

5. Тутова Г.Э., Куц П.С., Идельчик М.С., Каменская И.И. Микроб. пром., 2 (110), 11-14, 1974.
6. Хотьянович А.В., Боровков В.В., Веденева Н.А. Использование микроорганизмов в животноводстве и для защиты растений. Л., 1968.
7. Jamagishi H., Hattori T., Fumusaka G. Soil and Plant Nutr., 15, 3, 1969.
8. Ormerod J.G., Ormerod S.K., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.

Поступила 8.X.1994

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 616.31.314:577.15.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА В СЛЮНЕ БОЛЬНЫХ ПЕРИОДОНТИТОМ

А.Б.МАЖИНЯН, А.В. ГАСПАРЯН, В.Г. ТАТИНЯН

*Ереванский государственный медицинский университет, 375025
Республиканский Центр депонирования микробов ИАН
и Министерства образования и науки РА, 378510, г. Абовян*

Лизоцим - диагностика - слюна - периодонтит.

Лизоцим (мурамидаза; мукопептид N-ацетилмурамоидгидролаза, КФ 3.2.11.17) - фермент, катализирующий гидролиз β -(1-4)гликозидазной связи между N-ацетилмурамовой кислотой и N-ацетилглюкозаминном в молекуле пептидогликана клеточной стенки главным образом грамположительных бактерий [6]. Лизоцим находится почти во всех тканях и биологических жидкостях человека и создает антибактериальный барьер в организме.

Определение активности лизоцима в слюне применяется в диагностических целях. Увеличение количества лизоцима в слюне является тестом, свидетельствующим о болезни, и применяющимся при разных стоматологических заболеваниях [3-5,7,9], а также при заболеваниях верхних дыхательных путей [8] и пищеварительного тракта [1]. Одним из распространенных заболеваний зубов является периодонтит, воспаление, которое развивается между верхушкой корня зуба и стенкой зубной альвеолы в результате проникновения патогенных микроорганизмов из канала корня зуба в периодонт при пульпите, кариесе или механических повреждениях.

Целью нашей работы являлось применение лизоцим-теста для определения количества лизоцима в слюне у больных периодонтитом.

Материал и методика. Исследовали 25 человек - стоматологические больные в возрасте от 25 до 60 лет.

Слюну из полости рта отбирали в стерильные пробирки, после прополаскивания ротовой полости водой, используя механическую стимуляцию. Слюнную жидкость из зубо-десневой кармана пораженных зубов отбирали с помощью стерильной турунды (ватный тампон, 12 мм). Последнюю вносили в зубо-десневой карман окружности пораженного зуба, оставили 3-4 мин. Турунда впитывала около 0,1 мл слюнной жидкости.

Количество лизоцима в смешанной слюне и турундах определяли после их 10-20-кратного разведения в 1/15 М фосфатном буфере, pH 6,5.

Определение количества и активности лизоцима проводили по следующей методике, разработанной нами.

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА

В качестве стандартной бактериальной культуры, с целью лизирования клеточной стенки лизоцимом, использовали односуточную культуру *Micrococcus luteus* (*M. lysodeicticus*), выращенную на агаризованной питательной среде. Водная суспензия культуры при нефелометрировании на приборе ФЭКН-56 с 6-ым светофильтром (зеленым) имеет показатель оптической плотности 0,66.

В качестве стандартного препарата лизоцима использовали лизоцим фирмы "Serva" (Германия), выделенный из белка куриного яйца, с активностью 2150 ед/мг. Растворы серийных разведений стандартного препарата лизоцима в диапазоне концентрации 1 мкг - 20 мкг/мл готовили на 1/15 М фосфатном буфере, pH 6,5 и применяли для построения калибровочной кривой.

Ход определения. На 1 мл разведенных растворов смешанной слюны или слюнной жидкости добавляли 2 мл водной суспензии культуры *M. luteus*. Контрольный вариант: 1 мл раствора фосфатного буфера или дистиллированной воды и 2 мл суспензии культуры. Выдерживали на водяной бане при 37° в течение 5 мин. Для прекращения реакции добавляли 1 каплю 0,1N HCl и 3 мин кипятили в водяной бане. Затем пробы охлаждали и нефелометрировали на приборе ФЭКН-56.

Калибровочную кривую строили по полученным данным, откладывая по оси абсцисс содержание лизоцима (количество фермента (мкг/мл) с соответствующей активностью), а по оси ординат - оптическую плотность. Калибровочную кривую использовали для определения количества и активности лизоцима в слюне больных периодонтитом.

Результаты и обсуждение. Из исследованных 25 стоматологических больных у 8 выявлен периодонтит. Среди них у одного больного (Н.) - острый, серозный (поражен 1 зуб), у 5 больных - хронический гранулематозный (поражены 1 или 2 зуба) и у 2 больных (Ж. и III.) обострившейся хронический (гнойный процесс, поражены 3-4 зуба) периодонтит. Характеристика количества и активности лизоцима в слюне больных периодонтитом представлена в таблице.

Характеристика количества и активности лизоцима в слюне больных периодонтитом.

Боль-ные	Возраст больных (годы), форма периодонтита	Количество пораженных зубов	Пробы слюны	Определение лизоцима			
				до лечения		после лечения (через 7 дней)	
				количество лизоцима, мкг/мл	активность лизоцима, ед/мл	количество лизоцима, мкг/мл	активность лизоцима, ед/мл
А	44, X	2	С	0,003	6,46	0,03	64,6
			Г	0,002	4,3	0,03	64,6
Л	60, X	1	С	0,016	34,4	0,14	302,0
			Г	0,014	30,2	0,018	38,8
М	37, X	1	С	0,02	43,0	0,14	302,0
			Г	0,014	30,2	0,1	215,0
К	28, X	2	С	0,06	130,0	0,16	344,0
			Г	0,003	4,46	0,02	43,0
С	25, X	1	С	0,02	43,0	0,12	258,0
			Г	0,002	4,3	0,017	356,0
Н	36, O	1	С	0,02	43,0	0,12	258,0
			Г	0,14	302,0	0,09	193,0
Ж	43, O/X	3	С	0,22	473,0	0,24	516,0
			Г	0,02	43,0	0,022	47,3
III	30, O/X	4	С	0,32	688,0	0,3	646,0
			Г	0,06	130,0	0,05	108,3

* Условные обозначения: X - хронический периодонтит, O - острый периодонтит, O/X - обострившейся хронический периодонтит, С - смешанная слюна, Г (гургуля) - зубо-десневая жидкость.

Литературные данные указывают, что нормальное содержание лизоцима в слюне здоровых людей составляет 0,2 мг/мл слюны [2]. Следует указать, что очень часто возможные отклонения от нормы обусловлены нервно-психическим состоянием

организма в целом, а также общим состоянием зубов и десен [4].

В наших опытах в смешанной слюне и зубо-десневой жидкости больных с хроническим периодонтитом (А., Л., М., К., С.) количество лизоцима ниже нормы: 0,003 - 0,06 мг/мл смешанной слюны и 0,002 - 0,014 мг/мл зубо-десневой жидкости соответственно для каждого больного. Литературные данные указывают, что при хронических воспалительных процессах периодонтита отмечается заметное снижение уровня эндогенного лизоцима в зубо-десневом кармане (периодонте), что свидетельствует о недостаточных иммунологических механизмах резистентности тканей в этих условиях [5]. Снижение содержания лизоцима в полости рта и в зубо-десневых карманах подтверждает наличие хронического процесса. Другие стоматологические заболевания зубов и десен у больных не были учтены, однако они также влияли на общее количество лизоцима. Следует отметить, что и при хроническом кариесе зубов отмечается снижение количества лизоцима в слюне [9]. Результаты весьма противоречивы и при хроническом пульпите - в одних случаях активность лизоцима ниже, а в других - выше [7]. После лечения пораженных периодонтитом зубов у хронически больных через 7 дней количество лизоцима повышается в смешанной слюне до 0,03-0,16 мг/мл и в жидкости зубо-десневых карманах до 0,03-0,1 мг/мл соответственно для каждого больного, т.е. ближе к норме.

У больного (Н.) с острой, серозной формой периодонтита количество лизоцима в смешанной слюне составляло 0,02 мг/мл, а в жидкости зубо-десневого кармана - 0,14 мг/мл. Наблюдался воспалительный процесс в кариозной полости зуба, сопровождавшийся гнойными болями, десна была не изменена. Отмечалось более высокое содержание лизоцима в жидкости зубо-десневого кармана, чем в слюне полости рта. Быстрое лечение больного предотвращает гнойную форму. После лечения зуба через 7 дней количество лизоцима в смешанной слюне составляло 0,12 мг/мл, а в жидкости зубо-десневого кармана - 0,09 мг/мл, т.е. ближе к норме.

У больных (Ж. и Ш.) с обострившейся хронической формой и поражением нескольких зубов наблюдался гнойный процесс десен. Количество лизоцима выше нормы в смешанной слюне: у больного Ж. - 0,22 мг/мл, у больного Ш. - 0,32 мг/мл, а в жидкости зубо-десневого кармана, в среднем, 0,02 и 0,06 мг/мл соответственно. При обострившейся хроническом периодонтите заметно повышается количество лизоцима в смешанной слюне. После лечения 1-2 зубов через 7 дней количество лизоцима остается выше в смешанной слюне, так как остаются воспалительные процессы десен и остальных зубов, а также сопутствующие другие стоматологические заболевания. В данном случае для полного выздоровления необходим длительный процесс лечения.

Таким образом, выявление количества лизоцима как диагностический тест, хотя и не является специфичным при периодонтите, так как используется и при других стоматологических заболеваниях, но может прояснить характерную картину общего состояния болезни, чем и способствовать его лечению.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бейер Л.В. Вопросы детской гастроэнтерологии, 5, 27-31, 1984.
2. Большая медицинская энциклопедия, 13, 105-106, М., 1980.
3. Бондаренко В.С. Иммунология и аллергия, 23, 108-110, 1989.

4. Варенко Ю.С. Лабораторное дело, 5, 366-371, 1987.
5. Денисова И.А. Стоматология, 66, 3, 28-30, 1987.
6. Диксон М., Узбб Э. Ферменты. 2, 452-455, М., 1982.
7. Ермошенко Л.С. Вопросы стоматологии, 4, 38-40, 1984.
8. Маркушева Л.И. Актуальные вопросы клинической микробиологии, 98-100, 1985.
9. Марченко А.И. Иммунология и аллергия, 20, 74-76, 1986.

Поступила 12.1.1996

Биолог. журн. Армении, 1-2 (49), 1996

УДК 581.1.035

ВВЕДЕНИЕ В ИЗОЛИРОВАННУЮ КУЛЬТУРУ *BRYONIA ALBA*

Ю.Г. ПОПОВ, М.К. МКРТУМЯН, Е.П. ЩЕРБАКОВА

*Ереванский государственный университет,
кафедра микробиологии и физиологии растений, 375049
Институт ботаники НАН Армении, 375063, Ереван*

Переступень белый - клональное микроразмножение.

Несмотря на достижения синтетической химии, лекарственные препараты растительного происхождения занимают значительное место. При возрастающей интенсификации сельского хозяйства природные запасы лекарственных растений продолжают сокращаться. Многие дикорастущие лекарственные растения в настоящее время относятся к редким, исчезающим видам или стоящим на грани исчезновения из-за большого спроса на них и занесены в Красную книгу [1,2,5]. Одной из задач современного ресурсоведения является поиск новых источников лекарственного сырья. Биотехнология предлагает, с одной стороны, использовать для этой цели новые экспериментально созданные системы - культуры растительных тканей и клеток, а с другой - получение методом клонального микроразмножения большого количества посевного материала для создания плантаций лекарственных растений.

К числу таких лекарственных растений относится *Bryonia alba* - переступень белый. Ввиду того, что препарат из переступня имеет широкий спектр действия [7,8], а в последнее время показано и его радиозащитное действие, повышающее сопротивляемость и адаптивные возможности организма к ионизирующему излучению [3,6], сильно возрос спрос на это растение.

Bryonia alba - многолетнее растение семейства *Cucurbitaceae*. В качестве лекарственного сырья используются корни на 4-5 год жизни растения, и при заготовке сырья все растение погибает. Исходя из вышеизложенного, нами начата работа по введению в изолированную культуру брионии и изучению возможностей клонального микроразмножения.

Материал и методика. Исходным материалом служили эксплантаты корня, листа и стебля взрослого растения брионии, а также пазушные почки. Эксплантаты стерилизовались 0,1%-ным раствором пиваида с последующей 3-кратной промывкой стерильной водой. После стерилизации эксплантаты разрезались на кусочки и помещались на питательную среду. В опытах использовалась