

# Влияние кишечного эндотоксина на показатели неспецифического иммунитета слизистой оболочки рта у крыс

С.А. Демьяненко, Н.В. Марченко, В.Н. Кириченко

## Influence of intestinal endotoxin on the indices of non-specific immunity of the oral mucosa in rats

S.A. Demyanenko, N.V. Marchenko, V.N. Kirichenko

*Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В.И. Вернадского», г. Симферополь*

**Ключевые слова:** воспалительные заболевания, дисбиоз, кишечный эндотоксин, системная эндотоксинемия, маркеры воспаления

### Резюме

#### Влияние кишечного эндотоксина на показатели неспецифического иммунитета слизистой оболочки рта у крыс

*С.А. Демьяненко, Н.В. Марченко, В.Н. Кириченко*

В статье приведены результаты анализа изменений биохимических показателей неспецифического иммунитета, происходящих в тканях слизистой оболочки полости рта у крыс.

Эксперимент проведен на 90 крысах самках линии Вистар. Эндотоксинемию воспроизводили путем ежедневного внутримышечного введения 6,6 мкг/кг и 200 мкг/кг доз ЛПС из *E. coli* 0111:B4 в течение 14 дней. Животных выводили из опыта на 2, 4, 8 и 15-е сутки.

Установлено, что достоверное увеличение цифровых значений степени дисбиоза в слизистой оболочке щеки и языка на 14 сутки эксперимента до  $1,83 \pm 0,19$  ед ( $p < 0,05$ ) и до  $9,31 \pm 0,96$  ед ( $p < 0,001$ ), соответственно, является следствием достоверного снижения активности уреазы ( $p < 0,05$ ) и лизоцима ( $p < 0,001$ ), максимально выраженное при внутримышечном введении липополисахарида (ЛПС) в дозе 200 мкг/кг, что приводит к системной эндотоксинемии и поражению слизистой оболочки рта.

Анализ цифровых значений степени дисбиоза слизистой оболочки рта указывает на снижение микробной обсемененности, причем, происходит это на фоне резкого снижения активности лизоцима.

Наблюдаемые биохимические изменения в слизистой оболочке рта при внутримышечном введении ЛПС могут быть следствием вторичных реакций со стороны других органов, прежде всего, печени, ретикуло-эндотелиальная система которой чутко реагирует на присутствие в крови ЛПС.

**Ключевые слова:** воспалительные заболевания, дисбиоз, кишечный эндотоксин, системная эндотоксинемия, маркеры воспаления.

---

*Демьяненко Светлана Александровна* – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой стоматологии и ортодонтии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Контактная информация: 295051, бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия; Email: dc.kvalitet@gmail.com

*Марченко Наталия Вячеславовна* – кандидат медицинских наук, доцент кафедры стоматологии и ортодонтии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Контактная информация: 295051, Бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия.

*Кириченко Вячеслав Николаевич* – кандидат медицинских наук, ассистент кафедры хирургической стоматологии, Медицинская академия имени С.И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В.И. Вернадского». Контактная информация: 295051, Бульвар Ленина, 5/7, Симферополь, Россия.

## Abstract

## Influence of intestinal endotoxin on the indices of non-specific immunity of the oral mucosa in rats

*S.A. Demyanenko, N.V. Marchenko, V.N. Kirichenko*

The article presents the results of the analysis of changes in biochemical parameters of nonspecific immunity occurring in the tissues of the oral mucosa in rats.

The experiment was carried out on 90 female Wistar rats. Endotoxemia was reproduced by daily intramuscular injection of 6.6 µg / kg and 200 µg/kg doses of LPS from *E. coli* 0111:B4 within 14 days. Animals were brought out of experience on the 2nd, 4th, 8th and 15th days.

It was found that a significant increase in the numerical values of the degree of dysbiosis in the mucous membrane of the cheek and tongue on the 14th day of the experiment to  $1.83 \pm 0.19$  units ( $p < 0.05$ ) and to  $9, 31 \pm 0.96$  units ( $p < 0.001$ ), respectively, is the result of a significant decrease in urease activity ( $p < 0.05$ ) and lysozyme ( $p < 0.001$ ) as much as possible with intramuscular administration of lipopolysaccharide (LPS) at a dose of 200 µg / kg, which leads to systemic endotoxemia and damage to the oral mucosa.

Analysis of the digital values of the degree of dysbiosis of the oral mucosa indicates a reduction in microbial contamination, and this happens against the background of a sharp decline in lysozyme activity.

The observed biochemical changes in the mucous membrane of the mouth with intramuscular administration of LPS may be a consequence of secondary reactions from other organs, primarily the liver; reticulo-endothelial system which responds sensitively to the presence of LPS in the blood.

**Key words:** inflammatory diseases, dysbiosis, intestinal endotoxin, systemic endotoxemia, inflammation markers.

**Л**ечение воспалительных заболеваний слизистой оболочки рта на фоне дисбиоза с использованием антимикробных, противовоспалительных средств местного и общего применения не всегда или недостаточно эффективны и нередко не препятствуют обострению патологии [1, 2, 3].

Развитие и течение патологических процессов в слизистой оболочке рта зависит как от общего состояния организма, так и от воздействия микробных токсинов. Наиболее активным является кишечный эндотоксин, представляющий собой липополисахарид (ЛПС), высвобождающийся при отмирании грам-отрицательных бактерий и сине-зеленых водорослей. Липополисахарид, воздействуя на организм, стимулирует функцию лейкоцитов и других клеток соединительной ткани [4, 5, 6].

Концентрация ЛПС в кишечном содержимом значительно возрастает при дисбиозе, и в случае нарушения антимикробной функции печени определенные количества его поступают в системный кровоток, вызывая патологический синдром – системную эндотоксинемию [7, 8].

### Цель исследования

Изучить влияние системной эндотоксинемии на динамику показателей биохимических маркеров воспаления слизистой оболочки рта у крыс.

### Материал и методы исследования

Эксперимент проведен на 90 крысах самках линии Вистар в возрасте 13-15 месяцев, массой 350-400 грамм. Эндотоксинемию воспроизводили путем внутримышечного введения 6,6 мкг/кг (низкая доза) и 200 мкг/кг (высокая доза) липополисахарида из *E. coli* 0111:B4 (препарат фирмы «Sigma», с активностью 600 ед/мкг) ежедневно в течение 14 дней. Животных выводили из опыта на 2, 4, 8 и 15-е сутки.

В гомогенатах слизистых щеки и языка определяли уровень биохимических маркеров воспаления: активность уреазы (биохимический маркер микробной обсемененности) и лизоцима (показатель неспецифического иммунитета).

### Результаты и обсуждение

Анализ результатов определения активности уреазы, лизоцима и рассчитанные на основании этих данных показатели степени дисбиоза в слизистой оболочке щеки у крыс после моделирования системной эндотоксинемии указывает на снижение активности биохимического маркера микробной обсемененности, причем, происходит это, несмотря на резкое снижение активности показателей неспецифического иммунитета.

Отмечается достоверное снижение цифровых значений активности лизоцима слизистой оболочки щеки с  $378 \pm 50$  ед/кг на вторые сутки наблюдений до  $270 \pm 50$  ед/кг ( $p < 0,01$ ) на 15-е сутки, при дозе 6,6 мкг/кг. Суточное введение 200 мкг/кг

Табл. 1

**Активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в слизистой щеки крыс при системной эндотоксинемии**

| Группа | Суточная доза ЛПС (мкг/кг) | Сроки введения (сутки) | Уреазы (мк-кат/кг)    | Лизоцим (ед/кг)  | Степень дисбиоза (ед) |
|--------|----------------------------|------------------------|-----------------------|------------------|-----------------------|
| 1      | 0                          | 0                      | 0,717±0,100           | 395±41           | 1,00±0,10             |
| 2      | 6,6                        | 1                      | 0,725±0,090<br>p<0,05 | 378±50<br>p<0,05 | 1,05±0,13<br>p<0,05   |
| 3      | 6,6                        | 3                      | 0,739±0,080<br>p<0,05 | 352±48<br>p<0,05 | 1,16±0,16<br>p<0,05   |
| 4      | 6,6                        | 7                      | 0,819±0,100<br>p<0,05 | 329±38<br>p<0,05 | 1,37±0,19<br>p<0,05   |
| 5      | 6,6                        | 14                     | 0,990±0,090<br>p<0,05 | 270±50<br>p<0,05 | 2,03±0,21 p<0,05      |
| 6      | 200                        | 1                      | 0,455±0,104<br>p<0,05 | 186±94<br>p<0,05 | 1,36±0,15<br>p<0,05   |
| 7      | 200                        | 3                      | 0,510±0,120<br>p<0,05 | 171±38<br>p<0,05 | 1,65±0,17<br>p<0,05   |
| 8      | 200                        | 7                      | 0,530±0,120<br>p<0,05 | 103±29<br>p<0,05 | 2,85±0,22<br>p<0,05   |
| 9      | 200                        | 14                     | 0,298±0,081<br>p<0,05 | 92±22<br>p<0,01  | 1,83±0,19<br>p<0,05   |

Примечание: p – показатель достоверности различий с группой № 1 (интактные).

Табл. 2

**Активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в слизистой языка крыс при системной эндотоксинемии**

| Группа | Суточная доза ЛПС (мкг/кг) | Сроки введения (сутки) | Уреазы (мк-кат/кг)  | Лизоцим (ед/кг)  | Степень дисбиоза (ед) |
|--------|----------------------------|------------------------|---------------------|------------------|-----------------------|
| 1      | 0                          | 0                      | 1,52±0,13           | 195±27           | 1,00±0,15             |
| 2      | 6,6                        | 1                      | 1,52±0,19<br>p<0,05 | 80±19<br>p<0,05  | 1,24±0,15<br>p<0,01   |
| 3      | 6,6                        | 3                      | 1,60±0,16<br>p<0,05 | 65±16<br>p<0,05  | 3,18±0,31<br>p<0,01   |
| 4      | 6,6                        | 7                      | 1,24±0,15<br>p<0,05 | 74±17<br>p<0,05  | 2,15±0,20<br>p<0,05   |
| 5      | 6,6                        | 14                     | 1,26±0,27<br>p<0,05 | 56±15<br>p<0,01  | 2,86±0,26<br>p<0,01   |
| 6      | 200                        | 1                      | 1,13±0,14<br>p<0,05 | 39±12<br>p<0,001 | 3,70±0,35<br>p<0,001  |
| 7      | 200                        | 3                      | 1,35±0,28<br>p<0,05 | 33±14<br>p<0,001 | 5,23±0,54<br>p<0,001  |
| 8      | 200                        | 7                      | 1,14±0,24<br>p<0,05 | 19±6<br>p<0,001  | 9,79±1,05<br>p<0,001  |
| 9      | 200                        | 14                     | 1,24±0,13<br>p<0,05 | 17±5<br>p<0,001  | 9,31±0,96<br>p<0,001  |

Примечание: p – показатель достоверности различий с группой № 1 (интактные).

приводит к достоверному снижению показателей с  $186 \pm 94$  ед/кг на вторые до  $92 \pm 22$  ед/кг ( $p < 0,01$ ) на 15-е сутки эксперимента.

При изучении активности уреазы слизистой оболочки щеки отмечается незначительное повышение ее показателей с  $0,725 \pm 0,090$  мк-кат/кг в начале эксперимента до  $0,990 \pm 0,090$  мк-кат/кг ( $p < 0,05$ ) на 15-е сутки при дозе 6,6 мкг/кг. В дальнейшем зафиксировано достоверное снижение цифровых значений маркера микробной обсемененности с  $0,455 \pm 0,104$  мк-кат/кг на вторые сутки наблюдений до  $0,298 \pm 0,081$  мк-кат/кг ( $p < 0,05$ ) на 15-е при дозе 200 мкг/кг (табл. 1).

Стойкое повышение степени дисбиоза слизистой оболочки щеки в сроки наблюдений с  $1,05 \pm 0,13$  ед

( $p < 0,05$ ) до  $2,03 \pm 0,21$  ед ( $p < 0,05$ ) показал, что по всем изучаемым параметрам выявлены достоверные различия (в сравнении с интактными животными: уреазы  $0,717 \pm 0,100$  мк-кат/кг, лизоцим  $395 \pm 41$  ед/кг), указывающие на снижение активности биохимического маркера микробной обсемененности при  $p < 0,05$  и показателя неспецифического иммунитета при  $p < 0,01$ , что, в свою очередь, приводит к развитию системной эндотоксинемии.

Аналогичная динамика изменений цифровых показателей маркера микробной обсемененности и неспецифического иммунитета на 2, 4, 8 и 15-е сутки эксперимента наблюдается и в слизистой оболочке языка.

Отмечается достоверное снижение цифровых

значений активности лизоцима слизистой оболочки языка с  $80 \pm 19$  ед/кг до  $56 \pm 15$  ед/кг ( $p < 0,01$ ) на вторые сутки наблюдений при дозе 6,6 мкг/кг. Суточное введение 200 мкг/кг привело к достоверному снижению показателей с  $39 \pm 12$  ед/кг до  $17 \pm 5$  ед/кг ( $p < 0,001$ ) на 15-е сутки эксперимента.

Данные, полученные при анализе активности уреазы слизистой оболочки языка, указывают на достоверное снижение показателей с  $1,52 \pm 0,19$  мк-кат/кг до  $1,26 \pm 0,27$  мк-кат/кг ( $p < 0,05$ ) на вторые сутки эксперимента при дозе 6,6 мкг/кг. Суточное введение 200 мкг/кг приводит к достоверному снижению показателей с  $1,13 \pm 0,14$  мк-кат/кг на вторые сутки наблюдений до  $1,24 \pm 0,13$  мк-кат/кг ( $p < 0,05$ ) в течение 15-ти суток (табл. 2).

Таким образом, увеличение цифровых значений степени дисбиоза в слизистой оболочке щеки до  $1,83 \pm 0,19$  ед ( $p < 0,05$ ) и в слизистой оболочке языка на 15 сутки эксперимента до  $9,31 \pm 0,96$  ед ( $p < 0,001$ ) является следствием достоверного снижения активности биохимического маркера микробной обсемененности и показателя неспецифического иммунитета, максимально выраженное при внутримышечном введении липополисахарида в суточной дозе 200 мкг/кг, что приводит к системной эндотоксинемии и поражению слизистой оболочки рта.

## Выводы

1. При внутримышечном введении липополисахарида отмечается снижение активности неспецифического иммунитета, однако уровень микробной обсемененности слизистой практически не изменяется, о чем свидетельствует умеренное снижение цифровых показателей уреазы.

2. Наблюдаемые биохимические изменения в слизистой оболочке при внутримышечном введении липополисахарида могут быть следствием вторичных реакций со стороны других органов, прежде всего, печени, ретикуло-эндотелиальная система которой чутко реагирует на присутствие в крови ЛПС. Следовательно, результаты настоящего исследования свидетельствуют, что среди факторов, лежащих в основе поражения слизистой оболочки рта, важную роль играет кишечный эндотоксин липополисахарид.

## Литература

1. А.М. Панин, Г.А. Воложин, А.С. Баскова и др. Лечение хронических форм пародонтита средней и тяжелой степени с использованием остеопластических материалов // Пародонтология. – 2015. – Т. 20. – № 1 (74). – С. 50-60.
2. А.В. Шипский. Комплексное лечение и реабилитация пациентов с генерализованным пародонтитом тяжелой степени тяжести // Пародонтология. – 2014. – № 1 (70). – С. 35-42.
3. С.А. Демьяненко, Н.В. Марченко, В.Н. Кириченко. Влияние дисбиоза на состояние слизистой оболочки полости рта у крыс, вызванного введением линкомицина // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2017. – № 7(2). – С. 35-39.
4. Н.К. Пермяков, М.Ю. Яковлев, А.А. Миронюк. Эндотоксин кишечной микрофлоры в патологии печени // Архив патологии. – 1989. – Т. 51, № 9. – С. 3-9.
5. Т.А. Афанасьева, Н.П. Чеснокова, Г.Н. Маслякова и др. О патогенетической взаимосвязи патоморфологических нарушений и активации процессов липопероксидации при эндотоксикозе // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – № 1. – С. 25-28.
6. Sawaki K., Shinomiya T., Okeubo M. Proteomic analysis of Lipopolysaccharide-treated submandibular gland in rat // Bull. Tokyo Dent. Coll. – 2011. – V. 52, № 1. – P. 31-37.
7. В.А. Новак, О.М. Оборин. Синдром эндогенной интоксикации, сепсис и полиорганная недостаточность: патофизиологические и клинические аспекты проблемы (обзор литературы) // Журнал АМН Украины. – 2009. – Т. 15, № 2. – С. 263-275.
8. Yao C., Murdiyati K., Kosugi-Tanaka C. Lipopolysaccharide-induced elevation and secretion of interleukin-1 $\beta$  in the submandibular gland of male mice // Immunology. – 2005. – V. 116. – P. 213-222.