

УДК 616.08:517.15:616.311

**А. В. Вальда<sup>1</sup>, М. А. Остафійчук<sup>2</sup>,  
А. П. Левицький<sup>3</sup>, д. биол. н.,  
С. А. Шнайдер<sup>3</sup>, д. мед. н.**

<sup>1</sup>Одеський національний медичинський університет<sup>2</sup>Высшее государственное учебное учреждение  
«Буковинский государственный медицинский  
университет»<sup>3</sup>Государственное учреждение «Институт  
стоматологии и челюстно-лицевой хирургии  
Национальной академии медицинских наук Украины»

### РОЛЬ ИММУНОДЕФИЦИТА В РАЗВИТИИ КОРТИКОСТЕРОИДНОГО СТОМАТИТА У КРЫС

У крыс, получавших в течение 14 дней преднизолон, в слизистой полости рта развивается дисбиоз и воспаление, которые являются следствием иммунодефицита как специфического (лимфоцитарного), так и неспецифического (лизоцимного).

**Ключевые слова:** стоматит, кортикостероид, иммунодефицит, дисбиоз, лизоцим.

**О. В. Вальда<sup>1</sup>, М. О. Остафійчук<sup>2</sup>,  
А. П. Левицький<sup>3</sup>, С. А. Шнайдер<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Одеський національний медичинський університет<sup>2</sup>Вищий державний навчальний заклад «Буковинський  
державний медичинський університет»<sup>3</sup>Державна установа «Інститут стоматології  
та щелепно-лицевої хірургії Національної академії  
медичних наук України»

### РОЛЬ ІМУНОДЕФІЦИТУ В РОЗВИТКУ КОРТИКОСТЕРОЇДНОГО СТОМАТИТУ У ЩУРІВ

У щурів, які отримували на протязі 14 днів преднізолон, в слизовій оболонці порожнини рота розвивається дисбіоз і запалення, які є наслідком імунodefіциту, як специфічного (лімфоцитарного), так і неспецифічного (лізоцимного).

**Ключові слова:** стоматит, кортикостероїд, імунodefіцит, дисбіоз, лізоцим.

**A. V. Valda<sup>1</sup>, M. A. Ostafychuk<sup>2</sup>, A. P. Levitsky<sup>3</sup>,  
S. A. Shnajder<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Odessa National Medical University<sup>2</sup>Bukovinian State University<sup>3</sup>State Establishment «The Institute of Stomatology  
and Maxillo-Facial Surgery of the National Academy of  
Medical Science of Ukraine»

### THE ROLE OF IMMUNODEFICITE IN THE DEVELOPMENT OF CORTICOSTEROID STOMATITIS IN RATS

**The aim.** To determine state of specific and nonspecific immunities and stomatitis presence in rats which received prednisolone.

**The materials and methods.** Prednisolone introduced rats by per os in dose 10 mg/kg firts 2 days and in dose 5 mg/kg following 12 days. The content of leucocytes, lymphocytes and neutrophils determined in blood. The lysozyme activity determined in serum, liver and oral mucosa. The levels of activity urease, elastase, catalase and content of malonic dialdehyde determined into oral mucosa.

**The findings.** The specific immunity (lymphocyte) and nonspecific immunity (lysozyme) decreased after prednisolone introduce into all tissues. The stomatitis and dysbiosis developed into oral mucosa rats, which received prednisolone.

**Key words:** stomatitis, corticosteroid, immunodeficite, dysbiosis, lysozym.

Побочные действия кортикостероидной терапии при длительном лечении артритов или бронхиальной астмы состоят в развитии остеопороза, гепатита и поражении слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, воспалительно-дистрофических процессах в пародонте [1-5]. В патогенезе этих осложнений существенную роль играют дисбиотические явления [6, 7], развитие которых определяется наличием иммунодефицита [8, 9].

**Цель настоящего исследования.** Определение состояния неспецифического и специфического иммунитетов у крыс, получавших кортикостероиды и у которых возникли воспалительно-дистрофические процессы в слизистой оболочке полости рта.

Состояние специфического иммунитета оценивали по уровню в крови лимфоцитов и лимфоцитарному индексу, а состояние неспецифического иммунитета – по активности лизоцима, содержанию нейтрофилов и продуктов перекисного окисления липидов.

**Материалы и методы исследования.** В работе использовали препарат преднизолон «Преднизолон-Дарница», в таблетках по 5 мг, производства ЧАО «Фармфирма «Дарница», № регистрации UA/2587/02/01.

Эксперименты были проведены на 32 белых крысах линии Вистар, характеристика которых представлена в таблице 1. Контрольную группу составляли 16 крыс, которые получали стандартный зерновой рацион вивария. Опытная группа (16 крыс) получала *per os* преднизолон: по 10 мг/кг первые 2 дня и по 5 мг/кг последующие 12 дней. Для сравнения влияния пола и возраста на биохимические показатели слизистой оболочки полости рта крысы были разделены на 2 экспе-

риментальные серии (табл. 1).

Умерщвление животных осуществляли на 15-й день под тиопенталовым наркозом (20

мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

Таблица 1

**Характеристика экспериментальных серий  
(белые крысы линии Вистар, контроль = интактные, опыт = преднизолон)**

Показатели	I серия		II серия	
	контроль	опыт	контроль	опыт
Число крыс	8	8	8	8
Пол	самки	самки	самцы	самцы
Возраст, мес.	3	3	12	12
Живая масса, г	139	140	374	381
Суточная доза преднизолона	0	10 мг/кг – 2 дн. 5 мг/кг – 12 дн.	0	10 мг/кг – 2 дн. 5 мг/кг – 12 дн.
Продолжительность опыта, дн.	14	14	14	14

В крови определяли содержание лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов и по соотношению лимфоциты/нейтрофилы рассчитывали лимфоцитарный индекс (ЛИ) [10]. В сыворотке крови определяли активность лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [11]. Активность лизоцима определяли также и в печени, учитывая ее важную роль в функциональной активности лизоцима [12].

В гомогенате слизистой щеки определяли уровень маркеров воспаления [13]: содержание

малонового диальдегида (МДА) и активность эластазы. В слизистой определяли активность уреазы (показатель микробного обсеменения) [14], активность лизоцима [11] и по соотношению их относительных активностей рассчитывали степень дисбиоза по А. П. Левицкому [14]. О состоянии антиоксидантной системы слизистой судили по активности каталазы [13] и по антиоксидантно-прооксидантному индексу АПИ [13].

Результаты исследований подвергали стандартной статобработке.

Таблица 2

**Показатели специфического (Л и ЛИ) и неспецифического (лизоцим) иммунитета у крыс, получавших преднизолон**

Показатели	Контроль n=16	Опыт n=16
Кровь		
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	14,4 $\pm$ 0,6	16,1 $\pm$ 0,5 p<0,05
Лимфоциты (Л), $\times 10^9/\text{л}$	8,34 $\pm$ 0,5	5,21 $\pm$ 0,4 p<0,01
Нейтрофилы (Н), ___	4,95 $\pm$ 0,3	9,80 $\pm$ 0,4 p<0,01
Лимфоцитарный индекс (Л/Н)	1,68 $\pm$ 0,11	0,53 $\pm$ 0,03 p<0,01
Сыворотка крови		
Лизоцим, ед/л	143 $\pm$ 8	103 $\pm$ 7 p<0,05
Печень		
Лизоцим, ед/кг	116 $\pm$ 10	53 $\pm$ 7 p<0,01

**Результаты и их обсуждение.** В табл. 2 представлены результаты определения лейкоцитов крови и активности лизоцима в сыворотке и в печени. Из этих данных видно, что введение преднизолонa достоверно увеличивает содержание лейкоцитов за счет двукратного увеличения числа нейтрофилов. При этом в 1,5 раза снижается содержание лимфоцитов и более чем в 3 раза – лимфоцитарный индекс. Это может свиде-

тельствовать об угнетении специфического иммунитета под влиянием преднизолонa.

Активность лизоцима достоверно снижается и в сыворотке, и в печени крыс, получавших преднизолон, что свидетельствует о снижении уровня этого звена неспецифического иммунитета.

В табл. 3 представлены результаты определения в слизистой щеки крыс ряда биохимических показателей. Видно, что в обеих сериях

опытов наблюдается достоверное увеличение уровня маркеров воспаления (МДА и эластазы),

что свидетельствует о развитии воспаления (стоматита).

Таблица 3

### Биохимические показатели слизистой щеки у крыс, получавших преднизолон

Показатели	I серия		II серия	
	контроль n=8	опыт n=8	контроль n=8	опыт n=8
МДА, ммоль/кг	32,6±1,2	44,7±3,9 p<0,01	10,2±1,6	10,0±1,1 p<0,05
Эластаза, нкат/кг	44±3	55±4 p<0,05	33±2	43±2 p<0,05
Уреаза, мк-кат/кг	0,59±0,05	0,68±0,04 p>0,05	1,11±0,31	1,65±0,29 p>0,05
Лизоцим, ед/кг	440±50	130±50 p<0,01	194±20	84±10 p<0,01
Каталаза, ммоль/кг	9,1±0,3	6,9±0,3 p<0,01	5,6±0,5	5,2±0,5 p>0,3
АПИ	2,73±0,13	1,54±0,10 p<0,01	5,49±0,41	3,25±0,29 p<0,05
Степень дисбиоза	1,00±0,12	3,83±0,27 p<0,01	1,00±0,15	3,47±0,24 p<0,01

У крыс, получавших преднизолон, наблюдается явная тенденция к росту активности уреазы, а следовательно увеличению микробной обсемененности. Возможной причиной этого может быть резкое (в 2-3,5 раза) снижение активности лизоцима.

Активность каталазы достоверно снижается лишь в I серии опытов, тогда как индекс АПИ достоверно снижается в обеих сериях опытов. Эти данные можно расценивать как ослабление антиоксидантного потенциала слизистой, возможно, необходимого для увеличения уровня свободно-радикального окисления и образования бактерицидных веществ перекисной природы.

Введение преднизолона значительно (в 3,5-3,8 раза) увеличивает степень дисбиоза в слизистой полости рта, что может быть существенной причиной развития стоматита.

Полученные нами данные дают основание рекомендовать для профилактики кортикостероидного стоматита использовать антидисбиотические средства.

**Выводы.** 1. Введение преднизолона снижает уровень специфического (лимфоцитарного) и неспецифического (лизоцимного) иммунитета.

2. Введение преднизолона вызывает развитие в слизистой полости рта дисбиоза и на этой основе – стоматита.

3. Для профилактики кортикостероидного стоматита, по-видимому, целесообразно использовать антидисбиотические средства.

#### Список литературы

1. **Состояние** печени крыс с преднизолоновым иммунодефицитом / В. Л. Васюк, А. И. Гоженко, А. П. Левицкий [и др.] // Journal of Health Sciences. – 2014. – т. 04, № 08. – С. 181-188.

2. **Гиперкортицизм** и ожирение / Н. А. Кравчун, Л. Г. Полозова, С. С. Попова [и др.] // Международный эндокринологический журнал. – 2014. – № 2(58). – С. 81-84.

3. **Генделека Г. Ф.** Стероидный диабет. Особенности диагностики и лечения / Г. Ф. Генделека, Е. Н. Павловская // Вісник морської медицини. – 2004. – № 1(24). – С. 85-87.

4. **Голованова Н. Ю.** Стероидный остеопороз при диффузных болезнях соединительной ткани и системных васкулитах у детей / Н. Ю. Голованова, Г. А. Лыскина, А. Г. Ильин // Российский педиатрический журнал. – 1998. – № 3. – С. 8-10.

5. **Stolyar V.** Вплив полівалентного орального гелю на біохімічні показники дисбіозу і запалення в яснах шурів з преднізолонним пародонтитом / V. Stolyar, A. Borysenko, A. Levitsky // Journal of Health Sciences. – 2014. – т. 04, № 02. – С. 257-268.

6. **Левицкий А. П.** Взаимосвязь дисбактериоза и стоматологических заболеваний у детей (обзор литературы) / А. П. Левицкий, О. Э. Рейзвих // East European Scientific Journal (Wschodnioeuropejskie Czasopismo Naukowe). – 2016. v. 1, № 5(9). – Р. 99-103.

7. **Микробиологические** и иммунологические характеристики дисбиотических нарушений биотопов слизистых оболочек респираторного и урогенитального трактов / Е. А. Воробаева, С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин [и др.]. // Вестник РАМН. – 2006. – № 1. – С. 3-5.

8. **Мельников О. Ф.** Местный иммунитет и концепция диагностики иммунной недостаточности на основе определения уровня защитных белков в секретах / О. Ф. Мельников, Д. Д. Заболотная // Сучасні медичні технології. – 2009. – № 2. – С. 37-42.

9. **Мелехов С. В.** Состояние местного иммунитета и микробиоценоза полости рта у больных хроническим генерализованным пародонтитом / С. В. Мелехов, Н. В. Колесникова, Е. С. Овчаренко // Пародонтология. – 2013. – т. 18, № 1 (66). – С. 3-9.

10. **Базарнова М. А.** (ред.). Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 1 / М. А. Базарнова – К.: Вища школа, 1981. – С. 55.

11. **Левицкий А. П.** Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

12. **Маянский Д. Н.** Влияние лизоцима на резистентность гепатоцитов / Д. Н. Маянский, С. Н. Кутина, Э. Г. Щербакова // Антибиотики и химиотерапия. – 1988. – т. 33, № 2. – С. 128-131.

13. **Биохимические** маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Денга, О. А. Макаренко [и др.] – Одесса: КП ОГТ, 2010. – 16 с.

14. **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.

#### REFERENCES

1. **Vasyuk V. L., Gozhenko A. I., Levitsky A. P. i dr.** State of the rats liver with prednisolone immunodeficiency. *Journal of Health Sciences*. 2014; 4(8): 181-188.

2. **Kravchun N. A., Polozova L. G., Popova S. S. i dr.** Cushing and obesity. *Mezhdunarodnyy endokrinologicheskij zhurnal*. 2012; 2(58): 81-84.

3. **Gendeleka G. F., Pavlovskaja E. N.** The steroid diabet. The peculiarity of diagnostic and therapy. *Visnik morskoї meditsini*. 2004; 1(24): 85-87.

4. **Golovanova N. Yu., Lyskina G. A., Ilyn A. G.** Steroid osteoporosis in diffuse connective tissue diseases and systemic vasculitis in children. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 1998; 3: 8-10.

5. **Stolyar V., Borysenko A., Levitsky A.** The effect of polyvalent oral gel on biochemical parameters of dysbiosis and gum inflammation in the rats with prednisolone-induced periodontitis. *Journal of Health Sciences*. 2014; 04(02): 257-268.

6. **Levitsky A. P., Reizvikh O. E.** The correlation of dysbiosis and stomatological diseases in children (review). *East European Scientific Journal (Wschodnioeuropejskie Crasopismo Nankowe)*. 2016; 1(5(9)): 99-103.

7. **Voropaeva E. A., Afanasev S. S., Aleshkin V. A. i dr.** The microbiological and immunological refernces of dysbiotic disturbances of mucosa of respirator and urogenital tracts. *Vestnik RAMN*. 2006; 1: 3-5.

8. **Melnikov O. F., Zabolotnaya D. D.** Local immune system and diagnostics concept of immune deficiency on the basis of determining the level of protective proteins in the secretions. *Suchasni medychni tekhnologii*. 2009; 2: 37-42.

9. **Melekhov S. V., Kolesnikova N. V., Ovcharenko E. S.** The local immunity and microbiocenose states of oral cavity in ill with the chronic general periodontitis. *Parodontologiya*. 2013; 18(1(66)): 3-9.

10. **Bazarnova M. A.** Rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike [Manual of Clinical Laboratory Diagnostics]. *Ch. 1. Kiyev, Vyshcha shkola*; 1981: 55.

11. **Levitsky A. P.** *Lizotsym vmesto antibiotikov* [Lysozyme instead of antibiotics]. *Odessa, KP OGT*, 2005: 74.

12. **Maianskiy D. N., Kutina S. N., Shcherbakova E. G.** Influence of lysozyme on hepatocytes resistance. *Antibiotiki i khimioterapiia*. 1988; 33(2): 128-131.

13. **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.

14. **Levitsky A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. i dr.** 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.

Поступила 20.02.18

