УДК 616.4-008.6+124+012.81+016.179

А. П. Левицький[1], Ю. В. Цісельський[2]

РОЗВИТОК ДИСБІОЗУ І ЗАПАЛЕННЯ У СЛИЗОВІЙ ОБОЛОНЦІ КИШЕЧНИКУ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ

[1]ДУ «Інститут стоматології НАМН України», Одеса,
[2]КУ «Одеська обласна клінічна лікарня»

За останні роки надруковано чимало праць, які свідчать про участь мікробів у розвитку цукрового діабету (ЦД) та його ускладнень [1–5]. Так, Д. А. Воеводин и соавт. [6] показали, що найбільш тяжкий перебіг ЦД спостерігається на фоні дисбактеріозу. У хворих на ЦД дуже часто виникає системний і локалізований кандидоз [7]. Голландські дослідники вказують на роль *Bacteroides* (головних мікробів товстої кишки) в розвитку ЦД [8; 9].

Нами було показано лікувально-профілактичну дію пребіотика інуліну при експериментальному діабеті [10] і в клініці у хворих на ЦД з діабетичною ретинопатією [11]. Подібні результати з використанням інших пребіотиків, а також пробіотиків були отримані й іншими авторами [12].

Однак загальноприйнято вважати ЦД неінфекційним захворюванням, а можлива участь мікробів у його розвитку навіть не розглядається.

Метою нашої роботи стало визначення можливої наявності дисбіозу і запалення в слизовій оболонці кишки, які можуть виникнути за умов моделювання ЦД 1 і 2 типів.

Матеріали та методи дослідження

У роботі було використано препарат алоксан 1-водний, кваліфікації «ч» (постачальник НВФ «Синбіас», Україна), протамін сульфат (виробник фірма “Merck”, США), ацетоновий порошок стандартного штаму 2665 культури *Micrococcus lysodeikticus* (виробник ТОВ «Мікрофлора» при НДІ епідеміології і мікробіології ім. Габричевського, Росія), інші реактиви кваліфікації «х. ч.» або «ч. д. а.» імпортного та вітчизняного виробництва.

У дослідах було використано 30 щурів-самців лінії Вістар у віці 6 міс. (жива маса 286–360 г). Усі щури були поділені на 3 групи: I — інтактні (контроль), II — експериментальний ЦД 1 типу (алоксановий діабет); III — експериментальний ЦД 2 типу (протаміновий діабет).

Алоксановий діабет відтворювали шляхом одноразової ін’єкції внутрішньочеревно розчину алоксану (75 мг/мл у дозі 120 мг/кг). Евтаназію тварин цієї групи здійснювали на 21-й день.

Відтворювали ЦД 2 типу (протаміновий діабет) за методом Ульянова і Тарасова [13] шляхом введення внутрішньом’язово розчину протамін сульфату (15 мг/мл у дозі 120 мг/кг 2 рази на день протягом 10 днів). Евтаназію тварин цієї групи здійснювали на 14-й день від початку досліду.

Після евтаназії тварин під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) виділяли дистальну частину тонкої та проксимальну частину товстої кишки, промивали їх 0,9%-м розчином NaCl, охолодженим до +4 °С, виділяли слизову оболонку і зберігали її при -30 °С.

У гомогенатах слизової оболонки кишечнику визначали активність уреази [14], лізоциму [15], каталази [16], еластази [17] і концентрацію малонового діальдегіду (МДА) [18]. За співвідношенням відносних активностей уреази і лізоциму розраховували ступінь дисбіозу [19]. Активність еластази та вміст МДА слугували біохімічними маркерами запалення [20]. За співвідношенням активності каталази і концентрації МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс [21].

Результати дослідження та їх обговорення

У табл. 1 наведено дані визначення у слизовій оболонці активності уреази та лізоциму. Як видно з цих даних, активність уреази, яка є маркером мікробного обсіменіння, достовірно збільшується у товстій кишці при ЦД 1 і 2 типів, а в тонкій кишці лише при ЦД 1 типу, натомість активність лізоциму, який є маркером неспецифічного імунітету, знижується у 3–5 разів у слизовій оболонці як тонкої, так і товстої кишок.

Розрахований за цими показниками ступінь дисбіозу достовірно збільшується в тонкій кишці (у 4 рази) і в товстій кишці (у 6–7 разів).

У табл. 2 наведено результати визначення маркерів запалення в слизовій оболонці кишки щурів, у яких відтворювали експериментальний ЦД. Як видно з цих даних, рівень обох маркерів суттєво зростає при моделюванні ЦД, що свідчить про розвиток запально-дистрофічного процесу в слизовій оболонці кишечнику [20].

Можливо, розвиток цього процесу є наслідком кишкового дисбіозу [4; 6].

У табл. 3 наведено результати визначення активності антиоксидантного ферменту каталази й антиоксидантно-прооксидантного індексу (АПІ) в слизовій оболонці тонкої кишки. Як видно з цих даних, активність каталази і, особливо, індекс АПІ значно знижуються в слизовій оболонці тонкої кишки щурів з експериментальним ЦД. Це свідчить про значне зниження захисних систем кишечнику в умовах розвитку ЦД.

Таблиця 1

Активність уреази, лізоциму і ступінь дисбіозу в слизовій оболонці кишечнику щурів з експериментальним цукровим діабетом (в усіх групах n=10)

Група	Уреаза, мк-кат/кг	Лізоцим, од/кг	Ступінь дисбіозу, од.
Тонка кишка			
I — контроль	3,90±0,32	292±23	1,00±0,10
II — ЦД 1 типу	5,87±0,62 p<0,05	113±70 p<0,05	3,87±0,42 p<0,001
III — ЦД 2 типу	4,05±0,57 p>0,5	74±23 p<0,001	4,16±0,38 p<0,001
Товста кишка			
I — контроль	7,24±0,62	92±10	1,00±0,10
II — ЦД 1 типу	10,57±1,17 p<0,05	21±5 p<0,001	6,35±0,71 p<0,001
III — ЦД 2 типу	10,22±1,07 p<0,05	18±9 p<0,001	7,05±1,12 p<0,001

Примітка. У табл. 1–3: p — показник достовірності відмінностей від контролю.

Таблиця 2

Рівень маркерів запалення в слизовій оболонці кишечнику щурів з експериментальним цукровим діабетом (в усіх групах n=10)

Група	Тонка кишка		Товста кишка
	МДА, ммоль/кг	Еластаза, мкат/кг	Еластаза, мкат/кг
I — контроль	4,15±0,24	0,83±0,07	0,14±0,01
II — ЦД 1 типу	9,41±0,61 p<0,001	1,31±0,09 p<0,001	0,23±0,02 p<0,01
III — ЦД 2 типу	6,98±0,31 p<0,001	1,17±0,08 p<0,01	0,30±0,05 p<0,01

Таблиця 3

Активність каталази і рівень антиоксидантно-прооксидантного індексу в слизовій оболонці тонкої кишки щурів з експериментальним цукровим діабетом (в усіх групах n=10)

Група	Каталаза, мкат/кг	АПІ, од.
I — контроль	6,92±0,05	16,7±1,4
II — ЦД 1 типу	6,52±0,17 p<0,05	6,9±0,9 p<0,001
III — ЦД 2 типу	4,86±0,11 p<0,001	7,00±0,95 p<0,001

Таким чином, у щурів з експериментальним ЦД 1 або 2 типу в слизовій оболонці кишечнику виникає дисбіоз як результат зниження рівня неспецифічного імунітету і збільшення чисельності мікробів. Наслідком дисбіозу є розвиток запально-дистрофічного процесу в кишечнику, наявний у хворих на ЦД обох типів [22]. Отримані нами результати свідчать про певну роль мікробів і дисбактеріозу в розвитку ЦД та його ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Касаткина Э. П.* Особенности микробиоценоза кишечника у детей, больных сахарным диабетом / Э. П. Касаткина, А. А. Воронин, Л. А. Тараненко // ЖМЭИ. – 1996. – № 6. – С. 84–85.

2. *Воронин Л. А.* Лечение дисбактериоза кишечника у детей, больных сахарным диабетом / Л. А. Воронин, Л. А. Тараненко, С. В. Сидоренко // Антибиотики и химиотерапия. – 1999. – № 3. – С. 22–24.

3. *Патогенетическая* роль дисбактериоза в развитии осложнений сахарного диабета I типа у детей / Г. Н. Розанова, Д. А. Воеводин, М. А. Стенина [и др.] // БЭБИМ. – 2002. – Т. 133, № 2. – С. 196–198.

4. *Розанова Г. Н.* Случай эффективного использования пробиотиков в комплексной терапии тяжелой формы сахарного диабета 1-го типа при кишечном дисбактериозе / Г. Н. Розанова, Д. А. Воеводин // Клиническая медицина. – 2008. – № 1. – С. 67–68.

5. *Тотожність* (мімікрія) антигенів підшлункової залози та вірусів (огляд літератури і власні дослідження) / Н. В. Іваська, С. В. Мельниченко, Р. Г. Лукашова [та ін.] // Ендокринологія. – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 104–116.

6. *Роль* иммунологических реакций в адаптивном процессе у детей с сахарным диабетом типа 1, филогенетическая концепция антистрессорной адаптации / Д. А. Воеводин, Г. Н. Розанова, М. А. Стенина [и др.] // Иммунология. – 2003. – Т. 24, № 2. – С. 103–107.

7. *Бурова С. А.* Системный и локализованный кандидоз у больных сахарным диабетом / С. А. Бурова // Международный эндокринологический журнал. – 2007. – № 6 (12). – С. 107–109.

8. *Antibiotic* treatment partially protects aginst type 1 diabetes in the bio-breeding diabetes-prone rat. Is

the gut flora involved in the development of type 1 diabets? / S. Brugman, F. A. Klatter, J. T. J. Visser [et al.] // Diabetologia. – 2006. – Vol. 49, N 9. – P. 2105–2108.

9. *Diet,* gut microbiota and type 1 diabets / S. Brugman, M. J. Verkaik, J. T. J. Visser [et al.] // Клиническое питание. – 2007. – № 1/2. – С. А1. (Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Фундаментальные и клинические аспекты : матер. междунар. конгр., Санкт-Петербург, 15–16 мая 2007 г.).

10. *Левицький А. П.* Вплив харчового інуліну на біохімічні показники сироватки крові щурів з алоксановим діабетом / А. П. Левицький, Ю. В. Цісельський // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2006. – № 2. – С. 38–41.

11. *Цісельський Ю. В.* Вплив інуліну на стан зору і деякі біохімічні показники крові хворих на діабетичну ретинопатію / Ю. В. Цісельський, А. П. Левицький // Досягнення біології та медицини. – 2006. – № 1 (7). – С. 58–61.

12. *Гриневич В. Б.* Коррекция дисбиоза кишечника — фактор преодоления инсулинорезистентности / В. Б. Гриневич // Клиническое питание. – 2007. – № 1/2. – С. А35. (Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Фундаментальные и клинические аспекты : матер. междунар. конгр., Санкт-Петербург, 15–16 мая 2007 г.).

13. *Ульянов А. М.* Инсулярная система животных при хроническом дефиците гепарина / А. М. Ульянов, Ю. А. Тарасов // Вопросы медицинской химии. – 2000. – Т. 46, № 2. – С. 149–154.

14. *Гаврикова Л. М.* Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой одонтогенной инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. – 1996. – Спец. вып. – С. 49–50.

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

16. *Гирин С. В.* Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гирин // Лабораторная диагностика. – 1999. – № 4. – С. 45–46.

17. *Левицкий А. П.* Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов : метод. рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К. : ГФЦ, 2002. – 15 с.

18. *Стальная И. Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 66–68.

19. *Пат.* 43140 Україна, МПК (2009) G01N 33/48 Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Дєньга О. В., Селіванська І. О. [та ін.]. – № u200815092 ; заявл. 26.12.08 ; опубл. 10.08.09, Бюл. № 15.

20. *Биохимические* маркеры воспаления тканей ротовой полости : метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса, 2010. – 16 с.

21. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами / А. П. Левицький, В. М. Почтар, О. А. Макаренко [та ін.] // Одеський медичний журнал. – 2006. – № 6. – С. 22–25.

22. *Martin M. T.* Ileal brake failure in streptozotocin-induced diabetic rat / M. T. Martin, F. Azpiroz, J.-R. Malagelada // Scand. J. Gastroenterol. – 2004. – Vol. 39, N 5. – С. 423–427.

УДК 616.876.616-055.6:577.122:616-092.4

О. О. Мардашко, А. А. Дімова, Г. Ф. Степанов, Р. Ф. Макулькін

ЧОВНИКОВА ФУНКЦІЯ МАЛАТДЕГІДРОГЕНАЗ У М'ЯЗАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ТВАРИН

Одеський національний медичний університет

Серцевий м'яз відрізняється від скелетного не тільки морфологічними та функціональними характеристиками, а й в першу чергу значним вмістом мітохондрій, швидкістю обміну білків, високою інтенсивністю аеробних процесів, зокрема реакцій циклу трикарбонових кислот, креатинфосфокінази. Тому анатомо-фізіологічні особливості серця та скелетних м'язів, тісний зв'язок із системою кровопостачання забезпечують швидку реакцію цієї тканини на вплив ушкоджуючих факторів навколишнього середовища [1]. Особливе місце у біоенергетиці м'язів посідає транспорт протонів із саркоплазми, де вони нагромаджуються за умов навантаження, до мітохондрії, де вони залучаються до тканинного дихання з вивільненням значної кількості енергії. Один із таких механізмів транспорту забезпечується НАД-залежною малатдегідрогеназою [2], але невідома відмінність цього механізму у міокарді та кістковому м'язі, не досліджено зв'язок між НАД-залежною і НАДФ-залежною малатдегідрогеназами у м'язах, що дозволить поглибити відомості про механізми впливу ушкоджуючих факторів на м'язову систему.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження були проведені на статевозрілих щурах-самцях масою 180–220 г. Для визначення біохімічних показників у тканинах тварин декапітували, вилучали серце і передню групу м'язів стегна, промивали охолодженим фізрозчином, подрібнювали і гомогенізували у 9-кратному об'ємі 0,32 моль