

УДК 616.153.1:577.152.321:616.633.612.31

ЛИЗОЦИМ КАК МАРКЕР МИКРОБНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ МОЧЕВОГО ПУЗЫРЯ

Пустовойт И.П.¹, Левицкий А.П.², Кнава О.Э.²

¹КУ «Одесская областная клиническая больница»

²ГУ «Институт стоматологии НАМН»; e-mail: flavan@mail.ru

Оральные аппликации геля ЛПС вызывают достоверное снижение активности лизоцима в ткани мочевого пузыря крыс, что может быть индикатором его микробной интоксикации.

Ключевые слова: мочевого пузырь, липополисахарид, лизоцим.

Введение

Лизоцим является важнейшим фактором антимикробной защиты организма, осуществляя бактерицидное, иммуномодулирующее и антитоксическое действие [1, 2].

Многочисленные исследования [3-6] показали высокую чувствительность этого показателя даже к небольшим изменениям гомеостаза, особенно связанным с воздействием микробов.

Целью настоящего исследования стало изучение уровня лизоцима в ткани мочевого пузыря крыс при действии наиболее реакционного микробного токсина – кишечного эндотоксина (липополисахарида, ЛПС), образуемого Грам-отрицательными бактериями [7].

Фактически, запуск воспалительной реакции в тканях осуществляется прежде всего ЛПС, который в очень низких концентрациях (мкг/мл) активизирует лейкоциты, тем самым способствует образованию провоспалительных цитокинов (ФНО₆, ИЛ-1, ИЛ-6 и др.) [8, 9].

Однако определение содержания цитокинов представляет значительные технические и материальные трудности, что существенно сдерживает их широкое внедрение в медицинскую практику.

Исходя из того, что лизоцим является очень чувствительным показателем неспецифического иммунитета, мы и предприняли настоящую попытку оце-

нить лизоцим, как возможный индикатор микробной интоксикации.

Материалы и методы исследования

Эксперименты были проведены на 14 белых крысах линии Вистар (самки, 13 месяцев, живая масса 300 ± 20 г). Половина крыс (интактные) служили нормой, вторая половина получала оральные аппликации ЛПС (препарат «Пирогенал» производства «Медгамал», РФ) в дозе 33 мкг/кг. Аппликации на слизистую полости рта были однократны (0,5 мл геля ЛПС на 3 %-ном КМЦ). Умерщвление животных осуществляли на 3-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг), иссекали мочевой пузырь, промывали 0,9 %-ным NaCl и хранили до исследования при минус 30 °С. В гомогенате (20 мг/мл 0,05 М трис-HCl-буфера pH 7,5) определяли содержание белка по методу Лоури [10], содержание малонового диальдегида (МДА) как показателя перекисного окисления липидов и маркера воспаления по реакции с тиобарбитуровой кислотой [11], активность протеолитического фермента эластазы (маркер воспаления) по гидролизу синтетического субстрата [12], активность антиоксидантного фермента каталазы – по убыли H₂O₂ [11] и активность лизоцима бактериолитическим методом [2].

Результаты и их обсуждение

В таблице представлены результаты определения биохимических показателей ткани мочевого пузыря крыс,

получавших оральные аппликации ЛПС. Ранее нами было показано, что ЛПС, образуемый в ротовой полости, легко проникает в кровь и достигает практически всех тканей, прежде, чем его успеет обезвредить печень [13].

Из представленных данных видно, что ни один из испытанных нами показателей, за исключением лизоцима, достоверно не отличается у крыс, которым вводили ЛПС. Лишь некоторую тенденцию к повышению проявляет активность эластазы ($p > 0,05$). В то же время активность лизоцима в ткани мочевого пузыря более чем в 2 раза снижается при участии ЛПС, несмотря на очень малую дозу этого вещества. Такое снижение активности лизоцима под влиянием ЛПС может объяснить развитие патологических процессов в ткани мочевого пузыря, поскольку сниженная активность лизоцима благоприятствует развитию микробов и дальнейшему развитию воспаления и дистрофии.

С другой стороны, измеряя активность лизоцима в ткани мочевого пузыря, можно судить о степени ее интоксикации и это дает возможность судить об эффективности проводимого лечения.

Вывод

Активность лизоцима в ткани мочевого пузыря легко снижается при действии кишечного эндотоксина, что дает основания судить о наличии микробной интоксикации.

Литература

1. Бухарин О.В., Васильев Н.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине – Томск, 1974. – 120 с.
2. Левицкий А.П. Лизоцим вместо антибиотиков – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

Таблица

Биохимические показатели ткани мочевого пузыря крыс при действии ЛПС

Показатели	Норма	ЛПС
Белок, г/кг	19,4 ± 0,8	20,1 ± 0,7 $p > 0,3$
МДА, ммоль/кг	32,6 ± 3,1	34,1 ± 2,8 $p > 0,5$
Эластаза, мк-кат/кг	37 ± 2	42 ± 2 $p > 0,05$
Каталаза, мкат/кг	4,41 ± 0,30	4,06 ± 0,32 $p > 0,3$
Лизоцим, ед/кг	350 ± 50	160 ± 20 $p < 0,01$

3. Cunliffe R.N., Rose F.R.A.J., James P.D., Mahida I.R. Expression of antimicrobial defensin and lysozyme is induced in epithelial cells of active inflammatory bowel disease (IBD) mucosa / Abstr. 13th Int. Symp. Gnotobiol. – Stockholm, June 19-24, 1999 // Microb. Ecol. Health and Disease. – 1999. – 11, № 3. – P. 184.
4. Левин М.Я., Орехова Л.Ю., Свирина О.А. Показатели местного иммунитета полости рта у спортсменов с воспалительными заболеваниями пародонта / Пародонтология. – 2000. – № 1. – С. 19-21.
5. Лищенко В.Б. Исследование факторов местной иммунологической реактивности в диагностике и оценке эффективности лечения у пациентов с хроническим дакриоциститом / Одеський мед. журн. – 2007. – № 6 (104). – С. 46-50.
6. Несмеянова Н.Н., Соседова Л.М. Доклиническая оценка резистентности организма при воздействии токсических веществ / Клин. лабор. диагностика. – 2009. – № 2. – С. 16-19.
7. Wang X., Quinn P. (ред.) Endotoxins: Structure, Function and Recognition / Seria: Subcellular Biochemistry, vol. 53. – Springer, 2010. – 415 p.
8. Яковлев М.Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека / Физиология человека. – 2003. – т. 29, № 4. – С. 98-109.
9. Безкаравайный Б.А., Яковенко Н.А. Роль бактериальных эндотоксинов грамотрицательной флоры в индукции образования цитокинов при острых диареях у детей раннего возраста / Одеський мед. журн. – 2009. – № 4 (114). – С. 15-18.
10. Lowry O.N., Rosebrongt N.J., Porr A.L., Rendall R.J. Protein measurement soitt. Folin phenol reagent / J. Biol. Chem. – 1951. –

v. 193. – P. 265-275.

11. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А.П. Левицкий, О.В. Деньга, О.А. Макаренко [и др.] – Одесса, 2010. – 16 с.
12. Левицкий А.П., Стефанов А.В. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: метод. рекомендации – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.
13. Fox E.S., Broitman S.A., Thomas P. Bacterial endotoxins and the liver / Lab. Invest. – 1990. – v. 63, № 6. – P. 739-741.

References

1. Bukharin O. V., Vasilyev N. V. Lizotsim i ego rol v biologii i meditsine [Lysozyme and his role in biology and medicine]. Tomsk, 1974:120.
2. Levitskiy A. P. Lizotsym vmesto antibiotikov [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005:74.
3. Cunliffe R. N., Rose F. R. A. J., James P. D., Mahida I. R. Expression of antimicrobial defensin and lysozyme is induced in epithelial cells of active inflammatory bowel disease (IBD) mucosa / Abstr. 13th Int. Symp. Gnotobiol. – Stockholm, June 19-24, 1999 // Microb. Ecol. Health and Disease. – 1999. – 11, № 3. – P. 184.
4. Levin M. Ya., Orekhova L. Yu., Svirina O. A. The indices of the local immunity of oral cavity in athletes with the inflammatory diseases of periodontium. Parodontologiya. 2000; (1):19-21.
5. Lishchenko V. B. The study of the factors of the local immunological reactivity in the diagnostics and estimation of the effectiveness of treatment in patients with chronic dacryocystitis. Odeskiy medychnyy zhurnal. 2007; 6(104):46-50.
6. Nesmeyanova N. N., Sosedova L. M. The preclinical estimation of organism resistance at the affection of toxic substances. Klin. labor. diagnostika. 2009; (2): 16-19.
7. Wang X., Quinn P. (ред.) Endotoxins: Structure, Function and Recognition / Seria: Subcellular Biochemistry, vol. 53. – Springer, 2010. – 415 p.
8. Yakovlev M. Yu. The elements of endotoxin theory of human physiology and pathology. Fiziologiya cheloveka. 2003; 29(4): 98-109.
9. Bezkaravaynyy B. A., Yakovenko B. A. The role of bacterial endotoxins of gram-negative flora in the induction of the generation of cytokines at acute diarrhea in children of

early age. Odeskiy medychnyy zhurnal. 2009; 4(114):15-18.

10. Lowry O.N., Rosebrongt N.J., Porr A.L., Rendall R.J. Protein measurement soitt. Folin phenol reagent / J. Biol. Chem. – 1951. – v. 193. – P. 265-275.
11. Levitskiy A. P., Denga O. V., Makarenko O. A., Dem'yanenko S. A., Rossachanova L. N., Knava O. E. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010:16.
12. Levitskiy A. P., Stefanov A. V. Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov: metodicheskie rekomendatsii [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. Kiev, GFK, 2002:15.
13. Fox E.S., Broitman S.A., Thomas P. Bacterial endotoxins and the liver / Lab. Invest. – 1990. – v. 63, № 6. – P. 739-741.

Резюме

ЛІЗОЦИМ ЯК МАРКЕР МІКРОБНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ СІЧОВОГО МІХУРА

Пустовойт І.П., Левицький А.П.,
Кнава О.Е.

Оральні аплікації гелю ЛПС викликають достовірне зниження активності лізоциму в тканині січового міхура щурів, що може бути індикатором його мікробної інтоксикації.

Ключові слова: січковий міхур, ліпополісахарид, лізоцим.

Summary

LYSOZYME AS THE MARKER OF THE MICROBIAL INTOXICATION OF THE BLADDER

Pustovoyt I.P., Levitskiy A.P.,
Knava O.E.

Oral application of gel LPS cause a significant reduction in activity of lysozyme in bladder tissues of rats that may be an indicator of its microbial intoxication.

Keywords: bladder, lipopolysaccharide, lysozyme.

Впервые поступила в редакцию 12.12.2013 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования