кг викликають в печінці дозозалежний розвиток дисбіоза, який визначали за співвідношенням активності уреазу і лізоцима, збільшення вмісту тригліцеридів (ТГ). В сироватці крові підвищується вміст ТГ, активність еластази і вміст МДА, знижується активність лізоцима і каталази. ЛПС дозозалежно збільшує приріст живої маси.

Ключові слова: ліпополісахарид, печінка, оральні гелі, ліпідний обмін, дисбіоз, запалення.

V. I. Velichko, V. V. Tkachuk A. P. Levitsky

¹Odessa National Medical University

²State Establishment The Institute of Stomatology
of the National academy of medical science of Ukraine”

INFLUENCE OF STOMATOGENIC ENDOTOXEMIA ON LIPID METABOLISM AND SYSTEMIC INFLAMMATION

ABSTRACT

The aim of the work. To reveal the influence of oral applications of lipopolysaccharide (LPS) upon the level of lipids and the degree of dysbiosis in liver and blood serum.

The materials and the methods. Oral applications of gels, containing LPS, were made during 10 days dosed at 40 and 200 mkg/kg. Activity of urease, lysozyme, catalase, contents of triglycerides (TG) and the general cholesterol (GC) were estimat-

ed in liver. The contents of TG, GC and MDA (malonic dialdehyde) as well as activity of elastase, lysozyme and ALT were determined by blood serum. The degree of dysbiosis was evaluated by the correlation of the relative activities of urease and lysozyme, and antioxidant-prooxidant index API by the correlation of activity of catalase and contents of MDA. Besides, the average daily live-weight gain was determined.

The findings. Oral applications of LPS cause dose-dependent intensification of live-weight gain, degree of dysbiosis and contents of TG in liver, growth of the contents of TG and MDA in blood serum, activity of elastase and reduction of lysozyme activity.

The conclusion. Stomatogenic endotoxemia causes the development of steatosis and dysbiosis, system inflammation and, perhaps, adiposis.

Key words: lipopolysaccharide, liver, oral gels, lipids metabolism, dysbiosis, inflammation.

При дисбиозе увеличивается продукция и поступление в кровь кишечного эндотоксина – липополисахарида (ЛПС), который обладает широким спектром биологического действия на многие клетки и ткани [1, 2].

Одним из важных источников поступления ЛПС в кровь является ротовая полость (стоматогенная эндотоксинемия), которая обусловлена высоким содержанием в пародонтальных карманах Грамотрицательных бактерий (продуцентов ЛПС) и отсутствием на пути следования микробного токсина в кровь печеночного барьера [3]. Как показали исследования А. П. Левицкого [4], эффективные дозы ЛПС при поступлении из ротовой полости значительно ниже доз этого токсина при поступлении из кишечника.

Имеется достаточное количество работ, свидетельствующих о влиянии микробного фактора на липидный обмен и на развитие ожирения [5, 6]. Ранее было показано, что дисбиоз способствует развитию гиперлипидемии и стеатоза печени [7].

Цель настоящего исследования. Определение влияния оральных аппликаций ЛПС на уровень липидов и степень дисбиоза в крови и в печени.

Материалы и методы исследования. Эксперименты были проведены на 24 белых крысах линии Вистар (самцы, 8 месяцев, средняя живая масса 200±10 г), распределенных в 3 группы: 1-ая (контроль) – аппликации на слизистую оболочку полости рта (СОПР) «пустого» геля (4 %-ный КМЦ без ЛПС) по 0,3 мл на крысу в течение 10 дней; 2-ая группа получала ежедневные аппликации на СОПР по 0,3 мл геля, содержащего ЛПС, в дозе 40 мкг/кг; 3-я группа крыс получала аналогичные аппликации, но с дозой ЛПС 200 мкг/кг. Всего было проделано по 10 аппликаций. Эвтаназию животных осуществляли на 11-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Получали сыворотку крови и иссекали печень.

В сыворотке крови определяли содержание триглицеридов (ТГ) ферментативным методом [8], содер-

жание общего холестерина ферментативным методом [9], активность эластазы [10], каталазы [10], лизоцима [11], аланинтрансаминазы (АЛТ) [12] и содержание малонового диальдегида (МДА) [13].

По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [10].

В гомогенате печени определяли содержание ТГ и холестерина, а также активность уреазы [14] и лизоцима [11] и по соотношению их относительных активностей рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [15].

У крыс всех групп определяли среднесуточный

прирост живой массы.

Результаты исследований подвергали статобработке [16], рассчитывали средние величины (M), ошибку средней величины ($\pm m$). Достоверность различий между группами определяли по t-критерию Стьюдента, считая достоверными различия с $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. На рисунке показан среднесуточный прирост живой массы крыс, получавших оральные аппликации гелей с ЛПС. Из этих данных видно, что аппликации ЛПС увеличивают прирост в 3-4 раза, возможно за счет увеличения отложения жировой ткани.

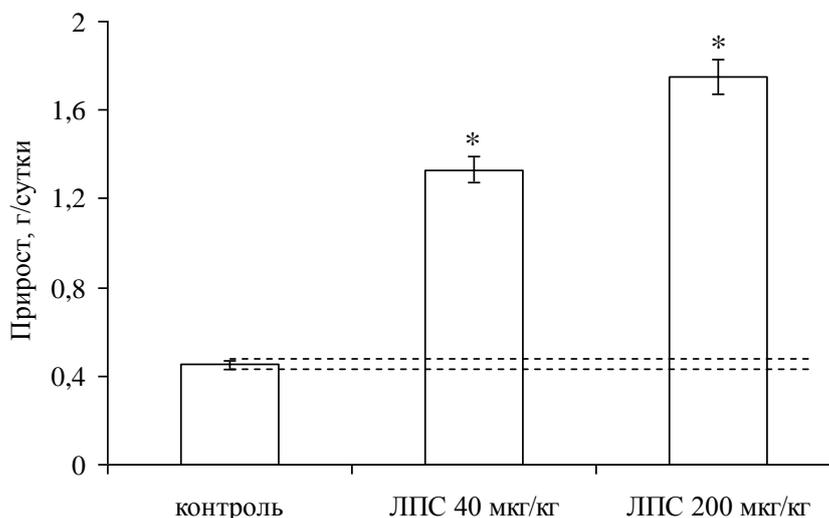


Рис. Суточный прирост живой массы крыс при действии ЛПС.

Таблица 1

Влияние ЛПС на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в печени крыс (M \pm m, n=8)

№ пп	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Контроль	0,22 \pm 0,04	53 \pm 12	1,00 \pm 0,15
2	ЛПС, 40 мкг/кг	0,26 \pm 0,04 p>0,05	37 \pm 12 p>0,3	1,69 \pm 0,20 p<0,05
3	ЛПС, 200 мкг/кг	0,29 \pm 0,02 p>0,05	29 \pm 14 p>0,05	2,45 \pm 0,41 p<0,01

Примечание: p – в сравнении с группой 1.

В таблице 1 представлены результаты определения в ткани печени активности уреазы (маркер микробного обсеменения) и лизоцима (показатель неспецифического иммунитета). Наблюдается явная тенденция к увеличению активности уреазы и снижению активности лизоцима, что дает достоверное дозозависимое увеличение степени дисбиоза в ткани печени.

Параллельно с ростом дисбиоза в печени наблюдается и увеличение содержания триглицеридов (ТГ), т. е. развитие стеатоза (табл. 2).

Увеличение содержания ТГ происходит и в сыворотке крови (гиперлипидемия), о чем свидетельствуют данные таблицы 3.

Таблица 2

Влияние ЛПС на содержание ТГ и холестерина в печени крыс (M \pm m, n=8)

№ пп	Группы	ТГ, ммоль/кг	Холестерин, ммоль/кг
1	Контроль	7,3 \pm 0,3	4,9 \pm 0,4
2	ЛПС, 40 мкг/кг	8,4 \pm 0,3 p<0,05	5,0 \pm 0,3 p>0,5
3	ЛПС, 200 мкг/кг	8,9 \pm 0,3 p<0,01	5,8 \pm 0,4 p>0,05

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 3

Влияние ЛПС на содержание ТГ и холестерина в сыворотке крови крыс ($M \pm m, n=8$)

№пп	Группы	ТГ, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
1	Контроль	0,16±0,01	0,92±0,04
2	ЛПС, 40 мкг/кг	0,27±0,03 p<0,01	0,96±0,07 p>0,3
3	ЛПС, 200 мкг/кг	0,28±0,03 p<0,01	0,96±0,08 p>0,3

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 4

Влияние ЛПС на биохимические показатели сыворотки крови крыс ($M \pm m, n=8$)

№ пп	Группы	Эластаза, мк-кат/л	МДА, ммоль/л	Лизоцим, ед/л	АЛТ, мк-кат/л
1	Контроль	125,6±3,0	0,46±0,01	141±7	0,53±0,04
2	ЛПС, 40 мкг/кг	151,1±12,7 p<0,05	0,47±0,01 p>0,3	122±6 p<0,05	0,58±0,04 p>0,3
3	ЛПС, 200 мкг/кг	168,6±10,8 p<0,01	0,51±0,01 p<0,05	116±11 p<0,05	0,60±0,05 p>0,1

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 5

Влияние ЛПС на активность каталазы и индекс АПИ в сыворотке крови крыс ($M \pm m, n=8$)

№ пп	Группы	Каталаза, мкат/л	АПИ
1	Контроль	0,19±0,02	4,13±0,31
2	ЛПС, 40 мкг/кг	0,15±0,01 p<0,05	3,19±0,27 p<0,05
3	ЛПС, 200 мкг/кг	0,14±0,01 p<0,05	1,96±0,20 p<0,01

Примечание: см. табл. 1.

Как видно из данных таблицы 4, аппликации ЛПС вызывают достоверное повышение в сыворотке крови биохимических маркеров воспаления (эластазы и МДА), что свидетельствует о развитии под влиянием ЛПС системного воспаления [1]. Последнее происходит на фоне снижения неспецифического иммунитета (о чем свидетельствует достоверное дозозависимое снижение активности лизоцима) и снижения уровня антиоксидантной защиты (о чем свидетельствует снижение активности каталазы и индекса АПИ, табл. 5).

Таким образом, проведенные нами исследования показали способность оральных аппликаций ЛПС вызывать развитие дисбиотических и провоспалительных процессов в организме за счет снижения уровня защитных систем. Результатом этого является развитие гиперлипидемии, стеатоза печени и, возможно, ожирения.

На основании этих данных можно полагать, что у лиц, склонных к ожирению, целесообразна антидисбиотическая профилактика и терапия.

Вывод. Оральные аппликации гелей, содержащих ЛПС, вызывают увеличение массы тела, развитие дисбиоза и стеатоза в печени, гиперлипидемии, системного воспаления, угнетение неспецифического

иммунитета и снижение антиоксидантной защиты.

Список литературы

1. Яковлев М. Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека / М. Ю. Яковлев // Физиология человека. – 2003. – т. 29, № 4. – С. 98-109.
2. Рябиченко Е. В. Роль кишечной бактериальной аутофлоры и ее эндотоксина в патологии человека / Е. В. Рябиченко, В. М. Бондаренко // ЖМЭИ. – 2007. – № 3. – С. 103-111.
3. Левицкий А. П. Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2011. – 141 с.
4. Мукосо-адгезивные оральные гели в профилактике стоматогенной патологии / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.] // В кн. «Бюллетень XIII чтений им. В. В. Подвысоцкого» (19-20 июня 2014 г.). – Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2014. – 320 с.
5. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest / P. J. Turnbaugh, R. E. Ley, M. A. Mahowald [et al.] // Nature. – 2006. – v. 444, № 21/28. – P. 1027-1031.
6. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat-diet-induced obesity and diabetes in mice / P. D. Cani, R. Bibiloni, C. Knauf [et al.] // Diabetes. – 2008. – v. 57, № 6. – P. 1470-1481.
7. Browning J. D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury / J. D. Browning, J. D. Horton // J. Clin. Invest. – 2004. – v. 114, № 1. – P. 147-152.
8. Інструкція до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом / ТУ У 24.4-24607793-020-2003.

9. Холестерин. Ферментативно-фотометрический метод с холестерин-оксидазой (пероксидазой) / РТ МД11-15796482-001:2003.
10. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Денга, О. А. Макаренко [и др.] – Одесса, 2010. – 16 с.
11. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
12. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский – [3-е изд.]. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
13. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.
14. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой и хронической инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спецвыпуск. – С. 49-50.
15. Патент на корисну модель, Україна 43140, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Денга О. В., Селіванська І. О. [та ін.]. – Опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.
16. Лапач О. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / О. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. – К.: Морион, 2000. – 320 с.

REFERENCES

1. Yakovlev M. Yu. The elements of endotoxin theory of human physiology and pathology. *Fiziologiya cheloveka*. 2003; 29(4): 98-109.
2. Ryabichenko E. V., Bondarenko V. M. The role of the intestinal bacterial autoflora and its endotoxin in human pathology. *JMEI*. 2007; 3: 103-111.
3. Levitsky A. P., Demyanenko S. A., Tsiselskiy Yu. V. *Antimikrobnaya funktsiya pecheni* [The antimicrobial function of liver]. *Odessa, KP OGT*, 2011:141.
4. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [i dr.]. Oral mucous-adhesive gels in the prevention of the stomatogenic pathology. *V kn. «Byulleten' XIII chteniy im. V. V. Podvysotskogo» (19-20 iyunya 2014 g.)*. – Odessa: UkrNI meditsiny transporta, 2014: 320.
5. Turnbaugh P. J., Ley R. E., Mahowald M. A. [et al.]. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 2006; 444(21/28): 1027-1031.
6. Cani P. D., Bibiloni R., Knauf C. [et al.]. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat-diet-induced obesity and diabetes in mice. *Diabetes*. 2008; 57(6): 1470-1481.
7. Browning J. D., Horton J. D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury. *J. Clin. Invest*. 2004; 114(1): 147-152.
8. *Instrukcija do naboru reaktiviv dlja vyznachennja tryglycerydiv u srovatci i plazmi krovi enzimatsychnym kolorymetrychnym metodom / TU U 24.4-24607793-020-2003.* [The instruction to the set of reagents for the determination of triglycerides in blood serum and plasma with enzymatic colorimetric method / TU U 24.4-24607793-020-2003].
9. *Kholesterin. Fermentativno-fotometricheskij metod s kholesterin-oksidadzoy (peroksidazoy) / RT MD11-15796482-001:2003.* [Cholesterol. Enzymatic-photometric method with cholesterol-oxidase (peroxidase) / RT MD11-15796482-001:2003].
10. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [i dr.]. *Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii* [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. *Odessa, KP OGT*, 2010: 16.
11. Levitsky A. P. *Lizotsym vmesto antibiotikov* [Lysozyme instead of antibiotics]. *Odessa, KP OGT*, 2005:74.
12. *Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike* [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3rd ed.]. *Odessa, Ekologiya*, 2005: 616.
13. 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.
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. [ta in.]. Patent na korysnu model', Ukrain'a 43140, MPK (2009) G01N 33/48.

Sposib ocinky stupenja dysbiozu (dysbak-teriozu) organiv i tkanyn [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. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N. *Statisticheskiye metody v mediko-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel* [Statistical methods in medical and biological research by using Excel]. *Kiyev, Morion*, 2000: 320.

Поступила 02.02.16



УДК 616.31.092:612.017.11

А. И. Фурдычко¹, к. мед. н., М. И. Скидан², к. мед. н.,
А. П. Левицкий³, д. биол. н.

¹Львовский национальный медицинский университет им.

Данилы Галицкого

²Харьковский национальный медицинский университет

³Государственное учреждение
«Институт стоматологии Национальной академии
медицинских наук Украины»

ВЛИЯНИЕ АНТИДИСБИОТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ НА СОСТОЯНИЕ ПАРОДОНТА У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ НЕАЛКОГОЛЬНЫМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

При стеатогепатите в пародонте развивается дисбиоз, атрофия, воспаление, снижение минерализующего индекса костной ткани. «Леквин» (лецитин + кверцетин + инулин + цитрат кальция) оказывает пародонтопротекторное действие, превосходя по многим показателям лизоцим.

Ключевые слова: неалкогольный стеатогепатит, пародонт, дисбиоз, антидисбиотические средства, Леквин, лизоцим.

А. І. Фурдичко¹, М. І. Скидан², А. П. Левицький³

¹Львівський національний медичний університет ім. Данила
Галицького

²Харківський національний медичний університет

³Державна установа «Інститут стоматології
Національної академії медичних наук України»

ВПЛИВ АНТИДИСБИОТИЧНИХ ЗАСОБІВ НА СТАН ПАРОДОНТА У ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ НЕАЛКОГОЛЬНИМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

При стеатогепатиті в пародонті розвивається дисбіоз, атрофія, запалення, зниження мінералізуючого індексу кісткової тканини. «Леквін» (лецитин + кверцетин + інулін + цитрат кальцію) здійснює пародонтопротекторну дію, перевищуючи по багатьом показникам лізоцим.

Ключові слова: неалкогольний стеатогепатит, пародонт, дисбіоз, антидисбіотичні засоби, Леквін, лізоцим.

© Фурдычко А. И., Скидан М. И., Левицкий А. П., 2016.