желудочной железе в условиях острого стресса зависит от индивидуально-типологических особенностей животных. Установлено, что меланин обладает стресспротекторным действием на поджелудочную железу, а именно предупреждает развитие цитолитического синдрома и эндогенной токсемии.

Summary

MECHANISM OF MELANIN INFLUENCE ON DEVELOPMENT OF STRESS-INDUCED DAMAGES OF PANCREAS IN DEPENDENCE ON ORGANISM STRESS-RESISTANCE

Slobodyanyk N. M., Neporada K. S.

Key words: pancreas, stress-resistance, endogenic toxemia, melanin.

In experiments on Wistar male rats it has been proven the intensity of pathological changes in pancreas under acute stress depends on individual and typological peculiarities of animals. It has been found out that melanin produces stress-protective action on pancreas, and namely prevents the development of cytolytic syndrome and endogenic toxemia.

УДК 616.37/Д48

Ткачук О.В.

ЯКІСНИЙ І КІЛЬКІСНИЙ СКЛАД МІКРОФЛОРИ ЗАГАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ТОНКОЇ КИШКИ У ТВАРИН ІЗ ПОЄДНАНИМ ВПЛИВОМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ІНДУКОВАНОГО ДІАБЕТУ ТА ІШЕМІЇ-РЕПЕРФУЗІЇ ГОЛОВНОГО МОЗКУ

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

Мета роботи - вивчити якісний та кількісний склад мікрофлори загального препарату тонкої кишки в щурів із чотиримісячним цукровим діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного мозку шляхом бактеріологічного та мікологічного дослідження. Встановлено, що в щурів із чотиримісячним цукровим діабетом та відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку формується дисбактеріоз тонкої кишки з елімінацією або вираженим дефіцитом автохтонних облігатних біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів та пептострептококів, зростанням популяційного рівня умовно патогенних ентеробактерій (кишкові палички), стафілококів, бактероїдів, та контамінацією тонкої кишки умовно патогенними ентеробактеріями (клебсієлами, протеями), бактеріями роду Clostridium, пептококом та дріжджоподібними грибами роду Candida.

Ключові слова:

Публікація є фрагментом планової науково-дослідної роботи "Порушення функціонування центральних та периферичних ланок нейроімуноендокринної системи за умов гіпоксії та інших несприятливих чинників і розробка шляхів корекції патологічних змін" (№ державної реєстрації 0109U003914) Буковинського державного медичного університету.

Вступ

Важливим компонентом імунної системи організму є кишкова мікрофлора, від якої залежить формування та характер розвитку імунної відповіді організму в цілому [1, 4, 13]. Велика всмоктувальна поверхня, значна резорбційна здатність тонкої кишки, інтенсивне кровопостачання дозволяють цьому відділу травного тракту швидко реагувати на дію несприятливих чинників зміною мікробної екології, а представництво значної кількості імунокомпетентних клітин ($CD4^+$, $CD8^+$, гама-, дельта- Т-лімфоцитів, В-лімфоцитів, антигенпрезентуючих) у слизовій оболонки тонкої кишки визначають її роль в ініціації імунної відповіді поруч з іншими відділами імунної системи [9, 15, 18, 19].

Зважаючи на роль і місце порожнинної та мукозної мікрофлори тонкої кишки в формуванні системних імунних реакцій [19], можна очікувати на її участь у формуванні автоімунної патології, до якої відноситься цукровий діабет I типу [6, 17]. Клінічні спостереження свідчать, що цукровий діабет суттєво впливає на фенотип мікробіоценозу порожнини товстої кишки, порушуючи видовий склад автохтонної облігатної анаеробної і факультативної анаеробної мікрофлори та її популяційний рівень [2, 3, 5], а проведені нами експериментальні дослідження показали [12], що стрептозотоцин-індукований цукровий діабет, який є моделлю діабету першого типу, призводить до формування дизбактеріозу (дисбіозу) у загальному препараті тонкої кишки. Зважаючи на присутність автоімунного компоненту в патогенезі ішемічно-реперфузійного пошкодження головного мозку [14, 16], логічно очікувати на те, що поєднання двох автоімунних патологічних станів – цукрового діабету та ішемії-реперфузії головного мозку – може мати істотний вплив на якісний та кількісний склад мікробіоти загального препарату тонкої кишки. Однак при аналізі літератури з даної проблеми подібної інформації ми не виявили.

Мета дослідження

Вивчити якісний та кількісний склад мікрофлори загального препарату тонкої кишки в щурів із чотиримісячним цукровим діабетом, ускладненим ішемічно-реперфузійним ушкодженням головного мозку.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження виконано на білих нелінійних самцях щурів, яким у віці два місяці для відтворення цукрового діабету однократно внутрішньочеревинно вводили стрептозотоцин (Sigma, США, 60 мг/кг маси тіла) [6]. У дослід брали щурів із рівнем глікемії вище 10 ммоль/л. Тривалість діабету – чотири місяці.

У частини тварин дослідної та контрольної груп моделювали неповну глобальну ішемію мозку шляхом

припинення кровотоку по загальних сонних артеріях протягом 20 хв [11]. У щурів контрольної групи препарували обидві сонні артерії та подразнювали їх стінку, не перетискаючи судини. Усі втручання та евтаназію здійснювали під каліпсоловим наркозом (70 мг/кг маси тіла) із дотриманням міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1985), ухвали Першого національного конгресу з біоетики (Київ, 2000). Тварин виводили з експерименту шляхом денкапітації під каліпсоловим наркозом на 12-ту добу постішемічного періоду.

Якісні та кількісні показники мікрофлори визначали шляхом бактеріологічного та мікологічного дослідження з подальшим розрахунком індексу постійності, частоти зустрічання, коефіцієнта кількісного домінування та значущості кожного виду (родини) мікроорганізму в мікробіоценозі загального препарату тонкої кишки [7, 10].

Статистичну значимість відмінностей оцінювали за t-критерієм Стьюдента для незалежних виборок. Дані представлені у вигляді середніх арифметичних та стандартного відхилення.

Результати та їх обговорення

Результати вивчення видового складу мікробіоти загального препарату тонкої кишки в експериментальних тварин із цукровим діабетом та ішемією головного мозку наведені в табл. 1.

Таблиця 1

Видовий склад мікробіоти загального препарату тонкої кишки в щурів із цукровим діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного мозку

Мікроорганізми	Цукровий діабет та ішемія-реперфузія мозку (n =5)			Цукровий діабет(n=5)			P
	Виді-лено штамів	Індекс постій-ності	Частота зустрі-чання	Виділено штамів	Індекс по-стій-ності	Частота зу-стрі-чання	
1. Облігатні анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	2	40,0	0,05	10	100,0	0,18	<0,05
Лактобактерії	3	60,0	0,08	10	100,0	0,18	<0,05
Еубактерії	0	-	-	2	20,0	0,04	-
Бактероїди	5	100,0	0,14	10	100,0	0,18	>0,05
Пептокок	4	80,0	0,11	-	-	-	-
Пептострептококи	0	-	-	4	40,0	0,07	-
Бактерії роду Clostridium	5	100,0	0,14	0	-	-	-
2. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії							
Кишкова паличка	5	100,0	0,14	7	70,0	0,13	>0,05
Клебсієли	2	40,0	0,05	0	-	-	-
Протеї	4	80,0	0,11	0	-	-	-
Ентерококи	0	-	-	7	70,0	0,13	-
Стрептобацили	1	20,0	0,03	8	80,0	0,14	<0,05
Стафілококи	4	80,0	0,11	2	20,0	0,14	<0,05
Дріжджоподібні гриби роду Candida	2	40,0	0,05	0	-	-	-

Примітки: p – достовірність змін у групах порівняння

Поєднана з цукровим діабетом ішемія головного мозку значно поглиблює зміни видового складу мікробіоти загального препарату тонкої кишки, наявні у тварин із діабетом. При цьому настає елімінація із тонкої кишки біфідобактерій (у трьох із п'яти тварин), лактобактерій (у двох із п'яти), еубактерій, пептострептококів, ентерококів, аеробних стрептобацил (у чотирьох із п'яти тварин), а також відбувається контамінація тонкої кишки умовно патогенними ентеробактеріями (клебсієлами та протеями), пептококом, бактеріями роду Clostridium, стафілококом та дріжджоподібними грибами роду Candida.

Таким чином, цукровий діабет у поєднанні з ішемією головного мозку призводить до глибоких порушень мікробної екології тонкої кишки, внаслідок чого змінюється видовий склад її мікробіоти. При цьому константними представниками в мікробіоті тонкої кишки стають умовно патогенні бактерії роду Clostridium, бактероїди, кишкова паличка, пептокок, ентеробактерії (протеї), стафілококи; часто зустрічаються умовно патогенні ентеробактерії (клебсієли), дріжджоподібні гриби роду Candida та автохтонні облігатні біфідобактерії; рідко виявляються аеробні грампозитивні стрептобацили (транзиторні стрептобацили).

Для оцінки ступеня дисбіотичних порушень, окрім встановлення якісного (видового) складу мікробіоти, необхідно визначити кількісний склад автохтонних облігатних і факультативних анаеробних мікроорганізмів, а також алохтонних представників для з'ясування їх патогенетичної ролі. Результати вивчення популяційного рівня мікрофлори загального препарату тонкої кишки експериментальних тварин із цукровим діабетом, поєднаним з ішемією-реперфузією головного мозку, наведені у таблиці 2.

Таблиця 2

Популяційний рівень (в lg КУО/г) мікрофлори загального препарату тонкої кишки в щурів із цукровим діабетом, ускладненим ішемією-реперфузією головного мозку

Мікроорганізми	Цукровий діабет та ішемія-реперфузія мозку (n =5)			Цукровий діабет (n=5)			P
	Популя-ційний рівень	ККД	КЗ	Популяційний рівень	ККД	КЗ	
1. Облігатні анаеробні бактерії							
Біфідобактерії	3,89±0,17	25,3	0,03	7,97±0,21	134,2	0,24	<0,05
Лактобактерії	4,04±0,14	39,4	0,05	8,11±0,17	136,5	0,25	<0,05
Еубактерії	0	-	-	5,07±0,22	17,1	0,03	-
Бактероїди	9,21±0,31	149,5	0,21	6,29±0,18	105,9	0,19	<0,05
Пептокок	8,32±0,21	108,1	0,15	0	-	-	-
Пептострептококи	0	-	-	6,37±0,18	42,9	0,08	-
Бактерії роду Clostridium	7,18±0,29	116,6	0,16	0	-	-	-
2. Факультативні анаеробні та аеробні бактерії							
Кишкова паличка	6,76±0,05	109,7	0,15	4,88±0,27	57,5	0,11	<0,05
Клебсієли	6,65±0,04	43,2	0,05	0	-	-	-
Протеї	5,75±0,08	74,7	0,10	0	-	-	-
Ентерококи	0	-	-	6,58±0,27	77,5	0,14	-
Стрептобацили	6,30	20,5	0,03	6,57±0,23	88,5	0,15	>0,05
Стафілококи	5,81±0,09	75,5	0,10	1,65±0,08	5,6	0,01	<0,05
Дріжджоподібні гриби роду Candida	3,84±0,21	24,9	0,03	0	-	-	-

Примітки: ККД – коефіцієнт кількісного домінування; КЗ – коефіцієнт значущості; р – достовірність змін у групах порівняння

За популяційним рівнем, коефіцієнтом кількісного домінування та коефіцієнтом значущості домінуючими бактеріями в екологічній системі мікробіоти тонкої кишки в щурів із цукровим діабетом, поєднаним з ішемією головного мозку, є автохтонні факультативні умовно патогенні бактероїди, клостридії, пептокок, кишкова паличка, умовно патогенні ентеробактерії (протеї та клебсієли) та стафілокок.

Незначну роль у мікробіоценозі тонкої кишки відіграють аеробні грампозитивні стрептобацили (транзиторні бактерії), дріжджоподібні гриби роду Candida, а також автохтонні облігатні найбільш фізіологічно корисні біфідобактерії та лактобактерії.

Таким чином, ішемія-реперфузія головного мозку, виконана на тлі цукрового діабету, порушує мікроекологію тонкої кишки, що проявляється глибоким дисбалансом як якісного, так і кількісного складу автохтонних облігатних факультативних умовно патогенних бактерій, а також алохтонних представників мікробіоти тонкої кишки, які транслокуються з інших джерел умовно патогенних ентеробактерій, пептокока, клостридій та дріжджоподібних грибів роду Candida. Сформований дисбаланс якісного і кількісного складу обумовлює розвиток кишкового дисбактеріозу, для якого характерним є елімінація або виражений дефіцит автохтонних облігатних найбільш фізіологічно корисних біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів та пептострептококів. Ці мікроорганізми в більшості експериментальних тварин елімінують із тонкої кишки, або вони персистують у цьому біотопі в мінімальних кількостях, доступних для виявлення бактеріологічним методом дослідження. На такому фоні зростає популяційний рівень умовно патогенних ентеробактерій (кишкові палички), стафілококів, бактероїдів, та настає контамінація тонкої кишки умовно патогенними ентеробактеріями (клебсієлами, протеями), бактеріями роду Clostridium, пептококом та дріжджоподібними грибами роду Candida.

Перераховане вище свідчить про глибокі порушення мікроекологічної системи тонкої кишки при ускладненні цукрового діабету ішемічно-реперфузійним ушкодженням головного мозку.

Висновки

1. У щурів із чотиримісячним цукровим діабетом та відстроченими наслідками ішемії-реперфузії головного мозку формується дисбактеріоз тонкої кишки з елімінацією або вираженим дефіцитом автохтонних облігатних найбільш фізіологічно корисних біфідобактерій, лактобактерій, ентерококів та пептострептококів, зростанням популяційного рівня умовно патогенних ентеробактерій (кишкові палички), стафілококів, бактероїдів та контамінацією тонкої кишки умовно патогенними ентеробактеріями (клебсієлами, протеями), бактеріями роду Clostridium, пептококом та дріжджоподібними грибами роду Candida.

Перспективи подальших досліджень

Результати досліджень свідчать про перспективність вивчення мікробної екології тонкої кишки за інших видів автоімунної патології.

Література

1. Бондаренко В.Н. Микрофлора человека: норма и патология / В.Н. Бондаренко // Наука в России. - 2007. - № 1. - С. 4-9.
2. Боцюрко В.І. Стан мікрофлори кишечника у хворих на цукровий діабет: розробка нових лікарських засобів для її нормалізації / В.І.Боцюрко, О.М.Сухолитка, І.Г.Бабенко //Актуальні питання сучасної эксперим. та клін. ендокринол. – Львів. - 2003. – С.17-18.
3. Дисбіоз кишечнику в діабетології / [Сидорчук І.Й., Ляшук Р.П., Пашковська Н.В. та ін.] ; –Чернівці : Мед університет, 2006. – 120 с.
4. Звягинцева Т.Д. Дисбактериоз кишечника: клиническое значение и перспективы лечения / Т.Д.Звягинцева, Сергиенко Е.И. // Эксперим. и клин. гастроэнтерол. – 2003. - №3. – С. 70-74.
5. Імунний статус хворих на цукровий діабет, що страждають на дисбактеріоз кишечнику / [Сидорчук І.Й., Маслянко В.А., Паньків В.І. та ін.] //Актуальні питання клініко-лабораторної діагностики захворювань людини. –Чернівці, 2001. – С. 22-23.

6. Камышный А.М. Влияние экспериментального сахарного диабета на процессы дифференцировки лимфоцитов в тимусе у крыс со спонтанной гипертензией / А.М.Камышный // Вісник морфології. – 2007. - №13(1).- С. 48-52.
7. Лабораторные тесты. Микробиологическая и вирусологическая диагностика / под ред. Турьянова М.Х. – Ч.І. – М. : Каппа, 1995. - 144 с.
8. Ляшук Р.П. Стан мікрофлори порожнини товстої кишки у хворих на цукровий діабет 1-го типу залежно від тривалості захворювання / Р.П.Ляшук // Буковинський мед. вісник. – 2002. – Т.6, №4. – С. 99-102.
9. Митрохин С.Д. Дисбактериоз: современные представления. Диагностика. Возможности и лечение / С.Д.Митрохин // Антибиотики и химиотерапия. – 2004. -№7. – С. 22-23.
10. Основные методы лабораторных исследований в клинической бактериологии / Руководство ВОЗ. - Женева, 1994. – 132 с.
11. Скибо Г.Н. Использование различных экспериментальных моделей для изучения клеточных механизмов ишемического поражения мозга / Г.Н. Скибо // Патология. – 2004. – Т.1, №1. – С. 22-30.
12. Ткачук О.В. Мікробна екологія загального препарату (порожнинної та мукозної мікрофлори) тонкої кишки в щурів зі стрептозотоциніндукованим цукровим діабетом / О.В.Ткачук, І.Й.Сидорчук // Клін. та эксперим. патол. – 2010. – Т. IX, №4 (34). – С. 106-109.
13. Циммерман Я.С. Дисбиоз (дисбактериоз) кишечника и/или синдром избыточного бактериального роста / Я.С.Циммерман // Клин. мед. – 2005. - №4. – С.14-22.
14. Шмакова И.П. Изменение состояния иммунной системы у больных, перенесших ишемический инсульт, под влиянием метода мезодиэнцефальной электромодуляции / И.П.Шмакова, О.С.Зоярнюк, Н.И.Савченко // Аллергология и иммунология. – 2004. – Т.5, №1. – С.211.
15. Brenner D. J. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology / D. J.Brenner; N. R.Krieg, J. R.Staley // The Proteobacteria, Part B: The Gammaproteobacteria. 2005. - V. 2. - 2nd ed. - XXVIII, 1108 p.
16. Kumari R. Impaired wound healing after cerebral hypoxia-ischemia in the diabetic mouse / R.Kumari, L.B.Willing, J.K.Krady [et al.] // J.Cereb.Blood Flow.Metabol. – 2007. –V.27, №4. – P. 710-718.
17. Geenen V. Importance of a thymus dysfunction in the pathophisiology of type 1 diabetes / V.Geenen, F.Brilot, C.Louis [et al.] // Rev. Med. Liege. – 2005. - V. 60, № 5-6. – P. 291-295.
18. Ishikawa H. Effect of intestinal microbiota on the induction of regulatory CD25+ CD4+ T cells / H.Ishikawa, K.Tanaka, Y.Maeda, Y. Aiba // Clin. Exp. Immunol. -2008. - V. I, № 153. - P. 127-135.
19. Liang Q.H. Influence of intestinal dysbacteriosis on immune and hematopoietec function in mice / Q.H.Liang, L.Zhang, S.C.Duan, [et al.] // Zhonghua Er Ke Za Zhi. - 2004. - V. 42, № 9. - P. 708-711.

Реферат

КАЧЕСТВЕННЫЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ ОБЩЕГО ПРЕПАРАТА ТОНКОЙ КИШКИ У КРЫС С СОЧЕТАННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЕМ СТРЕПТОЗОТОЦИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ДИАБЕТА И ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Ткачук А.В.

Ключевые слова:

Цель работы – изучить качественный и количественный состав микрофлоры общего препарата тонкой кишки у крыс с четырехмесячным сахарным диабетом, осложненным ишемией-реперфузией головного мозга, путем бактериологического и микологического исследования. Показано, что у крыс с четырехмесячным сахарным диабетом и отдаленными последствиями ишемии-реперфузии головного мозга формируется дисбактериоз тонкой кишки с элиминацией и выраженным дефицитом аутохтонных облигатных бифидобактерий, лактобактерий, энтерококков и пептострептококков и повышением популяционного уровня условно патогенных энтеробактерий (кишечные палочки), стафилококков, бактероидов и контаминацией тонкой кишки условно патогенными энтеробактериями (клебсиелами, протеями), бактериями рода Clostridium, пептококком и дрожжеподобными грибами рода Candida.

Summary

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE COMPOSITION OF MICROFLORA IN SPECIMENS OF SMALL INTESTINE IN RATS UNDER COMBINED EFFECT OF STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES MELLITUS AND BRAIN ISCHEMIA-REPERFUSION

Tkachuk O.V.

Key words: small intestine, microflora, streptozotocin-induced diabetes mellitus, brain ischemia-reperfusion.

This work was aimed to study qualitative and quantitative composition of microflora in specimens of small intestine taken from rats experiencing diabetes mellitus for four months which was complicated with long-term effects of cerebral ischemia-reperfusion by bacteriological and mycological investigations. It was shown that dysbacteriosis of small intestine developed accompanied with elimination or significant deficit of autochthonous obligatory Bifidobacteria, Lactobacteria, Enterococci and Peptococci, increasing of the population of conditionally pathogenic enterobacteria (Escherichia coli), Staphylococci, Bacteroids and contamination of the small intestine by conditionally pathogenic enterobacteria (Klebsiellas, Proteuses), Clostridia, Peptococci and yeast-like microorganisms of Candida genus.