



ЛИТЕРАТУРА

1. Быкова В. П. Гистоархитектоника глоточной миндалины в возрастном аспекте: морфометрическое и иммуногистохимическое исследование / В. П. Быкова, Д. В. Калинин // Архив патологии. – 2011. – № 1. – С. 14–18.
2. Влияние длительности аденонозиллярной гипертрофии на показатели местного врожденного и адаптивного иммунитета у часто болеющих детей / И. М. Магомедов [и др.] // Рос. оторинолар. – 2011. – № 5 (54). – С. 95–101.
3. Гаращенко Т. И. Иммуномодуляторы топического применения в профилактике и лечении хронического аденоидита у детей / Т. И. Гаращенко, И. В. Зеленкова, М. В. Алферова // Вестн. оторинолар. – 2011. – № 2. – С. 62–65.
4. Дорохов Р. Н. Методика соматотипирования детей и подростков / Р. Н. Дорохов, В. Г. Петрухин // Медико-педагогические аспекты подготовки юных спортсменов: сб. ст. – Смоленск, 1989. – С. 4–14.
5. Киселев А. Б. Результаты профилактики острых респираторных инфекций в детских коллективах методом промывания полости носа и носоглотки / А. Б. Киселев, В. А. Чаукина // Вестн. оторинолар. – 2012. – № 1. – С. 44–46.
6. Ковальчук Л. В. Роль компонентов врожденного иммунитета в защите слизистой оболочки полости носа в норме и при гипертрофии аденоидных вегетаций / Л. В. Ковальчук // Вестн. оторинолар. – 2011. – № 6. – С. 73–75.
7. Козлов В. С. Аденоиды: консервативное и хирургическое лечение / В. С. Козлов, В. В. Шиленкова, В. А. Карпов – М.: Полиграфист и издатель, 2009. – 172 с.
8. Плужников М. С. Слизистая оболочка носа. Механизмы гомеостаза и гомокенеза / М. С. Плужников, А. Г. Шантуров, Г. В. Лавренова. – СПб., 1995. – 106 с.
9. Рымша М. А. Хронические воспалительные заболевания глотки у детей / М. А. Рымша, В. А. Чаукина // Болезни уха, горла и носа в детском возрасте: нац. рук.; под ред. М. Р. Богомилского, В. Р. Чистяковой. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. – С. 336–356.
10. Самсыгина Г. А. Часто болеющие дети: проблемы патогенеза, диагностики и терапии / Г. А. Самсыгина, Г. С. Коваль // Лечащий врач. – 2009. – № 1. – С. 10–15.

ПОСТУПИЛА: 15.05.2015

УДК: 616.094.38:616.34-008.87

М.Н. Гапон, Л.Н. Терновская

ЛОКАЛЬНЫЙ АНТИОКСИДАНТНЫЙ ИНДЕКС-КРИТЕРИЙ ОЦЕНКИ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КИШЕЧНИКА И РИСКА РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОГО СИСТЕМНОГО ВОСПАЛЕНИЯ

Ростовский научно-исследовательский институт микробиологии и паразитологии, лаборатория микробиологии и разработки иммунобиологических препаратов, 344000, Россия, г. Ростов-на-дону, пер. Газетный 119. E-mail: marina.gapon@mail.ru

Цель: выявление закономерности изменений общего и локального антиоксидантного индекса в динамике экспериментального дисбактериоза.

Материалы и методы: модель экспериментального дисбактериоза воспроизводили на 200 самцах мышей, путем внутрибрюшинного введения гентамицина. Контролем служили 50 интактных животных. В копрофильтратах и в крови мышей исследовали активность антиоксидантных ферментов (супероксиддисмутазы, каталазы) и содержание малонового диальдегида. Биохимические показатели оценивали фотометрически по величине оптической плотности образцов. Микробный пейзаж фекалий определяли классическим бактериологическим методом. Все показатели исследовали на 3, 10, 17, 24, 30 сутки после окончания 5 дневного курса антибиотика.

Результаты: выявлено, что при повышении общей численности условно-патогенных микробов в составе микробиоценоза толстого кишечника происходит снижение общего и локального антиоксидантного индекса, с достоверным преимуществом последнего.

Заключение: на основе расчета локального антиоксидантного индекса предложен скрининговый критерий оценки состояния колонизационной резистентности толстой кишки с установлением риска развития хронического системного воспаления.

Ключевые слова: дисбактериоз кишечника, общий и локальный антиоксидантный индекс.



M.N. Gapon, L.N. Ternovskaya

THE LOCAL ANTIOXIDANT INDEX – CRITERION FOR ASSESSING INTESTINAL COLONIZATION RESISTANCE AND THE RISK OF CHRONIC SYSTEMIC INFLAMMATION DEVELOPMENT

*Rostov Research Institute of Microbiology and Parasitology,
Laboratory of Microbiology and development of immunobiological products,
119 Gazetny pereulok, Rostov-on-Don, Russia, 344000. E-mail: marina.gapon@mail.ru*

Purpose: identifying patterns of changes in the general and local antioxidant index in the dynamics of experimental dysbiosis.

Materials and methods: the model of the experimental dysbiosis was reproduced on 200 male mice, by means of intraperitoneal injection of gentamicin. The control group consisted of 50 intact animals. In coprofiltrates and in the blood of mice, there was examined the activity of antioxidant enzymes (superoxide dismutase and catalase) and content of malondialdehyde. The biochemical parameters were assessed photometrically at an optical density value of the samples. The microbial landscape of feces was determined by classical bacteriological method. All figures were examined on the 3, 10, 17, 24, 30 day after the 5-day course of antibiotics.

Results: it was found that by an increase in the total number of opportunistic microbes as part of the large intestine microbiocenosis, a reduction in general and local antioxidant index takes place, with a significant advantage of the latter.

Conclusion: on the basis of the calculation of the local antioxidant index there was proposed screening criterion to evaluate the state of the colonization resistance of the large intestine with the establishment of the risk of chronic systemic inflammation development.

Keywords. Intestines dysbiosis, general and local antioxidant index.

В настоящее время доказана роль нарушения колонизационной резистентности толстого кишечника, обусловленной изменением нормального состава микробиоценоза, в развитии хронического системного воспаления, характеризующегося различными по течению и локализации воспалительными процессами. Также установлено, что нарушение нормального состава микробиоценоза толстой кишки, определяемое понятием дисбактериоз, является патогенетической основой таких заболеваний, как диабет 2-го типа, ожирение, липидный дистресс-синдром, атеросклероз и др. [1,2]. Известно, что в основе всех патологических процессов, в том числе и сопровождаемых воспалительной реакцией, лежат окислительный стресс и нарушение системы детоксикации, для выявления которых используются методы оценки антиоксидантного статуса [3,4,5,6,7]. Определение общего антиоксидантного статуса позволяет выявлять группы лиц повышенного риска развития различных заболеваний, проводить мониторинг их течения и эффективности проводимого лечения, обосновывать необходимость применения в лечении антиоксидантных препаратов [4]. В последние годы для определения антиоксидантного состояния макроорганизма используют антиоксидантный индекс, отражающий соотношение ферментов антиоксидантной защиты организма (супероксиддисмутазы и каталазы) к содержанию в биосубстратах малонового диальдегида (МДА), являющегося маркером интоксикации [3,5]. Основным материалом исследования при этом служит плазма крови, хотя в ряде случаев используют мочу или слюну.

В ранее проведенных нами исследованиях [8] было показано, что развитие дисбактериоза толстой кишки происходит на фоне изменения активности ферментов антиоксидантной защиты и накопления в копрофильтратах малонового диальдегида. По сравнению с плазмой крови копрофильтраты представляют собой более доступный и безопасный в эпидемическом отношении материал для исследования. Определение антиоксидантного индекса в копрофильтратах позволит получить более достоверную информацию о степени местной (локальной) антиоксидантной защиты и ее связи с колонизационной резистентностью кишечника.

Цель исследования – сопоставление степени изменения общего (ОАИ) и локального антиоксидантного индекса (ЛАИ) в динамике экспериментального дисбактериоза, обусловленного приемом антибиотика широкого спектра действия.

Материалы и методы

Модель экспериментального лекарственного дисбактериоза воспроизводили на белых беспородных мышках, полученных из питомника ФБУН Ростов НИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора. В работе использовали половозрелых самцов весом 16-18 г в количестве 200 штук.

Для воспроизведения экспериментального дисбактериоза мышам вводили в терапевтической дозе (по 0,2 мл) внутривентрально антибиотик широкого спектра действия (гентамицин) в течение 5 дней. Выбор данного антибиотика связан с его ото- и нефротоксичностью и



Таблица 1.

Показатели ОАИ и ЛАИ у интактных и экспериментальных животных

Показатели	Группы животных	
	Интактные (n=50)	Экспериментальные (n=200)
ОАИ	1,25	0,66
ЛАИ	3,86	0,29

Примечание: ОАИ – общий антиоксидантный индекс; ЛАИ – локальный антиоксидантный индекс.

максимально повреждающим действием на нормальную микрофлору толстой кишки.

Проведено 4 серии экспериментов в осенний и весенний периоды, что обусловлено высокой чувствительностью организма мышей к сезонным колебаниям. В работе исследовали полостную микрофлору кишечника, плазму, эритроциты и копрофильтраты мышей. Все исследования проводили в динамике экспериментального дисбактериоза на 3, 10, 17, 24, 30 сутки после окончания введения антибиотика.

Порядок работы и содержание лабораторных животных, их выведение из опыта выполнено согласно с приказом №755 (120877) «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», с Хельсинской декларацией и рекомендациями, содержащимися в директиве Европейского сообщества 86/69 ЕС. Экспериментальные исследования на животных проводили с учетом норм и правил биомедицинской этики с разрешения этического комитета Ростовского научно-исследовательского института микробиологии и паразитологии (Протокол №1 от 15.01.2014 г.).

Состав полостной микрофлоры кишечника изучали в соответствии с отраслевым стандартом МЗ России [9]. Выделенные чистые культуры идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, биохимическим, культуральным свойствам в соответствии с рекомендациями «Краткий определитель Берги» (1980).

Для биохимического исследования использовали эритроциты, плазму крови и разведение фекалий в 10-2 степени. Перед исследованием пробы центрифугировали при 3000 об/мин в течение 30 минут, получая таким образом копрофильтрат. Активность супероксиддисмутазы (СОД), каталазы, а так же концентрацию малонового диальдегида (МДА) оценивали фотометрически по величине оптической плотности. Активность каталазы в образцах определяли по методу Королюк М.А., выражая в нмоль H₂O₂/мл [10]. Активность СОД определяли по методу Сироты Т.В., выражая данные в у.е./мл [11]. Интенсивность ПОЛ оценивали по уровню вторичного продукта — (МДА), содержание которого определяли по методу Стальной И.Д. в модификации Андреевой Л.И. [12], выражая количественное содержание МДА в нмоль/мл.

Расчет локального антиоксидантного индекса (ЛАИ) проводили по предлагаемой нами формуле:

$$\text{ЛАИ} = \frac{\text{активность СОД} \times \text{активность каталазы}}{\text{МДА}}$$

Изменение общего антиоксидантного индекса (ОАИ) регистрировали по соотношению ферментов антиоксидантной защиты (АОЗ) к МДА в крови интактных и опытных животных; локальный антиоксидантный индекс (ЛАИ) определяли по этим же показателям в копрофильтратах.

Результаты и их обсуждение

В таблице приведены данные, отражающие соотношение ОАИ и ЛАИ у интактных и экспериментальных животных с дисбактериозом толстой кишки.

Прежде всего обращает на себя внимание более высокое значение ЛАИ по сравнению с ОАИ у интактных животных, что служит подтверждением участия эпителиальных клеток кишечника в формировании локальной антиоксидантной защиты организма и, соответственно, местной неспецифической резистентности.

У экспериментальных животных с бактериологически подтвержденным дисбактериозом толстой кишки отмечается однонаправленное изменение значений ОАИ и ЛАИ, характеризующееся снижением этих показателей. При этом выявлено более выраженное уменьшение значений ЛАИ - в 13,3 раза по сравнению с группой интактных животных, что опять же указывает на участие эпителиальных клеток кишечника в инициации и стабилизации воспалительных процессов.

Так как развитие хронического системного воспаления связывают с транслокацией условно-патогенных микробов для выяснения зависимости изменений ЛАИ от состава микробиоценоза толстого кишечника были сопоставлены значения ЛАИ с данными микробных карт.

Анализ состава микробиоценоза толстого кишечника показал, что развитие дисбактериоза характеризуется нарушением содержания как нормальных эубионтов (бифидо-, лактобактерий и эшерихий), так и условно-патогенных микроорганизмов.

Начиная с 3 дня наблюдения отмечалось снижение содержания бифидо-, лактобактерий и эшерихий. Колебания их количества происходили в пределах: от lg7,1 до lg7,6 бифидобактерий, lg6,0 — lg7,5 лактобактерий, lg3,1 - lg6,0 эшерихий по сравнению с количеством бифидо-, лактобактерий и эшерихий в группе интактных животных (соответственно lg8,5, lg7,2, lg6,4). Наиболее низкое содержание нормальных эубионтов отмечалось на 10, 17 день наблюдения. Начиная с 24 дня происходило увеличение их численности, но даже к концу срока наблюдения содержание нормальных эубионтов не достигало значений контрольной группы.

Одновременно со снижением количества нормальных эубионтов происходило увеличение содержания условно-патогенных микроорганизмов (лактозонегативных энтеробактерий, протеев, грибов рода Candida, коагулазоотрицательных стафилококков). В составе микробиоценоза появлялись золотистые стафилококки. Численность условно-патогенных микробов увеличивалась по сравнению с их содержанием в группе интактных животных уже на 3 день наблюдения. Максимальное количество условно-патогенных микробов регистрировалось на 10-17 день наблюдения, постепенно снижаясь к 30 дню, но не достигая контрольных значений. Особенно сильно эта тенденция проявлялась в отношении золотистых стафилококков и лактозонегативных энтеробактерий.



Зависимость величин показателей ЛАИ, ОАИ от содержания условно-патогенных микробов кишечного ми-

кробиоценоза в динамике экспериментального дисбактериоза, представлены на рис. 1.

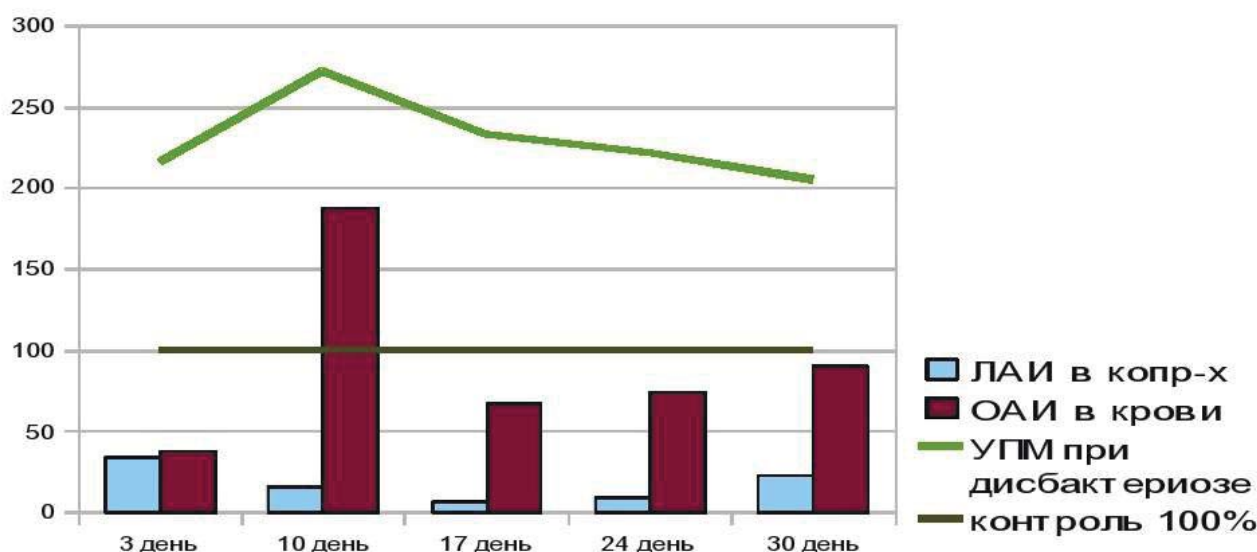


Рис. 1 Процентное соотношение содержания УПМ и показателей ЛАИ, ОАИ в динамике экспериментального дисбактериоза

Приведенные данные отражают выраженную закономерность изменений величин ЛАИ и ОАИ от содержания условно-патогенных микроорганизмов.

С повышением количества условно-патогенных микробов в составе микробиоценоза толстого кишечника происходит снижение значений ЛАИ. Относительно показателей животных контрольной группы, на 3 день эксперимента зафиксировано снижение ЛАИ до

34,3%. На 10-17 сутки падение показателя продолжилось до 16,5% и 6,9 %, соответственно. С 24 дня отмечалось незначительное увеличение ЛАИ до 9,1%, с последующим увеличением к 30 дню до 22,8%. Очевидно, что динамика показателей ЛАИ обратно коррелирует с численностью условно-патогенных бактерий, где их максимальное количество в составе микробиоценоза соответствует низким значениям ЛАИ.

Иначе изменяются значения ОАИ. Если на 3 день исследования показатель ОАИ достигает лишь 37,4% относительно контрольного уровня, то на 10 день происходит повышение значений ОАИ до 187,8%. Подобное обстоятельство, по нашему мнению, может объясняться тем, что с 3 по 10 день дисбактериоза происходит транслокация токсинов условно-патогенных бактерий из кишечника в кровь, вызывающих стимулирование общей антиоксидантной защиты. Впоследствии, к 17 - 24 дню наблюде-

ния, отмечается истощение антиоксидантной защиты о чем и свидетельствует резкое снижение уровня ОАИ до 68,1% и 74,2%, соответственно. И лишь на 30 день эксперимента значения ОАИ приближаются к норме, составляя при этом 90,9%. Значительно низкий уровень ЛАИ относительно ОАИ на протяжении всего исследования свидетельствует о том, что показатель ЛАИ в копро-фильтратах более достоверно отражает несостоятельность местной неспецифической резистентности при дисбактериозе.

Проведенное исследование показало, что изменение величин ЛАИ в ходе экспериментального дисбактериоза коррелирует с нарушением баланса кишечной микрофлоры и более точно, чем ОАИ отражает состояние местной неспецифической резистентности. Установленный факт также позволяет ориентироваться на показатель ЛАИ с целью контроля эффективности средств, применяемых для коррекции кишечного микробиоценоза, а одностороннее изменение значений ЛАИ и ОАИ при дисбактериозе кишечника (табл.1) свидетельствует о возможности использования ЛАИ в качестве индикатора состояния антиоксидантной системы людей для выявления у них риска развития хронического системного воспаления, так как дисбактериоз кишечника непосредственно связан с данным состоянием.



ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации. Журн. Микробиол., 2010, 1: 92–100.
2. Everard A., Cani D. Cross-talk between Akkermansia muciniphila and intestinal epithelium controls diet-induced obesity // Proc Natl Acad Sci США. 2013; 110(22); 9066-9071.
3. Канская Н.В., Байков А.Н., Ланкин В.З. и др. Способ оценки общей антиоксидантной активности крови. Патент, 1998 г.
4. Кишкун А.А. Биохимические исследования в клинической практике. Руководство для врачей. МИА. Москва. 2014. 527 с.
5. Комарова Л.Г., Гладкова Н.Д. Способ оценки адаптивных возможностей организма больного. Патент № 2138804. 2003 г.
6. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К., Бондарь И.А., Круговых Н.Ф., Труфакин В.А. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. // М.: фирма «Слово», 2006. 526 с.
7. Лебедев В.В. Супероксидная теория патогенеза и терапии иммунных расстройств. Вестник РАМН., 2004, 2: 34–40.
8. Гапон М.Н., Терновская Л.Н. Показатели местной неспецифической резистентности при дисбактериозе толстого кишечника. // Журнал микробиол., 2010, 5: 53-57.
9. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника.» ОСТ 91500.11.0004 — 2003. Приказ Минздрава РФ № 231 от 09.06.2003. М., 2003.
10. Корольюк М.А., Иванова Л.И. Метод определения активности каталазы. // Лаб. Дело., 1988, 1: 16–19.
11. Сирота Т. В. Новый подход в исследовании процесса аутоокисления адреналина и использования его для измерения активности супероксиддисмутазы. // Вопр. мед. Химии., 1999, 3: 14–15.
12. Андреева Л.И., Кожемякин Л.А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой. // Лаб. Дело. 1988, 1.

ПОСТУПИЛА: 05.02.2015

УДК: 616.9:616.36-002.2:615.381

Д.В. Донцов¹, Е.Ф. Шин³, Ю.М. Амбалов¹, С.В. Морданов²

ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВОГО СПЕКТРА ПЛАЗМЫ КРОВИ, РАЗВИВАЮЩИЕСЯ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С ПОД ДЕЙСТВИЕМ АУТОГЕМОТЕРАПИИ

*Ростовский государственный медицинский университет,**¹Кафедра инфекционных болезней,**²Лаборатория медицинской генетики,**344022, Россия, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29. E-mail: d_dontcov@mail.ru**³Южный научный центр Российской академии наук,**Институт аридных зон, отдел молекулярной биологии,**344006, Россия, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41.*

Цель: изучить у больных хроническим гепатитом С (ХГС) механизмы гемопоэтической активности биохимических компонентов гемолизата аутокрови (ГАК).

Материалы и методы: проведена непрямая MALD-TOF-масс-спектрометрия плазмы крови у 37 больных ХГС, получавших ГАК. Исследование было выполнено дважды: непосредственно перед назначением аутогемотерапии и спустя 10 дней ежедневного внутривенного введения 20,0 мл ГАК.

Результаты: удалось выделить в плазме крови более 300 полипептидных последовательностей. При этом, в результате внутривенного введения 20,0 мл ГАК частота встречаемости ИЛ-1β, ИЛ-3, ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-11 и эритроферрона достоверно повысилась, а ИЛ-10 и ИЛ-13, наоборот, снизилась.

Выводы: выявленные изменения протеомного профиля плазмы крови в сторону преобладания белков, стимулирующих гемопоэз, по всей вероятности, и обуславливают клиническую эффективность ГАК.

Ключевые слова: хронический гепатит С, противовирусная терапия, гематологические осложнения, гемолиз.