

В.В. Шухтін, А.І. Гоженко, А.П. Левицький

Патогенез уражень шкіри у щурів з імунодефіцитним станом

Вивчали стан шкіри в умовах імунодефіциту, який моделювали за допомогою циклофосфану. Останній викликав у крові розвиток двох фаз патологічного процесу: перша – лейкопенія, зумовлена дією цитостатика, і друга – гіперлейкоцитарна, спричинена ураженням печінки та спленомегалією. У шкірі розвивався дисбіоз, особливо, у другу фазу, запалення і знижується рівень захисних систем.

Ключові слова: імунодефіцитний стан, лейкоцитоз, шкіра, дисбіоз, запалення, печінка, селезінка.

ВСТУП

В основі механізмів патологічних процесів, що виникають при імунодефіцитах і часто призводять до летального результату, може бути розвиток бактеріальної інфекції і виникнення дисбіозу [1, 3, 14]. Встановлено, що майже 60 % хворих на СНІД вмирають від туберкульозу [9]. Гіперендотоксинемія, яка при цьому виникає, за рахунок значного підвищення вмісту в крові кишкового ендотоксину (ліпополісахариду) зумовлює системне ураження органів і тканин макроорганізму [12, 16]. Шкіра не є винятком і запально-дистрофічні процеси нерідко спостерігаються у хворих на СНІД [4, 7] та при кишковому дисбіозі [11, 13, 15].

Імунодефіцитні стани, як відомо, розвиваються і при багатьох інфекційних захворюваннях, особливо після курсу антибіотикотерапії [3].

Метою нашого дослідження було вивчення за допомогою біохімічних показників стану шкіри щурів в умовах експериментального імунодефіциту.

МЕТОДИКА

Дослідження проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар віком 10 міс, масою 280 ± 12 г).

© В.В. Шухтін, А.І. Гоженко, А.П. Левицький

Імунодефіцитний стан моделювали двократним (з інтервалом 2 доби) внутрішньоочеревинним введенням препарату цитостатика циклофосфану в дозі 45 мг/кг на одну ін'єкцію [5].

Через 7 та 14 діб щурів піддавали етаназії під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) тотальним кровопусканням із серця, виділяли селезінку, висікали частини шкіри на бічній поверхні тулуба, де попередньо смух був поголений, а також отримували кров для аналізу її клітинного складу і сироватку крові для біохімічних досліджень.

У гомогенаті шкіри (50 мг/мл 0,05 моль/л тріс-НСІ-буфера рН 7,5) визначали маркери запалення: активність еластази [8], вміст малонового діальдегіду (МДА), а також вміст гіалуринової кислоти [2]. Крім того, досліджували активність антиоксидантного ферменту каталази [8] і анти- – прооксидантний індекс (АПІ), що являє собою співвідношення активності каталази та концентрації МДА [8].

Ступінь мікробного обсіменіння шкіри оцінювали за активністю ферменту уреазу [10], стан неспецифічного імунітету – за активністю лізоциму [10], за співвідношенням відносних активностей уреазу та лізоциму розраховували ступінь дисбіозу [10].

У сироватці крові визначали печінкові маркери: концентрацію білірубину [6] та активність лужної фосфатази (ЛФ) [8]. Ор-

ганний індекс селезінки розраховували за відношенням сирової маси органа в міліграмах до живої маси шурів у грамах.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У табл. 1 представлені результати визначення клітинного складу лейкоцитів крові шурів з

імунодефіцитним станом. Слід відмітити, що через 7 діб з початку дослідження загальне число лейкоцитів знижується більш ніж в 3 рази, однак через 14 діб воно значно збільшується, перевищуючи вдвічі відповідний показник контролю. Лейкопенія, що спостерігається через 7 діб дослідження, зумовлена, в основному, зниженням кількості лімфоцитів

Таблиця 1. Клітинний склад крові ($\times 10^9/\text{л}$) шурів, що отримували циклофосфан ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Лейкоцити	Лімфоцити	Нейтрофіли		Моноцити	Еозинофіли
			сегментоядерні	палочкоядерні		
Норма	14,0 ± 2,3	7,8 ± 0,6	3,6 ± 0,4	0,20 ± 0,06	1,40 ± 0,10	0,98 ± 0,10
Імунодефіцит						
7 діб	4,5 ± 1,2*	2,1 ± 0,2*	1,6 ± 0,2*	0,11 ± 0,02	0,51 ± 0,06*	0,24 ± 0,06*
14 діб	29,0 ± 6,4*	11,2 ± 1,0*	10,3 ± 0,7*	1,16 ± 0,15*	3,89 ± 0,19*	1,44 ± 0,38

Примітка. Тут і в табл. 2–5 * $P < 0,05$ – достовірність різниці з 1-ю групою.

(в 3,7 раза), нейтрофілів (в 2,2 раза) і моноцитів (в 2,8 раза).

Через 14 діб досліду, коли розвивається гіперлейкоцитоз, найбільше збільшуються кількість моноцитів (в 7,6 раза), еозинофілів (у 6 разів), лімфоцитів (в 5,3 раза) та нейтрофілів (у 7 разів).

Розвиток лейкопенії після введення циклофосфану є зрозумілим, оскільки він є цитостатиком. Що ж стосується гіперлейкоцитозу, на нашу думку, він розвивається у результаті ураження печінки, про що свідчить достовірне збільшення в сироватці крові вмісту білірубину і активності лужної фосфатази (табл. 2). В результаті ураження печінки розвивається печінкова спленомегалія, тобто більш ніж дворазове підвищення органного індексу селезінки (див. табл. 2).

У табл. 3 представлені результати визначення в шкірі шурів з імунодефіцитним станом підвищення рівня маркера запалення – активності еластази, однак другий маркер запалення, МДА, що є кінцевим продуктом переокисного окиснення ненасичених жирних кислот, практично не змінився. Що ж стосується вмісту гіалуронової кислоти, яка є міжклітинним «цементом», то її вміст при імунодефіцитному стані хоча і знижується, однак недостовірно ($P > 0,05$; див. табл. 3).

Про достовірне зниження при імунодефіцитному стані рівня антиоксидантного захисту шкіри свідчать результати визначення активності каталази та АПІ (табл. 4).

Нарешті, найбільш цікаві, на наш погляд, результати представлені в табл. 5, з якої видно, що при імунодефіцитному стані різко

Таблиця 2. Вміст печінкових маркерів у сироватці крові та органний індекс селезінки у шурів з імунодефіцитним станом ($M \pm m$; $n=6$)

Група тварин	Білірубін, мкмоль/л	Лужна фосфатаза, мккат/л	Індекс селезінки, мг/г
Норма	4,17 ± 0,27	2,20 ± 0,33	2,88 ± 0,26
Імунодефіцит			
7 діб	4,03 ± 0,14	2,34 ± 0,33	2,31 ± 0,18
14 діб	5,58 ± 0,54*	3,22 ± 0,52	5,57 ± 0,32*

Таблиця 3. Маркери запалення та вміст гіалуронової кислоти в шкірі щурів з імунодефіцитним станом (M±m; n=6)

Група тварин	Еластаза, мккат/кг	Малоновый діальдегід, ммоль/кг	Гіалуронова кислота, мг/кг
Норма	10,8 ± 0,9	7,95 ± 0,25	274,4 ± 38,2
Імунодефіцит			
7 діб	15,2 ± 1,1*	7,82 ± 0,38	232,1 ± 25,4
14 діб	16,5 ± 1,0*	7,86 ± 0,47	233,1 ± 12,21

збільшується активність уреазы, яка свідчить про збільшення в 7–12 разів мікробного обміненія шкіри. При одночасному зниженні активності лізоциму (особливо у другій термін – в 2,4 раза) це дає різке збільшення ступеня дисбіозу в шкірі щурів з імунодефіцитом: в 5,8 раза через 7 діб і в 16,3 раза через 14 діб.

Таким чином, можна зробити висновок,

що при імунодефіцитному стані розвиваються дисбіотичні явища в шкірі, які, очевидно, зумовлюють виникнення запально-дистрофічних процесів. Ці результати дають певні підстави на перспективу використання антидисбіотичних засобів (про- або пребіотиків), а також гепатопротекторів як лікувально-профілактичних препаратів при імунодефіцитах.

Таблиця 4. Активність каталази та анти- – прооксидантний індекс (АПІ) в шкірі щурів з імунодефіцитним станом (M±m; n=6)

Група тварин	Каталаза, мккат/кг	АПІ, од.
Норма	0,66 ± 0,05	0,83 ± 0,06
Імунодефіцит		
7 діб	0,49 ± 0,06*	0,62 ± 0,07*
14 діб	0,48 ± 0,07*	0,61 ± 0,07*

ВИСНОВКИ

1. Циклофосфан викликає в крові розвиток двох фаз патологічного процесу: перша – лейкопенічна, зумовлена дією цитостатика, і друга – гіперлейкоцитарна, спричинена ураженням печінки та спленомегалією.

2. При експериментальному імунодефіцитному стані в шкірі розвивається дисбіоз, який, імовірно, зумовлює виникнення запально-дистрофічних процесів у цій тканині.

3. Встановлення ролі дисбіозу у розвитку патологічних процесів у шкірі при імунодефі-

цитному стані ставить на порядок денний вивчення лікувально-профілактичних властивостей при цій патології антидисбіотичних і гепатопротекторних препаратів.

В.В. Шухтін, А.І. Гоженко, А.П. Левицький

ПАТОГЕНЕЗ ПОРАЖЕНИЙ КОЖИ У КРЫС С ИММУНОДЕФИЦИТНЫМ СОСТОЯНИЕМ

Изучали состояние кожи в условиях иммунодефицита, который моделировали с помощью циклофосфана. Последний вызывал в крови развитие двух фаз патологического процесса: первая – лейкопеническая, обусловленная действием цитостатика, и вторая – гиперлейкоцитарна,

Таблиця 5. Активність уреазы, лізоциму та ступінь дисбіозу в шкірі щурів з імунодефіцитним станом (M±m; n=6)

Група тварин	Уреаза, мккат/кг	Лізоцим, од/кг	Ступінь дисбіозу, ум.од.
Норма	0,015 ± 0,008	134 ± 10	1,0 ± 0,1
Імунодефіцит			
7 діб	0,111 ± 0,019*	103 ± 14	5,8 ± 0,8*
14 діб	0,172 ± 0,024*	55 ± 15*	16,3 ± 2,9*

обусловленная поражением печени и спленомегалией. В коже развивается дисбиоз, особенно во вторую фазу, воспаление и снижается уровень защитных систем. Ключевые слова: иммунодефицитное состояние, лейкоцитоз, кожа, дисбиоз, воспаление, печень, селезенка.

V.V. Shukhtin, A.I. Gozhenko, A.P. Levitskiy

PATHOGENESIS OF SKIN INJURY IN RATS WITH IMMUNODEFICIT

We investigated the skin condition in rats with immunodeficit induced by cyclophosphane. Cyclophosphane induced in the blood the development of two phases pathological process. The first leukopenic phase is mediated by the action of cytostatics, and the second hyperleucocytic phase is induced by liver injury and splenomegalia. Dysbiosis and inflammation are developed in the skin, especially during the second phase.

Institute of medicine of transport, Odesa

Dental Institute, Odesa

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алешина Р.М. Синдром вторичной иммунной недостаточности: клинико-лабораторная характеристика // Клін. імунологія, алергологія, інфектологія. – 2007. – № 2 (107). – С. 17–20.
2. Асатиани В.С. Новые методы биохимической фотометрии. – М.: Наука, 1965. – 298 с.
3. Барановский А.Ю., Кондрашина Э.А. Дисбактериоз кишечника. – М.: Питер, 2007. – 240 с.
4. Волянский Ю.Л., Телепнева Л.Г., Васильев Н.В. ВИЧ-инфекция (факты и гипотезы). – Харьков: Основа, 1993. – 224 с.
5. Григорьян А.С., Воложин А.И., Шумтикова Е.В. Экспериментальное обоснование применения радиопротектора индометацина для купирования воспаления в

пародонте при иммунодефицитном состоянии // Патол. физиология. – 1998. – № 3. – С. 15–18.

6. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике. – Изд. 3-е. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
7. Запорожан В.М., Аряев М.Л. ВІЛ-інфекція і СНІД. – К.: Здоров'я, 2004. – Вид. 2-ге. – 636 с.
8. Левицкий А.П., Деньга О.В., Макаренко О.А. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. Рекомендации. – Одесса, 2010. – 16 с.
9. Онищенко Г.Г. Эпидемиологическое благополучие России // ЖМЭИ. – 2013. – № 1. – С. 42–51.
10. Патент на корисну модель 43140 Україна, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А.П., Деньга О.В., Селіванська І.О. – № u200815092. – Заявл. 26.12.08; опубл. 10.08.09, Бюл. № 15.
11. Полеско И.В., Бутов Ю.С., Малиновская В.В. Роль эндотоксинемии в формировании десквамативных поражений кожи // Рос. журн. кожных и венер. болезней. – 2009. – № 3. – С. 38–41.
12. Яковлев М.Ю. «Эндотоксиновая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных // Успехи соврем. биохимии. – 2003. – 123, № 1. – С. 31–40.
13. Drake D.R., Brogden K.A., Dawson D.V. Antimicrobial lipids at the skin surface // J. Lipid Res. – 2008. – 49, № 1. – P. 4–11.
14. Khoshini R.A., Dai Sun-Chuan, Lezcano S. A systematic review of diagnostic tests for small intestinal bacterial overgrowth // Dig. Diseases and Sci. – 2008. – 33, № 6. – P. 1443–1454.
15. Moro J., Arslanoglu S., Stahl B. A mixture of prebiotic oligosaccharide reduces the incidence of atopic dermatitis during the first six months of age // Arch. Dis. Child. – 2006. – 91, № 10. – P. 814–819.
16. Wang X., Quinn P. Endotoxins: Structure, Function and Recognition // Seria: Subcellulare Biochemistry. – 2010. – 53. – 415 p.

*Укр НДІ медицини транспорту, Одеса;
ДУ «Ін-т стоматології НАМН», Одеса
E-mail: medtrans2@rambler.ru*

*Матеріал надійшов
до редакції 08.04.2013*