

**ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНАЯ И МИКРОСОМАЛЬНАЯ СИСТЕМЫ ПРИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ ГЕЛИОТРИНОВОГО ГЕПАТИТА****Ташкентская медицинская академия (г. Ташкент, Узбекистан)**

Работа выполнена в рамках гранта «Роль факторов апоптоза в патогенезе защитного барьера слизистой оболочки желудка и кишечника при сальмонеллезной инфекции и хронических гепатитах (экспериментальные исследования)», ФБ-СС-О-61467. ФДСС 12-14.

**Вступление.** В последнее время заболеваемость и смертность от инфекционных заболеваний существенно возросли, поэтому проблема инфекционных и токсических гепатитов сохраняет свою актуальность как в теоретическом, так и в практическом отношении. До настоящего времени многие механизмы, лежащие в основе действия гепатотропных ядов на субклеточном и молекулярном уровнях, до конца не изучены. Остаются не исследованными межорганные и межсистемные взаимоотношения при воздействии гепатотропных агентов, хотя известно, при воздействии гепатотропного яда на организм в патологический процесс вовлекаются не только печень, но и другие органы и системы, в том числе пищеварительный тракт. Монооксигеназная ферментная система локализована почти во всех органах и тканях организма млекопитающих, причем в некоторых из них по своей активности она не уступает таковой в печени. Поэтому в последние годы особенности функционирования микросомальных монооксигеназ внепеченочной локализации и влияние на них различных интенсивно изучается.

**Цель исследования.** Изучение показателей оксидантно-антиоксидантной и монооксигеназной систем слизистой желудка и тонкого кишечника в динамике острой сальмонеллезной инфекции на фоне хронического гелиотринового гепатита.

**Объект и методы исследования.** В работе использовано 120 белых беспородных крыс-самцов массой 100-120 г. При проведении экспериментов руководствовались «Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментов и других научных целей» (Страсбург, 1985). Животные были разделены на 3 группы: 1-я – животные с острым экспериментальным сальмонеллезом; 2-я – животные с хроническим гелиотриновым гепатитом; 3-я – животные с хроническим гелиотриновым гепатитом, на фоне которого была вызвана острая сальмонеллезная

инфекция. Для воспроизведения модели сальмонеллезной инфекции животным внутрижелудочно однократно вводили штамм *S. typhimurium* из расчета 1 млрд микробных тел на 100 г массы. Животных под рауш-наркозом забивали методом мгновенной декапитации в 1-, 4-, 7- и 10-е сутки после заражения.

Хронический токсический гепатит (ХТГ) воспроизводили пероральным введением раствора гелиотрина, подкисленного соляной кислотой (рН 7,0), из расчета 50 мг/кг (5 мг гелиотрина на 100 г) массы один раз в неделю на протяжении 42 дней по методике Н. Х. Абдуллаева и соавт. [1]. Летальность составила 8%. Животных забивали на 60-й, 90-й и 120-й дни от начала эксперимента. Согласно данным предыдущих исследований [4], более выраженные изменения хронического гепатита обнаруживались на 90-й день эксперимента, поэтому заражение сальмонеллезной инфекцией проводили именно в этот срок.

Результаты исследования обрабатывали с помощью прикладных программ Statistica 6, Biostat. Данные представлены в виде средних арифметических значений ( $M$ ) и стандартных отклонений ( $m$ ). Для сравнения выборок применяли  $t$ -критерий Стьюдента или парный критерий Вилкинсона. Уровень значимости считали достоверными при  $P < 0,05$ .

Выделение микросомальной фракции слизистой желудка и кишечника осуществлялось дифференциальным центрифугированием на рефрижераторных центрифугах PC-6 и VAC-601. Содержание цитохрома P-450 в микросомальной суспензии определяли на спектрофотометре UV/VIS (LTD, Китай) по методу Т. Omura, R. Sato [8]. Уровень цитохрома  $b_5$  – после восстановления опытных образцов суспензии микросом при добавлении НАДН.

В микросомах слизистой желудка и тонкого кишечника определяли содержание МДА (в нмоль/мл), активность СОД (в УЕ/мин/мл) и КТ (в мкат/мин/л) соответственно по методу Л. И. Андреевой и соавт. [2], В. Г. Мхитаряна, Г. Е. Бадальяна [5], М. А. Королюка и соавт. [3].

**Результаты исследования и их обсуждение.** Данные о состоянии оксидантно-антиоксидантной систем приведены в **таблице**. Как видно из **таблицы**, при острой сальмонеллезной инфекции в

милосоммах слизистих оболочек желудка и кишечника, наряду с экспрессией МДА отмечается низкая активность ферментов АОС СОД и КТ. На 4-е, 7-е и 10-е сутки в милосоммах слизистой желудка и кишечника активность этих ферментов существенно снижается по сравнению как с данными предыдущих сроков исследования, так и контроля. С увеличением срока опыта потенциальные запасы СОД и КТ истощаются из-за увеличения уровня МДА в ответ на накопление в этих тканях эндогенных токсических продуктов.

При остром гелиотриновом гепатите наблюдается интенсификация ПОЛ при несостоятельности АОС. В результате этого уменьшается площадь слизистой оболочки желудка и кишечника, дистрофические процессы преобладают над регенеративными, возникает гипотрофия [7]. При хроническом гелиотриновом гепатите в слизистой желудка и кишечника содержание МДА на 60-120-е сутки возрастает соответственно в 2,4 и 3,7, 2,6 и 5,2 раза.

Несостоятельность антиоксидантной системы в милосоммах слизистой желудка выражалась в достоверном снижении содержания СОД: так, на 60-90-й и 120-й день исследования этот показатель был ниже нормы соответственно в 5,2; 6,1 и 5,6 раза, а уровень каталазы снижался в 4,5; 5,9 и 5,2 раза ( $P < 0,001$ ).

В милосоммах слизистой кишечника нарушение АОС было менее выраженным: содержание СОД было ниже нормы в 3,3; 3,9 и 3,7 раза, а каталазы – на 3,1; 4,9 и 4,5%.

Следовательно, усиление свободнорадикальных процессов в субклеточных структурах слизистой желудка и кишечника и нарушение системы АОС при ХТГ являются важными механизмами метаболических сдвигов в слизистой оболочке этих структур при хронической интоксикации организма гепатотропными ядами.

Присоединение к вирусным гепатитам различных инфекционных и соматических заболеваний затягивает течение основного заболевания, нередко утяжеляет его, способствуя переходу в затяжную или хроническую форму [6].

Развитие острого сальмонеллеза на фоне хронического гелиотринового гепатита характеризуется тем, что содержание МДА в 1-е и 4-е сутки после заражения сальмонеллезной инфекцией возрастает. При этом активность СОД и КТ более выражено снижается как по сравнению с контрольной группой, так и с группой животных с острым сальмонеллезом и хроническим гепатитом.

Полученные данные свидетельствуют о том, что сочетание сальмонеллезной инфекции с хроническим гелиотриновым гепатитом приводит к более выраженной несостоятельности антиоксидантной системы.

В последние годы установлено, что в слизистой желудка и кишечника, как и в печени, имеется достаточно мощная система МОС, лимитирующая резистентность ее слизистой к эндо- и экзотоксинам, токсическим веществам, поступающим с пищей.

МОС слизистой желудка и кишечника усиливает свою активность в зависимости от фактора питания и может регулироваться под влиянием различных веществ.

Цитохром Р-450-зависимая монооксигеназная система слизистой кишечника играет важную роль в регуляции эндогенных метаболических процессов, протекающих в слизистой кишечника, и следовательно, устойчивости к воздействию повреждающих токсикантов, изменения функционального состояния цитохром Р-450-зависимой МОС может привести к метаболическим нарушениям в слизистой кишечника с аккумуляцией в ней токсических продуктов нарушенных процессов обмена веществ, снижающих защитный барьер слизистой кишечника и вызывающих патологические изменения.

У крыс в условиях острого сальмонеллеза уровень цитохромов Р-450 и  $b_5$  в милосоммах слизистой кишечника изменялся неоднозначно. Так, в 1-е сутки после введения животным культуры *S. typhimurium* содержание цитохрома Р-450 в милосоммах слизистой кишечника снижалось на 52,9% ( $P < 0,05$ ), а цитохрома  $b_5$  – только на 26,7%. На 4-е сутки с начала эксперимента содержание цитохрома Р-450 по сравнению с интактными животными уменьшалось на 67,4%, а цитохрома  $b_5$  – на 40% ( $P < 0,05$ ). На 7-е сутки с начала эксперимента уровень цитохрома Р-450 в милосоммах слизистой кишечника оставался ниже, чем у здоровых животных на 70,3%, а цитохрома  $b_5$  – на 44,2% ( $P < 0,05$ ). На 10-е сутки изучаемые показатели были ниже, чем у интактных животных соответственно на 69,3% и 56,7% ( $P < 0,05$ ). Выявленные изменения указывают на специфические особенности регуляции метаболических процессов в слизистой кишечника.

Таким образом, патогенетическое действие ПОЛ по-видимому, проявляется, главным образом, на мембранах клеток тканей слизистой оболочки желудка и кишечника. При этом снижение активности ферментов АОС усугубляет тяжесть сальмонеллезной инфекции и способствует ее прогрессированию.

У животных с хроническим гелиотриновым гепатитом в милосоммах желудка содержание Р-450 на 60-е, 90-е и 120 сутки снижается соответственно на 28,4; 43,2 и 33%, а в кишечнике – на 37,8; 51 и 46,2%. Содержание цитохрома  $b_5$  в милосоммах слизистой желудка во все сроки исследования было ниже контроля в 2,33 – 2,0 раз. В кишечнике наиболее выраженное снижение уровня цитохрома  $b_5$  приходится на 90-е сутки – 35% по сравнению с контролем.

Исследование цитохрома Р-450 в милосоммах слизистой желудка и кишечника в динамике развития сальмонеллезной инфекции на фоне хронического гелиотринового гепатита показало более выраженное снижение его содержания по сравнению с группами животных острой сальмонеллезной инфекцией и хроническим гепатитом, особенно на 7- и 10-е сутки развития сальмонеллезной инфекции ( $0,027 \pm 0,008$  нмоль/мг;  $0,094 \pm 0,003$  нмоль/мг и  $0,019 \pm 0,002$  нмоль/мг;  $0,081 \pm 0,004$  нмоль/мг при

Таблиця

Показатели оксидантно-антиоксидантной и микросомальной систем слизистой желудка и кишечника при сальмонеллезной инфекции на фоне хронического гепатита

Показатели	Контрольная группа	Острый сальмонеллез, сут					Хронический гепатит, день					Острый сальмонеллез на фоне хронического гепатита, сут				
		1-е	4-е	7-е	10-е	60-ый	90-ый	120-ый	1-е	4-е	7-е	10-е				
		1-е	4-е	7-е	10-е	60-ый	90-ый	120-ый	1-е	4-е	7-е	10-е				
МДА нмоль/ мл	2,08±0,21 1,065±0,089	4,28±0,36 3,7±0,39	8,13±0,57 7,45±0,5	6,63±1,12 8,625±0,6	5,0±0,72 4,0±0,58	5,35±1,1 5,5±0,92	5,12±0,65 5,11±0,58	4,97±0,79 5,73±0,87	6,4±0,87 6,7±0,48	6,87±0,68 7,73±0,87	7,93±0,72 8,2±0,64					
	5,2±0,52 7,225±0,677	3,23±0,52 3,78±0,41	1,68±0,13 2,28±0,51	1,48±0,272 1,9±0,23	1,0±0,38 2,2±0,44	0,85±0,21 1,82±0,32	0,92±0,18 1,94±0,42	0,63±0,14 1,68±0,33	0,58±0,18 1,25±0,2	0,45±0,13 0,90±0,19	0,49±0,4 1,23±0,34					
КТ Мкат/ мл	35,7±2,94 44,025±1,43	14±1,26 27±1,73	9,56±0,42 17,88±1,81	8,7±1,0 13,03±1,3	7,9±1,8 14,3±2,2	6,35±1,3 8,97±2,18	6,79±1,18 9,67±2,53	6,42±1,62 7,63±1,78	5,52±1,2 6,83±1,8	4,43±1,13 5,3±1,42	2,88±0,8 5,13±1,13					
	0,088±0,003 0,31±0,008	0,041±0,006 0,101±0,003	0,026±0,003 0,092±0,004	0,029±0,004 0,095±0,003	0,063±0,002 0,193±0,008	0,050±0,013 0,152±0,06	0,059±0,003 0,167±0,06	0,043±0,002 0,109±0,004	0,034±0,009 0,108±0,005	0,027±0,008 0,094±0,003	0,019±0,002 0,081±0,004					
b-5 нм/ мг	0,028±0,002 0,12±0,004	0,019±0,001 0,088±0,005	0,013±0,001 0,053±0,003	0,014±0,001* 0,052±0,003	0,012±0,001 0,102±0,004	0,014±0,001 0,065±0,002	0,013±0,001 0,089±0,003	0,014±0,001 0,047±0,002	0,012±0,001 0,032±0,002	0,010±0,001 0,024±0,001	0,010±0,0001 0,020±0,001					

Примечание: в числителе данные по слизистой желудка, знаменателе – кишечника. \* – p>0,05 по сравнению с контролем.

контроле  $0,088 \pm 0,006$  нмоль/мг;  $0,31 \pm 0,008$  нмоль/мг соответственно). Характер изменений содержания цитохрома  $b_5$  в микросомах слизистой желудка и кишечника был таким же как и цитохрома P-450.

Таким образом, при остром сальмонеллезе, который развивается на фоне хронического гепатита, в микросомах желудка и особенно, кишечника наблюдается резкое уменьшение содержания цитохромов P-450 и  $b_5$ .

**Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о нарушении активности МОС, АОЗ, увеличении интенсивности ПОЛ и важной их роли в развитии патологического процесса в микросомах слизистой оболочки желудка и тонкого кишечника при остром экспериментальном сальмонеллезе, хроническом гепатите и особенно при сочетании этих двух

инфекций. Нарушение функции монооксигеназной системы в микросомах слизистой тонкого кишечника приводит к повышенному поступлению токсических продуктов, что усиливает нагрузку на систему детоксикации и, как следствие, способствует усугублению степени тяжести и увеличению интенсивности протекания патологического процесса как в этом органе, так и в организме в целом.

**Перспективы дальнейших исследований.** При сальмонеллезной инфекции и её сочетании с хроническим гепатитом перспективным можно считать изучение нарушений оксидантно-антиоксидантной и микросомальной систем в микросомах слизистой желудка и кишечника, что позволит глубже понять патогенез развития сочетанных инфекций и разработать методы их лечения.

### Литература

1. Абдуллаев Н. Х. Влияние различных пестицидов на функциональное состояние печени в зависимости от длительности их воздействия / Н. Х. Абдуллаев, С. И. Клейнер, Р. М. Рузибакиев // Мед. журн. Узбекистана. – 1985. – №7. – С. 45-47.
2. Андреева А. И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / А. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1989. – №7. – С. 41-49.
3. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 12-15.
4. Кульманова М. У. Изменение состава слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта при хроническом гелиотриновом гепатите и его коррекции хитозаном / М. У. Кульманова, Р. А. Сабирова, Р. Ю. Милушева [и др.] // Мед. журн. Узбекистана. – 2008. – №5. – С. 84-87.
5. Мхитарян В. Г. Определение активности супероксиддисмутазы / В. Г. Мхитарян, Г. Е. Бадалян // Журн. exper. и клин. мед. – 1978. – №6. – С. 7-11.
6. Соринсон С. Н. Краткий справочник по инфекционным болезням (диагностика, терапия, профилактика) / С. Н. Соринсон, В. В. Шкарин. – Н. Новгород : Изд-во НГМА, 1998. – 404 с.
7. Усманов М. М. Пищеварительно-транспортный конвейер углеводов при хирургическом лечении осложненных дуоденальных язв : автореф. дис. на соискание ученой степени доктора. мед. наук : спец. 14. 01. 17 «Хирургия» / М. М. Усманов. – Ташкент, 2007. – 23 с.
8. Omura T. The carbon –monooxide binding pigment of liver micrisomes. J. evidence for hemoprotein nature / T. Omura, R. Sato // J. Biol. Chem. -1968. – Vol. 7. – P. 2370-2378.

УДК 616. 981. 49+616. 36-002-085

### ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНА І МІКРОСОМАЛЬНА СИСТЕМИ ПРИ САЛЬМОНЕЛЬОЗНІЙ ІНФЕКЦІЇ НА ТЛІ ГЕЛІОТРИНОВОГО ГЕПАТИТА

Кульманова М. У., Сабирова Р. А., Турсунов Д. Х., Вейсалов Ш. І., Азізова Д. М.

**Резюме.** Експериментальними дослідженнями встановлено порушення активності ферментів МОС, АОЗ, інтенсивності ПОЛ і показана їх роль в розвитку патологічного процесу в микросомах слизової оболонки шлунку і тонкого кишечника при гострому експериментальному сальмонельозі, хронічному гепатиті і особливо при їх поєднанні. Порушення функції монооксигеназної системи в микросомах слизової оболонки тонкого кишечника приводить до підвищеного надходження токсичних продуктів, що підсилює навантаження на систему детоксикації, сприяючи посилюванню ступеня тяжкості і збільшенню інтенсивності протікання патологічного процесу як в цьому органі, так і організмі в цілому.

**Ключові слова:** сальмонельозна інфекція, хронічний гепатит, микросомальне окиснення, оксидантна та антиоксидантна системи.

УДК 616. 981. 49+616. 36-002-085

### ОКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНАЯ И МИКРОСОМАЛЬНАЯ СИСТЕМЫ ПРИ САЛЬМОНЕЛЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ НА ФОНЕ ГЕЛИОТРИНОВОГО ГЕПАТИТА

Кульманова М. У., Сабирова Р. А., Турсунов Д. Х., Вейсалов Ш. И., Азізова Д. М.

**Резюме.** Экспериментальными исследованиями установлено нарушение активности МОС, АОЗ, интенсивности ПОЛ и показана их роль в развитии патологического процесса в микросомах слизистой оболочки желудка и тонкого кишечника при остром экспериментальном сальмонеллезе, хроническом гепатите и особенно при их сочетании. Нарушение функции монооксигеназной системы в микросомах слизистой тонкого кишечника приводит к повышенному поступлению токсических продуктов, что усиливает нагрузку на

систему детоксикації спосібствує усугубленню степені тяжкості і збільшенню інтенсивності протекання патологічного процесу як в цьому органі, так і організмі в цілому.

**Ключевые слова:** сальмонеллезная инфекция, хронический гепатит, микросомальное окисление, оксидантная и антиоксидантная системы.

UDC 616. 981. 49+616. 36-002-085

**The Oxidant-Antioxidant System in Microsomal and Salmonella Infection against Heliotrine Hepatitis  
Kulmanova M. U., Sabirov R. A., Tursunov D. H., Veysalov S. I., Azizova D. M.**

**Abstract.** In acute Salmonella infection in the mucous membranes of the microsomes of stomach and intestines, along with the expression level of MDA in them there is a low enzyme activity AOC – SOD and CT. At 4, 7 and 10 days in the microsomes gastric and intestinal mucosa the activity of these enzymes is significantly reduced as compared with the previous study periods, and compared with the control.

In chronic heliotrine hepatitis in the gastric mucosa and intestine MDA content increased from 2. 4, 3. 7 to 2. 6, 5. 2 times in the 60-120 day study, respectively, compared with the control group.

The failure of the antioxidant system in microsomes of gastric mucosa was expressed in the significant decrease of SOD content in all periods of the study: 5. 2, 6. 1 and 5. 6 times of normal, respectively, for 60 -, 90 -, the 120th day of the experiment. Reduced catalase was 4. 5, 5. 9 and 5. 2-fold ( $P < 0. 001$ ). In the intestinal mucosa microsomes violation AOC was less pronounced: indicators of SOD were below normal at 3. 3, 3. 9 and 3. 7 times, and catalase – 3. 1, 4. 9 and 4. 5 %, respectively, the terms of the study.

The development of acute salmonellosis against chronic heliotrine hepatitis is characterized in that, the content of MDA increased at 1 and 4 days of infection of Salmonella infection over against the other terms of the investigation. SOD activity and CT is more pronounced decrease as compared to the control group and the group of animals with acute salmonellosis and chronic hepatitis.

At 1 day after administration to an animal culture *S. typhimurium* cytochrome P-450 in the intestinal mucosa microsome was reduced with respect to intact animals by 52. 9% ( $P < 0. 05$ ) and at the same time the level of the other MOS microsomal hemoprotein intestinal mucosa – cytochrome  $b_5$  decreased as compared with the intact animals by 12%.

At day 4 from the beginning of the experiment the contents of cytochrome P-450 decreased in comparison with intact animals on 67. 4% of cytochrome  $b_5$  – 28% ( $P < 0. 05$ ), respectively. On the 7th day from the beginning of the experiment the level of cytochrome P-450 in the intestinal mucosa microsomes staying decreased relatively healthy animals by 70. 3%. Cytochrome  $b_5$  also decreased by 47% ( $P < 0. 05$ ) with respect to intact animals. On the 10th day from the beginning of the experiment the contents of cytochrome P-450 decreased in comparison with intact animals by 69. 3% ( $P < 0. 05$ ) and microsomal cytochrome  $b_5$  intestinal mucosa decreased by 50%. Identified in the investigations of changes in the content of microsomal cytochrome in the intestinal mucosa microsomes indicate the specific features of the regulation of metabolic processes in the intestinal mucosa.

In chronic heliotrine hepatitis in gastric microsomal P-450 content reduced by 28. 4, 43. 2 and 33%, and this reduction in the intestine hemeprotein was 37. 8, 51, 46. 2%, respectively, 60, 90 and 120 day investigations. Decreasing of cytochrome  $b_5$  in gastric mucosal microsomes ranged from 23. 3 to 20 times compared to the control group during all periods of the investigations. In the intestine, the most pronounced decrease is in his account at the 90th day of the experiment and it was 35% of the control group. With the development of acute salmonellosis against chronic hepatitis found most dramatic reduction of cytochrome P-450 in microsomes  $b_5$  stomach, particularly of the intestine.

**Key words:** Salmonella infection, chronic hepatitis, microsomal oxidation, oxidant and antioxidant systems.

*Рецензент – проф. Скрипник І. М.*

*Стаття надійшла 22. 10. 2013 р.*