

БЕЛКИ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕРПЕТИЧЕСКОМ СТОМАТИТЕ

Светлана Эльмировна Реук*, Наталья Александровна Терехина

Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера, г. Пермь, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-854

Цель. Провести сравнительный анализ содержания белков острой фазы воспаления и белков проницаемости в тканях слизистой оболочки полости рта и плазме крови при экспериментальном герпетическом стоматите.

Методы. В гомогенатах слизистой оболочки полости рта и плазме крови 30 крыс при экспериментальном герпетическом стоматите определяли содержание общего белка, С-реактивного белка, орозомукоида, α_1 -антитрипсина, преальбумина, альбумина и микроальбумина.

Результаты. При экспериментальном герпетическом стоматите в плазме крови крыс увеличивается содержание С-реактивного белка, орозомукоида и α_1 -антитрипсина. В гомогенатах герпес-инфицированной стороны слизистой оболочки полости рта крыс содержание изученных белков достоверно возрастает в 1,5–3,5 раза по сравнению с контролем. Концентрация общего белка, орозомукоида, преальбумина и микроальбумина увеличивается не только в герпес-инфицированных тканях, но и в слизистой оболочке полости рта противоположной стороны, что свидетельствует об изменении транспорта через гистогематический барьер, в первую очередь низкомолекулярных белков, нарушениях проницаемости клеточных мембран тканей пародонта и целостности структур слизистой оболочки ротовой полости.

Вывод. Герпетическое инфицирование полости рта сопровождается увеличением содержания белков острой фазы воспаления в герпес-инфицированной и внешне здоровой противоположной стороне слизистой оболочки полости рта крыс; изменение содержания не только острофазовых, но и низкомолекулярных транспортных белков позволяет оценить нарушение проницаемости мембран слизистой оболочки полости рта при герпетическом стоматите.

Ключевые слова: белки острой фазы воспаления, герпетический стоматит.

PROTEINS OF THE ORAL MUCOSA IN EXPERIMENTAL HERPETIC STOMATITIS

S.E. Reuk, N.A. Terekhina

Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, Perm, Russia

Aim. To conduct a comparative analysis of acute phase proteins levels and permeability proteins in the tissues of oral mucosa and blood plasma in case of experimental herpetic stomatitis.

Methods. Levels of total protein, C-reactive protein, orosomucoid, α_1 -antitrypsin, prealbumin, albumin and microalbumin were determined in the homogenates of oral mucosa and blood plasma of 30 rats with experimental herpetic stomatitis.

Results. Levels of C-reactive protein, orosomucoid and α_1 -antitrypsin in serum of rats with experimental herpetic stomatitis are increased. In the homogenates of the rat oral mucosa, levels of the studied proteins increased significantly, by 1.5–3.5 times compared to the control levels. Total protein, orosomucoid, prealbumin, and microalbumin levels increased not only in tissues affected by herpes, but also in the oral mucosa on the opposite side, indicating alterations of histochematic barrier transport of, most importantly, low molecular weight proteins, increased cell membrane permeability and changes in oral mucosa periodontal tissue structural integrity.

Conclusion. Herpetic infection of the oral cavity is accompanied by increased levels of acute phase reactants in rat oral mucosa both on the side of oral mucosa infected by herpes and on healthy side. The level of not only acute phase proteins, but also low-molecular transport proteins allows to evaluation the alterations of oral mucosa membrane permeability in herpetic stomatitis.

Keywords: acute phase proteins, herpetic stomatitis.

В настоящее время установлено, что 85–98% всего населения планеты инфицированы одним или несколькими серотипами семейства вирусов герпеса [2, 11, 15]. Проблема герпетических инфекций на ближайшее будущее определяется как «всемирная пандемия герпетической инфекции», введён термин «герпетическая болезнь», подчеркивающий политропность вирусов герпеса [11, 15].

Избирательная способность вируса простого герпеса (ВПГ) к первичной инвазии в клетки эпидермиса и слизистых оболочек определяет высокую вирулентность герпетической инфекции. Белковый спектр тканей и жидкостей полости рта физиологически

связан с гомеостазом, поэтому многие белки содержатся в ротовой жидкости в идентичной плазме крови концентрации [1].

При герпетической инфекции изменяется белковый состав слезы и ротовой жидкости [2–4, 6–9]. Изучение белкового спектра биологических жидкостей и тканей позволяет глубже понять закономерности взаимодействия ВПГ с клеткой. Необходим поиск новых маркёров ранней неинвазивной диагностики герпетической инфекции для быстрой оценки и последующей эффективной терапии воспаления слизистой оболочки полости рта (СОПР) [9].

Цель работы – провести сравнительный анализ содержания белков острой фазы воспаления (БОФ) и белков проницаемости в

Содержание белков в слизистой оболочке полости рта (мг/г влажной ткани) и плазме крови (мг/дл) при экспериментальном герпетическом стоматите у крыс

Белок	Слизистая оболочка полости рта			Плазма крови	
	Контроль	Правая (герпес-инфицированная) сторона	Левая сторона	Контроль	Герпес-инфицированные животные
Общий белок	47,00±3,36	45,30±6,29	73,06±9,52*	7846±313	7681±333
СРБ	0,07±0,011	0,158±0,015*	0,068±0,013	0,364±0,067	1,012±0,081*
Орозомукоид	1,7±0,26	6,15±0,27*	4,85±0,42*	16,60±2,89	40,00±6,67*
α_1 -Антитрипсин	3,7±0,85	8,20±0,8*	5,20±0,51	24,7±3,65	59,80±11,5*
Преальбумин	16,35±0,59	24,45±2,52*	21,80±1,35*	40,90±2,73	31,60±2,06*
Микроальбумин	0,051±0,008	0,129±0,02*	0,097±0,018*	—	—
Альбумин	—	—	—	4446±161	4001±152

Примечание: * $p < 0,05$ по сравнению с контролем; СРБ — С-реактивный белок.

тканях СОПР и плазме крови при экспериментальном герпетическом стоматите.

Экспериментальная часть работы выполнена на 30 белых нелинейных крысах с массой тела 180–200 г, которые содержались на стандартном рационе вивария. Крысы были разделены на две группы. Первую группу составили 15 здоровых животных (контроль). Опытной группе крыс после анестезии инъекционной иглой скарифицировали СОПР щеки, губы с правой стороны и инстиллировали содержащую вирус жидкость, втирая её в течение 10 с. Левая сторона СОПР оставалась интактной.

Через 2–3 дня после инфицирования на правой стороне СОПР крыс наблюдали появление отёчности, гиперемии, небольших эрозивных изменений, тогда как проявлений воспаления на левой стороне СОПР не было.

На 7-й день эксперимента крыс подвергали эвтаназии под эфирным наркозом путём мгновенной декапитации. Ткани СОПР взвешивали, помещали в охлаждённые ступки и растирали с кварцевым песком. Гомогенаты тканей разводили холодным 0,9% раствором натрия хлорида в 50 раз, центрифугировали, в надосадочной жидкости определяли содержание белков.

Эксперименты на лабораторных животных проведены с соблюдением принципов Хельсинской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2000).

В гомогенате герпес-инфицированной и противоположной сторон СОПР и плазме крови крыс определяли содержание С-реактивного белка (СРБ), кислого α_1 -гликопротеина (орозомукоида), α_1 -антитрипсина, преальбумина спектрофотометрически турбидиметрическим методом по [12], микроальбумина по [10], общего бел-

ка биуретовым методом по [14], альбумина колориметрическим методом по [13].

Содержание общего белка в гомогенате СОПР здоровых крыс составило 47,0±3,36 мг/г влажной ткани. При экспериментальном герпетическом стоматите в СОПР на стороне инфицирования уровень белка статистически значимо не изменялся. Однако в гомогенатах СОПР крыс противоположной инфицированию стороны выявлено увеличение содержания общего белка в 1,5 раза ($p < 0,05$, табл. 1).

Содержание преальбумина в ткани СОПР здоровых крыс оказалось наибольшим — 16,35±0,59 мг/г влажной ткани, а наименьшим — содержание микроальбумина и СРБ (см. табл. 1).

При экспериментальном герпетическом стоматите в гомогенатах герпес-инфицированной стороны СОПР крыс содержание всех БОФ статистически значимо увеличивалось, при этом наиболее значительно возрастала концентрация орозомукоида — в 3,5 раза по сравнению с контролем (табл. 1). Содержание других белков в гомогенатах СОПР повышалось в меньшей степени: СРБ, α_1 -антитрипсина и микроальбумина — в 2–2,5 раза, преальбумина — в 1,5 раза ($p < 0,05$). В гомогенатах тканей противоположной инфицированию стороны СОПР выявлено повышение содержания только орозомукоида, преальбумина и микроальбумина в 1,5–3 раза, тогда как уровень α_1 -антитрипсина и СРБ статистически значимо не менялся.

В плазме крови крыс при герпетическом стоматите увеличивалось содержание α_1 -антитрипсина, орозомукоида и СРБ — в 2,5–3 раза, а уровень общего белка и альбумина статистически значимо не менялся по сравнению с контролем.

Изменение белкового спектра плазмы крови при герпетическом стоматите свидетельствует об активации синтеза в печени БОФ в ответ на герпетическое инфицирование. Уровень преальбумина в плазме крови как отрицательного реактанта воспаления и маркера недостаточности белкового питания при герпетическом изъязвлении СОПР статистически значимо снижался (см. табл. 1).

В ходе эволюции ВПП выработал особые механизмы внутриклеточного инфицирования: перестраивает обмен веществ, увеличивает активность ферментов для построения своей дезоксирибонуклеиновой кислоты и синтеза вирус-специфических белков, ускоряет распад генетических структур клетки [2]. В участках инстиляции вирус активно реплицирует, поражённые клетки изъязвляются, при деструкции клеток белки СОПР выходят в ротовую жидкость [9].

СРБ служит неспецифическим маркером воспаления и повреждения тканей, изменяет свою концентрацию в биологических жидкостях в течение нескольких часов, характеризует острую фазу воспалительного процесса. Период полураспада орозомукоида составляет несколько дней, поэтому этот белок является маркером подострого воспаления. Комбинированную оценку уровня СРБ и орозомукоида в биологических жидкостях можно использовать для контроля воспаления: в раннем периоде острофазовой реакции возрастает только содержание СРБ, а в более поздние сроки увеличиваются уровни обоих белков, но преимущественно орозомукоида. Изменение содержания БОФ в тканях клинически интактной стороны свидетельствует о наличии субклинического воспаления внешне здорового участка СОПР и необходимости проведения терапии всей СОПР.

Коэффициент проницаемости СОПР/плазма крови при экспериментальном стоматите практически не меняется для СРБ, орозомукоида и α_1 -антитрипсина, а для микроальбумина и преальбумина увеличивается в 2–3 раза. Основное значение для проницаемости гистогематического барьера тканей полости рта имеет молекулярная масса транспортируемого вещества [1]. При воспалении СОПР нарушается целостность структур тканей и изменяется транспорт через гистогематический барьер, в первую очередь низкомолекулярных белков.

Ранее было показано, что при остром герпетическом стоматите и герпетическом

кератите у людей значительно повышается содержание БОФ в плазме крови, ротовой жидкости и слезе [6–9]. В этих жидкостях при герпетическом инфицировании меняется уровень БОФ в зависимости от клинической формы офтальмогерпеса и степени тяжести воспаления тканей полости рта [6–9].

Заслуживает внимания и тот факт, что ВПП изменяет содержание БОФ в тканях независимо от места поражения: в тканях роговицы контрлатерального глаза при экспериментальном кератите [5] — так же, как и в неинфицированной СОПР при экспериментальном стоматите у крыс. Таким образом, стратегия ВПП при внутриклеточной репродукции остаётся единой и при герпетическом стоматите, и при офтальмогерпесе.

ВЫВОДЫ

1. Герпетическое инфицирование полости рта сопровождается увеличением содержания белков острой фазы воспаления в герпес-инфицированной и внешне здоровой противоположной стороне слизистой оболочки полости рта крыс.

2. Изменение содержания в тканях острофазовых, но и низкомолекулярных транспортных белков позволяет оценить нарушение проницаемости мембран слизистой оболочки полости рта при герпетическом стоматите.

ЛИТЕРАТУРА

1. Петрович Ю.А., Подорожная Р.П., Киченко С.М. Гематосаливарный барьер // Рос. стомат. ж. — 2004. — №4. — С. 39–45. [Petrovich Yu.A., Podorozhnaya R.P., Kichenko S.M. Hematosalivary barrier. *Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal*. 2004; 4: 39–45. (In Russ.)]
2. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Ферментная стратегия вируса простого герпеса // Успехи соврем. биол. — 1990. — Т. 51, №1. — С. 77–89. [Petrovich Yu.A., Terekhina N.A. Enzyme strategy of herpes simplex virus. *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2004; 4: 39–45. (In Russ.)]
3. Петрович Ю.А., Терехина Н.А. Биохимия слезы и её изменения при патологии // Вопр. мед. хим. — 1990. — Т. 36, №3. — С. 13–18. [Petrovich Yu.A., Terekhina N.A. Tear biochemistry and its pathology. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1990; 36 (3): 13–18. (In Russ.)]
4. Терехина Н.А., Петрович Ю.А., Манухин И.Б. Энзимология и неинвазивная диагностика герпес-вирусной и папилломавирусной инфекции // Клин. лаб. диагност. — 2001. — №11. — С. 10. [Terekhina N.A., Petrovich Yu.A., Manukhin I.B. Enzymology and non-invasive diagnosis of herpes and human papillomavirus infection. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2001; 11: 10. (In Russ.)]
5. Терехина Н.А., Петрович Ю.А., Реук С.Э. Исследование патогенеза офтальмогерпеса на основе анализа ферментов тканей и жидкостей глаза // Пат. физиол. и эксперим. терап. — 2008. — №2. — С. 16–18. [Terekhina N.A., Petrovich Yu.A., Reuk S.E. Ophthalmic

herpes pathogenesis – the study based on enzyme analysis of tissues and eye liquids. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2008; 2: 16–18. (In Russ.)]

6. Терехина Н.А., Реук С.Э., Атаманова Т.И. Сравнительный анализ содержания церулоплазмينا в биологических жидкостях при герпетической инфекции // Казанский мед. ж. – 2013. – Т. 94, №5. – С. 752–754. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Atamanova T.I. Comparative analysis of ceruloplasmin level in biological fluids at herpes infection. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 94 (5): 752–754. (In Russ.)]

7. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А. Использование ферментного анализа слезной жидкости для прогнозирования рецидива герпетического кератита у детей // Вестн. офтальмол. – 2007. – Т. 123, №4. – С. 23–24. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Petrovich Yu.A. Use of tear enzyme assay to predict recurrent herpetic keratitis in children. *Vestnik oftal'mologii*. 2007; 123 (4): 23–24. (In Russ.)]

8. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А. Влияние вирусной инфекции на белковый и минеральный состав слезной жидкости // Клини. лаб. диагност. – 2007. – №9. – С. 75. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Petrovich Yu.A. Influence of viral infection on tear protein and mineral composition. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2007; 9: 75. (In Russ.)]

9. Терехина Н.А., Реук С.Э., Петрович Ю.А., Атаманова Т.И. Белки острой фазы воспаления в слюне детей при герпетическом стоматите и гингивостоматите //

Рос. стомат. ж. – 2010. – №4. – С. 17–19. [Terekhina N.A., Reuk S.E., Petrovich Yu.A., Atamanova T.I. Acute phase reactants in children's saliva at herpetic stomatitis and gingivostomatitis. *Rossiyskiy stomatologicheskii zhurnal*. 2010; 4: 17–19. (In Russ.)]

10. Bar J., Hod M., Erman A. et al. Microalbuminuria: prognostic and therapeutic implications in diabetic and hypertensive pregnancy // *Diabetic Med.* – 1995. – Vol. 12. – P. 649–656.

11. Chentoufi A.A., BenMohamed L. Mucosal herpes immunity and immunopathology to ocular and genital herpes simplex virus infections // *Clin. Dev. Immunol.* – 2012. – ID 149135.

12. Dati F., Shumann G., Thomas L. et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference range for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470) // *Eur. J. Clin. Chem. Biochem.* – 1996. – Vol. 34. – P. 517–520.

13. Doumas B.T., Watson W.A., Briggs H.G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green // *Clin. Chim. Acta.* – 1971. – Vol. 31. – P. 87–96.

14. Weichselbaum T.E. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1946. – Vol. 7. – P. 40–49.

15. Whitley R.J., Roizman B. Herpes simplex virus infections // *Lancet.* – 2001. – Vol. 357. – P. 1513–1518.

УДК 612.115: 615.273.53: 615.036.8: 616.151.511

АНТИАГРЕГАЦИОННАЯ АКТИВНОСТЬ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО КСАНТИНА В УСЛОВИЯХ ГИПЕРАГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ *IN VITRO*

Александр Владимирович Самородов*, Феликс Хусаинович Камиллов, Феркат Адельзянович Халиуллин, Юлия Викторовна Шабалина, Галия Амировна Тимирханова, Данияр Замирович Муратаев

Башкирский государственный медицинский университет, г. Уфа, Россия

Реферат

DOI: 10.17750/KMJ2015-857

Цель. Изучить антиагрегационную активность и эффективность влияния впервые синтезированной циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксоэтиланил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты как потенциального антиагреганта на систему гемостаза в условиях гиперагрегации тромбоцитов *in vitro*.

Методы. Экспериментальная работа выполнена на крови здоровых доноров-мужчин и 74 пациентов с диагностированным тромбозом различной локализации. Тромбоэластографию образцов цитратной крови в присутствии изучаемых веществ проводили на аппарате TEG 5000. При анализе тромбоэластограмм определяли общую тенденцию коагуляции, функциональную активность тромбоцитов и фибриногена, активность фибринолиза и физико-механические свойства образовавшихся сгустков. Проводили регистрацию аденозиндифосфат, коллаген, адреналин-индуцированной агрегации тромбоцитов. Анализ агрегатограмм осуществляли с использованием программного обеспечения AGGR. Оценивали общий характер агрегации, значение максимальной агрегации, максимальной скорости агрегации, средний размер тромбоцитарных агрегатов.

Результаты. Циклогексиламмониевая соль 2-[3-метил-7-(диоксоэтиланил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты в условиях *in vitro* проявляла антиагрегационную активность, превышающую показатели препаратов сравнения, и эффективно подавляла гиперкоагуляцию, вызванную избытком тромбина и тканевого фактора.

Вывод. Результаты проведенного исследования позволяют установить в условиях *ex vivo* потенциально высокий терапевтический эффект новой циклогексиламмониевой соли 2-[3-метил-7-(1,1-диоксоэтиланил-3)-1-этилксантинил-8-тио]уксусной кислоты при состояниях, сопровождающихся гиперагрегацией тромбоцитов.

Ключевые слова: производные 1-этилксантина, система гемостаза, антиагрегационная активность, гиперагрегация тромбоцитов.

ANTI-AGGREGANT ACTIVITY OF NEW XANTHINE DERIVATIVE UNDER CONDITIONS OF HYPERAGGREGATION OF PLATELETS *IN VITRO*

A.V. Samorodov, F.Kh. Kamilov, F.A. Khaliullin, Yu.V. Shabalina, G.A. Timirkhanova, D.Z. Muratayev
Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

Aim. To study the anti-aggregant activity and the effectiveness of firstly synthesized cyclohexilammonium salt of