

А. П. Левицкий, О. Н. Сенников, А. М. Сенникова, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская

ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ ПАТОГЕНОВ НА УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ПЕРИОДОНТЕ КРЫС

ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины» (г. Одесса)
65026, г. Одесса, ул. Ришельевская, 11. E-mail:

Summary. Levitsky A. P., Sennikov O. N., Sennikova A. M., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. **THE INFLUENCE OF MICROBIAL TOXINS UPON THE LEVELS OF INFLAMMATION MARKERS IN RAT PERIODONTIS.** – SE “*Institution for dentistry and maxillo-facial surgery of Ukrainian NAMS*”, e-mail: flavan@mail.ru. Aim: To determine the influence of microbial toxins on the development of inflammation in periodontite. Materials and methods: Microbial toxins: lipopolysaccharide (LPS) – 1 mg/ml, bacterial hyaluronidase (2 mg/ml) and trypsin (5 mg/ml) were introduced into rat gum at region of molar roots in doses 0,2 ml. After 3 hours the levels of inflammation markers (elastase, acide phosphatase, MDA) were determined in pulp, gum and serum. Results: The levels of inflammation markers raised into all tissues, but serum elastase only after the introduction of hyaluronidase and trypsin. The largest growth of inflammation markers was in pulp and gumafter introduction of hyaluronidase. Conclusion: The microbial toxins stimulate the inflammation into periodontite. The introduction of hyaluronidase in gum may by the experimental model of periodontite.

Key words: pulp, gum, serum, microbial toxins, hyaluronidase, LPS, trypsin, periodontitis.

Реферат. Левицкий А. П., Сенников О. Н., Сенникова А. М., Макаренко О. А., Селиванская И. А. **ВЛИЯНИЕ МИКРОБНЫХ ПАТОГЕНОВ НА УРОВЕНЬ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ В ПЕРИОДОНТЕ КРЫС.** Инъекции в десну растворов микробных токсинов (липополисахарида, гиалуронидазы или трипсина) вызывают развитие воспаления в периодонтите.

Ключевые слова: пульпа, десна, сыворотка крови, микробные токсины, гиалуронидаза, ЛПС, трипсин, периодонтит.

Реферат. Левицкий А. П., Сенников О. М., Сенникова Г. М., Макаренко О. А., Селиванська І. О. **ВПЛИВ МІКРОБНИХ ПАТОГЕНІВ НА РІВЕНЬ МАРКЕРІВ ЗАПАЛЕННЯ У ПЕРІОДОНТІ ЩУРІВ.** Ін'єкції в ясна розчинів микробних токсинів (ліпополісахариду, гіалуронідази або трипсину) викликають розвиток запалення в періодонті.

Ключові слова: пульпа, ясна, сироватка крові, микробні токсини, гіалуронідаза, ЛПС, трипсин, періодонтит.

Введение. Периодонтиты – наиболее частое и наиболее тяжелое осложнение кариеса зубов [1-3]. В патогенезе периодонтитов решающую роль играет снижение иммунитета [4] и развитие на этой основе дисбиоза как генерализованного так и локального (орального) [5-9].

К сожалению, существующие методы лечения периодонтитов недостаточно эффективны и нередко приводят к генерализации патологического процесса [10-12]. Поэтому остается крайне актуальной проблема разработки новых способов лечения и профилактики периодонтитов. Для успешного решения этой проблемы очень важно иметь хорошие экспериментальные модели периодонтитов, в максимальной степени соответствующие периодонтиту у людей.

Предложенные ранее экспериментальные модели периодонтитов [13-16] далеки от идеала, поскольку не учитывают в должной степени патогенетические механизмы развития этого заболевания.

В то же время известно, что микробный фактор играет решающую роль в патогенезе периодонтитов [6-8]. Установлено также, что патогенное действие микробов реализуется через продуцируемые ими токсины [17, 18].

Целью настоящего исследования стало определение влияния трех микробных патогенов (токсинов) – кишечного эндотоксина (липополисахарида), бактериальной гиалуронидазы и протеазы на развитие воспаления в периодонте крыс с тем, чтобы выбрать наиболее эффективный из них для моделирования апикального периодонтита.

Материалы и методы исследования

Исследования были проведены на 12 белых крысах линии Вистар (средняя живая масса 332 ± 15 г самцы), которых распределили в 4 группы: 1-ая – интактная, контроль, 2-ая – получала раствор липополисахарида (ЛПС) на 0,9 %-ном NaCl в концентрации 1 мг/мл, 3-я – получала раствор бактериальной гиалуронидазы на 0,9 %-ном NaCl в концентрации 2 мг/мл и 4-ая – получала протеазу (трипсин кристаллический) на 0,9 %-ном NaCl в концентрации 5 мг/мл. Растворы патогенов вводили в виде инъекций в десну в районе корней моляров в дозе 0,2 мл на крысу.

Через 3 часа после введения патогенов крыс умерщвляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Извлекали из резцов пульпу, иссекали десну и получали сыворотку крови.

В гомогенате пульпы определяли активность кислой фосфатазы (КФ) [19], а также активность эластазы [19]. В гомогенате десны и в сыворотке крови определяли активность эластазы и содержание малонового диальдегида (МДА) [19].

В сыворотке крови определяли активность эластазы.

Результаты исследований подвергали стандартной статобработке [20].

Результаты и их обсуждение

В качестве биохимических маркеров воспаления [19] нами были избраны: для пульпы – эластаза и кислая фосфатаза, для десны и сыворотки крови – эластаза и МДА.

На рисунке 1 представлены результаты определения маркеров воспаления в пульпе зубов. Видно, все патогены увеличивают в пульпе активность КФ (в большей степени гиалуронидаза) и эластазы (в большей степени гиалуронидаза и трипсин).

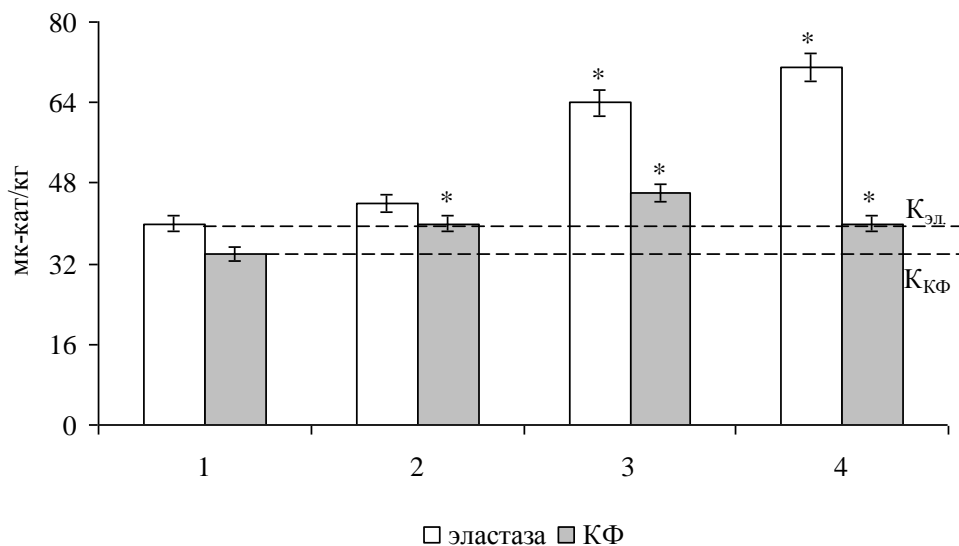


Рис. 1. Влияние различных патогенов на активность маркеров воспаления в пульпе крыс (1 – контроль, 2 – ЛПС, 3 – гиалуронидаза, 4 – трипсин) *– $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1

На рис. 2 представлены результаты определения маркеров воспаления в десне. Из этих данных следует, что все три патогена вызывают достоверное увеличение уровня маркеров воспаления, причем активность эластазы – больше всего гиалуронидаза.

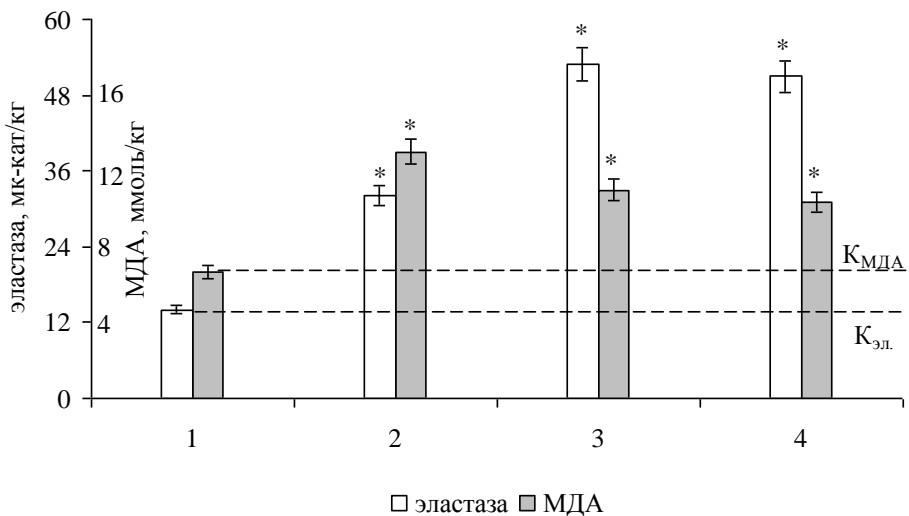


Рис. 2. Влияние различных патогенов на уровень маркеров воспаления в десне крыс (1 – контроль, 2 – ЛПС, 3 – гиалуронидаза, 4 – трипсин) *– $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1

Этот же патоген в наибольшей степени увеличивает и активность эластазы в сыворотке крови (рис. 3). Второй маркер воспаления (МДА) мало изменяется при действии микробных патогенов.

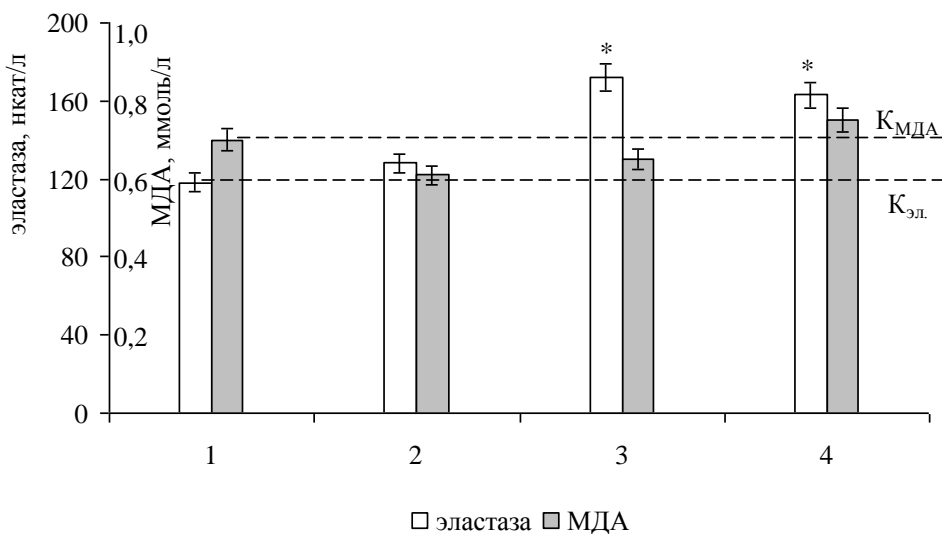


Рис. 3. Влияние различных патогенов на уровень маркеров воспаления в сыворотке крови крыс (1 – контроль, 2 – ЛПС, 3 – гиалуронидаза, 4 – трипсин) *– $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1

Таким образом, на основании проведенных исследований можно считать, что именно микробные патогены обуславливают развитие воспаления в периодонте. Из 3-х испытанных патогенов наиболее эффективным оказалась микробная гиалуронидаза. Последняя, как известно, расщепляет гиалуроновую кислоту («межклеточный цемент») и тем самым благоприятствует развитию воспаления, транслокации бактерий и их токсинов из крови и межклеточных сред в ткани периодонта.

Можно полагать, что именно бактериальная гиалуронидаза может быть хорошим индуктором развития верхушечного периодонтита, что отвечает, по-видимому, естественному патогенезу периодонтита у человека.

Выводы

1. Инъекции в десну в районе корней моляров микробных патогенов (ЛПС, гиалуронидаза или протеаза) вызывает в пульпе зуба и в десне развитие воспаления.
2. Из трех патогенов наиболее эффективной оказалась гиалуронидаза, которая может быть индуктором при моделировании экспериментального периодонтита.

Литература:

1. Lopez-Marcos J. F. Actcology, Classification and Pathogenesis of Pulp and Periapical Disease // Med. Oral Pathol. – 2004. – № 9. – P. 52-62.
2. Клинико-иммунологическая характеристика деструктивных форм хронического периодонтита / А. В. Митронин, Т. Г. Робустова, Ю. М. Максимовский [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2005. – № 1. – С. 29-34.
3. Митронин А. В. Особенности развития, течения и лечения хронического апикального периодонтита у больных с сопутствующей патологией (обзор литературы) / А. В. Митронин // Стоматолог. – 2006. – № 7. – С. 7-15.
4. Максюков С. Ю. Иммунологические механизмы развития и прогрессирования остеорезорбции при периодонтальных поражениях / С. Ю. Максюков, Т. В. Гайворонская, В. А. Проходная // Институт стоматологии. – 2014. – № 1. – С. 100-102.
5. Журочко Е. И. Диагностика и лечение деструктивных форм периодонтита у больных на фоне дисбиоза полости рта / Е. И. Журочко, Н. И. Чепурова, Л. Н. Россаханова // Вісник стоматології. – 2010. – № 4. – С. 15-17.
6. Гуревич Н. В. Состояние микробной флоры при воспалительных заболеваниях периодонта постоянных зубов у детей / Н. В. Гуревич, В. П. Болонкин, В. П. Решетникова // Институт стоматологии. – 2004. – № 3. – С. 34-
7. Ромаев С. Н. Сравнительный анализ бактериального пейзажа полости носа у больных гнойным верхнечелюстным синуситом / С. Н. Ромаев, Л. Ю. Свириденко // Международный медицинский журнал. – 2006. – № 1. – С. 37-40.
8. Шешукова О. В. Роль пародонтопатогенної інфекції в розвитку періодонтитів тимчасових зубів / О. В. Шешукова // Український стоматологічний альманах. – 2006. – № 3. – С.66-68.
9. Сравнительная характеристика микробиоценоза во временных и постоянных зубах в стадии обострения хронического периодонтита / М. Г. Чеснокова, В. И. Самохина, В. Д. Ландинова [и др.] // Стоматология для всех. – 2012. – № 1. – С. 32-35.
10. Oxidative damage of periodontal tissue in the rat periodontitis model: Effects of a high-cholesterol diet / T. Tomofuji, T. Azuma, H. Kusano [et al.] // FEBS Lett. – 2006. – v. 580, № 15. – P. 3601-3604.
11. Митронин А. В. Изучение влияния хронического апикального периодонтита на состояние организма пациента / А. В. Митронин, И. Д. Понякина // Стоматология. – 2007. – т. 72, № 6. – С. 26-29.
12. Борисенко А. В. Методи лікування періодонтитів (огляд літератури) / А. В. Борисенко, Ю. Ю. Кодлубовский // Современная стоматология. – 2010. – № 1. – С. 15-20.
13. Чулак Л. Д. Вивчення впливу гідроксиапатитувмісних препаратів на процеси репаративного остеогенезу лунки зубів в експерименті / Л. Д. Чулак, О. В. Кірічек // Український стоматологічний альманах. – 2003. – № 5. – С. 21-23.
14. Method of Experimental Inducrion of Periapical Inflammation / M. Tanomaru-Filho, A. Polisel-Neto, M. R. Leonardo [et al.]. // International Endodontic Journal. – 2005. – № 38. – P. 477-482.
15. Деньга О. В. Применение остеотропных препаратов при экспериментальной терапии периодонтита / О. В. Деньга, Л. Б. Цевух, О. А. Макаренко // Вісник стоматології. – 2007. – № 5. – С. 7-11.
16. Декларацийний патент на корисну модель № 43803, МПК (2009) G09B 23/28. Спосіб моделювання альвеоліту у щурів / Н. С. Гутор, А. П. Левицький. – № u 200906471, заявл. 22.06.2009; опубл. 25.08.2009. – Бюл. № 16.
17. Бондаренко В. М. Факторы патогенности бактерий и их роль в развитии инфекционного процесса / В. М. Бондаренко // ЖМЭИ. – 1999. – № 5. – С. 34-39.
18. Сухарев Ю. С. Энтеротоксин-продуцирующие патогенные Escherichia coli / Ю. С. Сухарев. – Харьков: Коллегиум, 2008. – 346 с.

19. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Денга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.
20. Трухачева Н. В. Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева // М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 379 с.

References

1. Lopez-Marcos J. F. Actology, Classification and Pathogenesis of Pulp and Periapical Disease. *Med. Oral Pathol.* 2004; 9: 52-62.
2. Mitronin A. V., Robustova T. G., Maksimovskiy Yu. M. [et al.]. Clinical and immunological characteristics of destructive forms of chronic periodontitis. *Rossiyskiy stomatologicheskij zhurnal.* 2005; 1: 29-34.
3. Mitronin A. V. The peculiarity of development, current and treatment of chronic apex periodontitis into patients with passing pathology (review). *Stomatolog.* 2006; 7: 7-15.
4. Maksyukov S. Yu., Gayvoronskaya T. V., Prokhodnaya V. A. Immunological mechanisms of development and progression of osteoresorbtion at periodontitis. *Institut stomatologii.* 2014; 1: 100-102.
5. Zhurochko E. I., Chepurova N. I., Rossakhanova L. N. Diagnosis and treatment of destructive forms of periodontitis in patients with oral dysbiosis. *Visnyk stomatologii'.* 2010; 4: 15-17.
6. Gurevich N. V., Bolonkin V. P., Reshetnikova V. P. The state of microbial flora at inflammation diseases of children constant teeth. *Institut stomatologii.* 2004; 3: 34-
7. Romaev S. N., Sviridenko L. Yu. Comparative analyse of bacterial landscape of nose cavity into patients with suppurative submaxillar sinusitis. *Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal.* 2006; 1: 37-40.
8. Sheshukova O. V. The role of parodontopathogenic infection in the development of milk tooth periodontitis. *Ukrai'ns'kyj stomatologichnyj al'manah.* 2006; 3: 66-68.
9. Chesnokova M. G., Samokhina V. I., Landinova V. D. [et al.]. Comparative characteristic of microbiocenose into milk and constant teeth in the stage of edged chronic periodontitis. *Stomatologiya dlya vsekh.* 2012; 1: 32-35.
10. Tomofuji T., Azuma T., Kusano H. [et al.]. Oxidative damage of periodontal tissue in the rat periodontitis model: Effects of a high-cholesterol diet. *FEBS Lett.* 2006; 580(15): 3601-3604.
11. Mitronin A. V., Ponyakina I. D. The investigation of influence of chronic apex periodontitis on state of patient organism. *Stomatologiya.* 2007; 72(6): 26-29.
12. Borisenko A. V., Kodlubovskiy Yu. Yu. The methods of treatment of periodontitis. *Sovremennaya stomatologiya.* 2010; 1: 15-20.
13. Chulak L. D., Kirichuk O. V. Studying the impact of drugs on hidroksyapatyutismnh processes of reparative osteogenesis tooth holes in the experiment. *Ukr. Stomat. Almanakh.* 2003; 5: 21-23.
14. Tanomaru-Filho M., Poliselino Neto A., Leonardo M. R. [et al.]. Method of Experimental Induction of Periapical Inflammation. *International Endodontic Journal.* 2005; 38: 477-482.
15. Den'ga O. V., Tsevukh L. B., Makarenko O. A. To apply osteotropic preparates at experimental periodontitis therapy. *Visnyk stomatologii'.* 2007; 5: 7-11.
16. Levitsky A. P., Gutor N. S. The method of modelation of alveolite in rat. Patent of Ukraine 43803. IPC (2009) G09B 23/28. Application number u 200906471. Date of filling: 22.06.2009. Publ.: 25.08.2009. *Bul. № 16.*
17. Bondarenko V. M. The factors of bacterial pathogenity and its roles in the development of infections processes. *ZhMEI.* 1999; 5: 34-39.
18. Sukharev Yu. S. Enterotoksin-produtsiryuyushchie patogennyye Escherichia coli [The enterotoxin-producent pathogenic Escherichia coli]. *Khar'kov, Kollegium,* 2008: 346.
19. 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.

20. Truhacheva N. V. Matematicheskaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovanijah s primeneniem paketa Statistica [Mathematical Statistics in biomedical research using application package Statistica]. Moskva, GJeOTAR-Media, 2012: 379.

Работа поступила в редакцию 15.01.2017 года.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования

УДК 612.014.1

И. В. Ходаков¹, В. В. Ткачук², В. И. Величко², А. П. Левицкий¹

ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПАЛЬМОВОЕ МАСЛО И ЛИНКОМИЦИН

¹ГУ «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии НАМН Украины, г. Одесса

Summary. Khodakov I. V., Tkachuk V. V., Velichko V. I., Levitsky A. P. **THE FATTY ACIDS COMPOSITION OF LIVER LIPIDS OF RATS WHICH RECEIVED THE PALM OIL AND LINCOMYCIN.** – SE “Institution for Stomatology and Maxillofacial Surgery of NAMN of Ukraine”, Odessa National medical University, e-mail: flavan@mail.ru. Aim: To determine the antibiotic lincomycin influence in accumulate of lipids and there fatty acids composition in liver of rats which received the palm oil. Materials and methods: Experiments were mode on 3 groups of rats: 1 – received semi synthetic fatless ration (less 1 %), 2 – high fat ration (15 % palm oil) (HFR), 3 – HFR + lincomycin (60 mg/kg first 5 days with drinking water). The duration fuding was 40 days. The content of lipids, fatty acid composition fraction of triglycerides (TG) + cholesterine ester (CE) and fraction of fue fatty acids (FFA) were determined in liver. Results: The considerable changes with weight increase not observed in rats, which received palm oil. The additional introducing lincomycin reduced weight increase. The introduce of palm oil increased the lipid content in liver in 6 times, and additional introduce lincomycin raised in 8 times. The high content of palmoleic (C_{16:1}) and vaccenic (C_{18:1}) acids was determined in liver lipids rats, which received fatless ration. The introduce palm oil decreased there content in 3-4 times. The introduce palm oil increased content of ω -6 PUSFA and decreased content of ω -3 PUFSA. Conclusion: The feeding palm oil realized steatos of liver. The introduce lincomycin aggravated action of palm oil..

Key words: palm oil, liver, lipids, fatty acids, antibiotics, PUSFA.

Реферат. Ходаков И. В., Ткачук В. В., Величко В. И., Левицкий А. П. **ЖИРНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ ЛИПИДОВ ПЕЧЕНИ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ПАЛЬМОВОЕ МАСЛО И ЛИНКОМИЦИН.** Кормление высокожировым рационом (ВЖР) с вводом 15 % пальмового масла вызывает стеатоз печени, увеличение содержания свободных жирных кислот и снижает содержание в липидах печени пальмитоолеиновой, вакценовой жирных кислот и ω -3 ПНЖК. Одновременное введение линкомицина усугубляет действие пальмового масла.

Ключевые слова: пальмовое масло, печень, липиды, жирные кислоты, антибиотики, ПНЖК.