

Чемич М.Д.

Сумський державний університет, кафедра інфекційних хвороб, в.о.зав.кафедри - доцент,
Чемич М.Д.

УДК 612.017.4:579.842.1/.2:[616.33/.34-005.1-008.821.1+616.151.1]

ВПЛИВ ЕНДОТОКСИНІВ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ НА РЕГІОНАРНИЙ КРОВОТІК, ВНУТРІШНЬОШЛУНКОВУ рН ТА ГЕМАТОКРИТ

Ключові слова: ендотоксикоз, експеримент, регіонарний кровотік слизової оболонки шлунка, внутрішньошлункова рН, гематокрит

Незважаючи на стабілізацію рівня захворюваності на шигельози та інші гострі кишкові інфекційні хвороби, проблема залишається актуальною. Так, протягом 2001 року в 14 областях України зареєстровано 24 спалахи гострих кишкових інфекцій (ГКІ), під час яких постраждало 4453 особи [1]. Спостерігаються також високий рівень захворюваності на шигельози і тенденція до збільшення летальності в інших країнах [2]. Багато уваги приділяється розробленню методів профілактики ГКІ [3].

Достатньо вивчено тканинний рівень патогенезу шигельозу: захоплення шигел М-клітиною епітелію [4], контактування М-клітин з макрофагом та запускання апоптозу, виділення цитокінів [5]. На клітинному рівні: проникнення в ентероцити, розмноження та поширення шигел [6].

Проникаючи в травний тракт людини, мікроорганізми піддаються дії неспецифічних та специфічних факторів захисту, що призводить до масового розпаду і вивільнення ендотоксинів. Останні можуть пошкоджувати слизову оболонку шлунка та кишечника, спричиняти параліч вазомоторів, знижувати судинний тонус. Якщо морфологічним змінам в кишечнику при ГКІ приділяється багато уваги [7], то зміни з боку шлунка залишаються маловивченими або взагалі не вивченими.

Мета роботи. Вивчити вплив ендотоксину кишкової палички, протея мірабіліс, шигели Зонне в експерименті на регіонарний кровотік слизової оболонки шлунка щурів, внутрішньошлункову рН і гематокрит.

Матеріали та методи. Експериментальні дослідження були проведені на 221 білому щурі – самцях масою 230-250 г, які були в тримісячному віці, та на 52 білих мишах-самцях масою 25-30 г.

Контрольній групі тварин вводили внутрішньочеревно фізіологічний розчин натрію хлориду в дозі 3 мл/кг маси, іншим тваринам – ендотоксини: першій групі – ендотоксин кишкової палички (сер. К-1), другій групі – протея мірабіліс (117 ТА сер. 4), третій групі – шигел Зонне (сер. Ш-2), отримані методом Westfall у НДІ вакцин та сироваток ім. І.І.Мечнікова РАМН. Ендотоксини вводили в дозі 3 мг/кг маси на фізіологічному розчині натрію хлориду в об'ємі 3 мл/кг маси.

Через різні проміжки часу (1, 2, 6, 18, 24, 48 год.) вивчали показники регіонарного кровотоку слизової оболонки шлунка (РКСОШ), внутрішньошлункової рН, гематокриту. Перед дослідженням тварин не годували протягом 12 годин при вільному доступі до води. Тварин наркотизували 1% розчином аміталу-натрію з розрахунку 80 мг/кг маси, фіксували за кінцівки, проводили серединну лапаротомію і огляд органів черевної порожнини. Розріз у дні шлунка виконували на відстані 0,2-0,3 см від стравоходу. Шлунок промивали фізіологічним розчином натрію хлориду ($t^0 - 37^0\text{C}$) за допомогою шприца та голки з тупим кінцем, введеної через розріз.

РКСОШ визначали за кліренсом водню [8]. Один платиновий електрод розміщували в антральному відділі на відстані 0,3-0,4 см від пілоруса, другий – в середній третині тіла

шлунка по великій кривизні (на відстані 1,7-2,0 см від пілоруса). Електрод порівняння (каломельний) розміщали в черевній порожнині таким чином, щоб він не порушував кровообіг та не заважав дослідженню. Потім записували потенціали платинових електродів. Насичення тканин воднем досягали шляхом подачі його через маску, інгаляцію припиняли при зміні полярності запису.

Після закінчення дослідження РКСОШ визначали внутрішньошлункову рН [9] шляхом введення рН-зонда через розріз. Усі показники реєстрували за допомогою швидкодіючого самописця з однаковою швидкістю запису. Визначали гематокрит. Евтаназію здійснювали шляхом декапітації або передозуванням наркотичної речовини.

Результати та їх обговорення. У контрольну групу ввійшло 92 щурі. Зниження маси тіла до початку експерименту та перед дослідженням не було. При огляді черевної порожнини після лапаротомії будь-яких змін з боку внутрішніх органів не виявлено: серозна оболонка шлунка та кишечника блідо-рожевого кольору, чиста, блищить; шлунок та кишечник не роздуті, звичайних розмірів; вільної рідини в черевній порожнині немає.

Для визначення дії на шлунок та на показники, що вивчаються, одній групі щурів промивали шлунок, а іншій дослідження проводили лише після видалення пінцетом твердих залишків їжі, якщо вони були.

Промивання шлунка не викликало достовірних змін РКСОШ, внутрішньошлункової рН і гематокриту. Так, у першій групі РКСОШ в середній третині тіла склав $122,85 \pm 8,71$ мл/хв·100 г, в антрумі – $116,37 \pm 10,99$ мл/хв·100 г, внутрішньошлункова рН – $3,44 \pm 0,15$, гематокрит – $0,448 \pm 0,006$ л/л. У групі без промивання шлунка РКСОШ був у середній третині тіла – $140,44 \pm 9,58$ мл/хв·100 г ($P > 0,05$), в антрумі – $127,76 \pm 10,57$ мл/хв·100 г ($P > 0,05$), внутрішньошлункова рН – $3,30 \pm 0,28$ ($P > 0,05$), гематокрит – $0,465 \pm 0,015$ л/л ($P > 0,05$).

Після внутрішньочеревного введення фізіологічного розчину РКСОШ весь період дослідження (1-48 год.) був на одному й тому самому рівні, за винятком зменшення його до 48 год. у середній третині тіла порівняно з даними, отриманими через 1 год. РКСОШ у середній третині тіла через 1 год. дорівнював $138,05 \pm 5,58$ мл/хв·100 г, 3 год. – $124,41 \pm 8,29$, 6 год. – $119,73 \pm 13,57$, 18 год. – $112,19 \pm 11,76$, 24 год. – $110,23 \pm 8,67$, 48 год. – $95,75 \pm 11,86$ мл/хв·100 г.

В антральному відділі у ті самі терміни він склав відповідно $150,66 \pm 8,25$, $141,74 \pm 7,85$, $121,04 \pm 12,39$, $137,79 \pm 7,74$, $124,53 \pm 10,41$, $129,32 \pm 9,79$ мл/хв·100 г. При зіставленні даних із результатами, отриманими після експерименту з щурами, яким не вводився фізіологічний розчин натрію хлориду, виявлено підвищення РКСОШ в антральному відділі через 1 год. ($P < 0,05$).

Внутрішньошлункова рН коливалась у межах $3,10 \pm 0,3 \div 4,29 \pm 0,55$, не відрізняючись від показників після промивання шлунка.

Гематокрит склав $0,423 \pm 0,017 \div 0,465 \pm 0,013$ л/л, тобто він також не відрізнявся від показників у тварин після промивання шлунка ($P > 0,05$).

При вивченні дії лікарських речовин на інтактних щурів отримані дані порівнювали з показниками контрольних груп. Використання глюкосолану та сунамолу не супроводжувалось будь-якими змінами. Після введення ентеросорбенту СКНоП-1К відмічено зниження РКСОШ у середній третині тіла без змін інших показників. Теонікол, навпаки, викликав посилення кровотоку в антральному відділі та зміну внутрішньошлункової рН у лужний бік (дивись табл.1).

Після внутрішньочеревного введення тренталу змін РКСОШ не виявлено: у середній третині тіла він дорівнював $149,68 \pm 6,65$ мл/хв·100г, в антральному відділі – $151,10 \pm 7,50$ мл/хв·100г (контроль відповідно $138,05 \pm 5,58$ і $150,66 \pm 8,28$ мл/хв·100г, $P > 0,05$). Гематокрит був збільшений ($0,469 \pm 0,011$ л/л, контроль $0,423 \pm 0,17$; $P < 0,01$), хоча не відрізнявся від показників у щурів, яким не вводили внутрішньочеревно фізіологічний розчин натрію хлориду. Внутрішньошлункова рН не відрізнялась від контролю ($2,43 \pm 0,29$, контроль $3,31 \pm 0,54$; $P > 0,05$).

РКСОШ, внутрішньошлункова рН, гематокрит у щурів під дією лікарських речовин (M±m)

Показник	Група тварин				
	Контрольна	Глюкосолан	СКНюП-1К	Сунамол	Теонікол
РКСОШ (мл/хв·100г), середня третина тіла, антральний відділ	122,85±8,71 116,37±10,99	132,79±12,10 119,03±12,43	94,02±7,94* 125,70±8,96	110,79±9,74 104,24±11,02	134,55±8,22 150,32±9,09*
Внутрішньошлункова рН	3,44±0,15	2,82±0,37	2,95±0,42	3,13±0,35	5,13±0,31*
Гематокрит (л/л)	0,448±0,006	0,456±0,007	0,478±0,009	0,465±0,009	0,433±0,009

* Показник достовірності різниці відносно контролю

Дію бактеріальних ендотоксинів вивчали на 139 щурів. При проведенні експерименту відмічено зниження маси тварин (на 13,21±2,62-18,44±3,21 г) більшою мірою серед щурів, яким був введений ендотоксин шигел Зонне. Через 1 год. після введення щурам ендотоксину виявляли: повнокрів'я судин шлунка та кишечника, виражену гіперемію. Через 6 год. відбувалось здуття шлунка, при розрізі якого виділявся газ із неприємним запахом, гіперемія зберігалась. Через 18-24 год. зміни в більшості тварин, яким вводили ендотоксин кишкової палички та протей мірабіліс, зникали, серозна оболонка ставала блідо-рожевою, здуття шлунка не спостерігалось. У щурів, яким було введено ендотоксин шигел Зонне, зміни зберігались і приєднувалось здуття кишечника. У цієї групи тварин гіперемія серозної оболонки зберігалась ще через 48 год., хоча здуття шлунка та кишечника зникали.

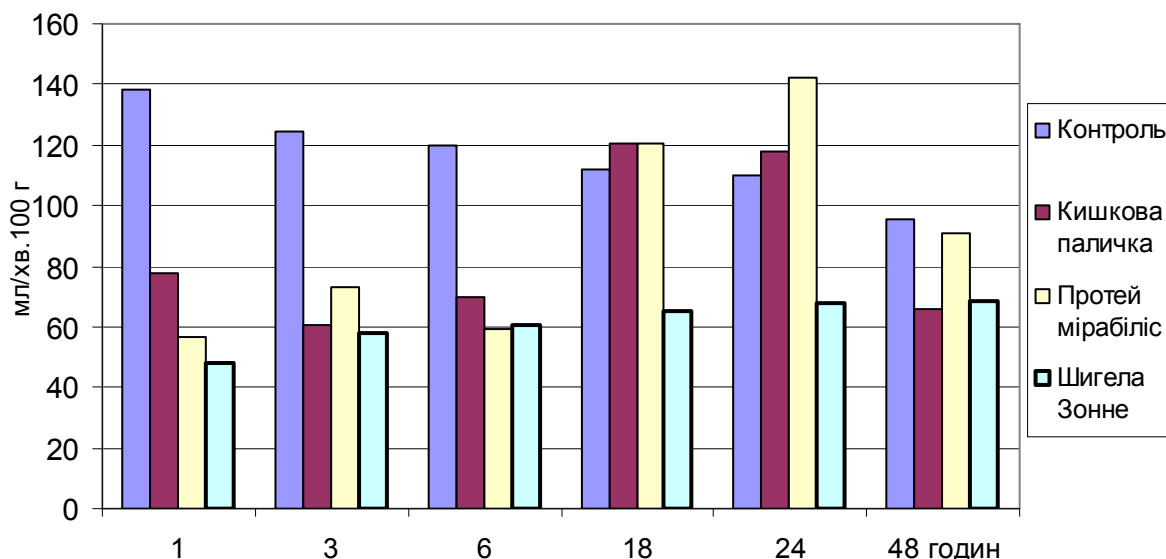


Рисунок 1

РКСОШ у середній третині тіла у щурів після введення бактеріальних ендотоксинів

Через 1 год. після внутрішньочеревного введення ендотоксинів кишкової палички протей і шигел у щурів відбувалось зниження РКСОШ у середній третині тіла (відповідно до 77,75±9,34, 56,80±8,96 та 48,20±8,11 мл/хв·100 г), що зберігався на тому самому рівні через 3 год. (60,88±7,09, 73,22±7,25 та 57,84±7,80 мл/хв·100 г) і 6 год. (69,63±12,53, 59,53±11,12 та 60,44±8,21 мл/хв·100 г). У порівнянні з контролем зниження РКСОШ було суттєвим (P<0,01-

0,001). Потім через 18 і 24 год. спостерігалось підвищення РКСОШ у перших двох груп тварин, за виключенням третьої (шигела Зонне), де кровотік був на тому самому рівні (відповідно $120,30 \pm 1,24$, $120,28 \pm 10,22$, $64,88 \pm 9,24$ мл/хв·100 г та $117,78 \pm 8,24$, $142,00 \pm 5,04$, $67,54 \pm 7,02$ мл/хв·100 г). Через 48 год. у перших двох групах виявляли повторне зниження РКСОШ, а у третьої групи він не змінювався ($66,11 \pm 7,95$, $91,17 \pm 5,94$ та $68,28 \pm 6,48$ мл/хв·100г).

В антральному відділі РКСОШ увесь період дослідження був знижений, тоді як фізіологічний розчин через 1 год. після його введення, навпаки, посилював кровотік в антральному відділі (дивись табл. 2).

Таблиця 2

Вплив бактеріальних ендотоксинів на РКСОШ антрального відділу ($M \pm m$)

Речовина	Час після введення речовини (год.). РКСОШ (мл/хв · 100 г)					
	1	3	6	18	24	48
Фізіологічний розчин (n=36)	$150,66 \pm 8,25$	$141,74 \pm 7,85$	$121,04 \pm 12,39$	$137,79 \pm 7,74$	$124,53 \pm 10,41$	$129,32 \pm 9,79$
Ендотоксин кишкової палички (n=50)	$76,19 \pm 8,72^*$	$75,39 \pm 8,12^*$	$66,57 \pm 6,74^*$	$91,43 \pm 10,70^*$	$90,41 \pm 7,91^*$	$87,45 \pm 5,26^*$
Ендотоксин протей мірабіліс (n=44)	$74,74 \pm 9,45^*$	$45,39 \pm 4,52^*$	$41,71 \pm 7,09^*$	$104,65 \pm 8,40^*$	$105,42 \pm 10,90$	$91,86 \pm 4,54^*$
Ендотоксин шигели Зонне (n=45)	$69,20 \pm 8,40^*$	$49,54 \pm 6,32^*$	$44,61 \pm 0,01^*$	$65,65 \pm 8,12^*$	$79,25 \pm 5,52^*$	$67,29 \pm 7,08^*$

* Показник достовірності різниці відносно контролю (фізіологічний розчин)

Внутрішньошлункова рН після введення ендотоксину кишкової палички в перші 18 год. була слабкокислою (через 1 год. – $6,43 \pm 0,38$, 3 год. – $6,28 \pm 0,13$, 6 год. – $6,83 \pm 0,11$, 18 год. – $5,42 \pm 0,43$, $P < 0,001-0,01$), через 24 год. не відрізнялась від контролю ($2,25 \pm 0,45$, $P > 0,05$), а через 48 г ставала різко кислою ($1,21 \pm 0,29$, $P < 0,001$). Ендотоксин протей мірабіліс змінював внутрішньошлункову рН подібним чином, лише з тією різницею, що повернення до контрольних цифр відбувалось уже через 6 год., але потім через 48 год. внутрішньошлункова рН ставала різко кислою. Ендотоксин шигели Зонне призводив також до залуження шлунка протягом 18 год. (через 1 год. – $5,98 \pm 0,24$, 3 год. – $5,59 \pm 0,18$, 6 год. – $5,64 \pm 0,20$, 18 год. – $4,99 \pm 0,42$, $P < 0,01$), через 24 год. внутрішньошлункова рН не відрізнялась від контролю ($2,01 \pm 0,35$, $P > 0,05$) і через 48 год. була різко кислою ($1,01 \pm 0,18$, $P < 0,01$).

Гематокрит весь період дослідження був підвищеним, мав незначні коливання та не наближався до норми навіть через 48 год. (дивись табл. 3).

Таблиця 3

Вплив бактеріальних ендотоксинів на гематокрит щурів ($M \pm m$)

Речовина	Час після введення речовини (год.). Гематокрит (л/л)					
	1	3	6	18	24	48
Фізіологічний розчин (n=36)	$0,423 \pm 0,017$	$0,450 \pm 0,009$	$0,436 \pm 0,008$	$0,440 \pm 0,009$	$0,453 \pm 0,01$	$0,465 \pm 0,013$
Ендотоксин кишкової палички (n=50)	$0,511 \pm 0,027^*$	$0,507 \pm 0,009^*$	$0,536 \pm 0,012^*$	$0,490 \pm 0,018^*$	$0,524 \pm 0,009^*$	$0,520 \pm 0,009^*$
Ендотоксин протей мірабіліс (n=44)	$0,493 \pm 0,022^*$	$0,498 \pm 0,015^*$	$0,510 \pm 0,008^*$	$0,538 \pm 0,014^*$	$0,513 \pm 0,013$	$0,50 \pm 0,009^*$
Ендотоксин шигели Зонне (n=45)	$0,507 \pm 0,020^*$	$0,520 \pm 0,011^*$	$0,530 \pm 0,010^*$	$0,532 \pm 0,009^*$	$0,540 \pm 0,009^*$	$0,536 \pm 0,010^*$

* Показник достовірності різниці відносно контролю (фізіологічний розчин)

Щоб виключити видову специфічність отриманих даних, аналогічні дослідження проведені на білих мишах. Зміни РКСОШ в умовах бактеріального ендотоксикозу визначали у 52 мишей.

У 9 інтактних тварин РКСОШ у середній третині шлунка дорівнював $104,77 \pm 8,22$ мл/хв·100 г, в антральному відділі – $102,00 \pm 9,83$ мл/хв·100 г, тобто був нижчим, ніж у щурів ($P < 0,05$).

Через 1 год. після внутрішньочеревного введення мишам ендотоксину кишкової палички відмічено зниження РКСОШ як у середній третині тіла, так і в антральному відділі (відповідно $62,51 \pm 5,71$ та $64,66 \pm 10,03$ мл/хв·100 г, $P < 0,001$). Через 5 год. він залишався зниженим (відповідно $38,22 \pm 5,04$ та $57,79 \pm 5,97$ мл/хв·100 г, $P < 0,001$). Ендотоксин протез мірабіліс через 1 год. викликав у мишей достовірне зниження РКСОШ лише в середній третині ($67,62 \pm 11,16$ мл/хв·100 г, $P < 0,01$), тоді як в антральному відділі він знижувався незначно ($82,00 \pm 15,54$ мл/хв·100 г) і лише через 5 год. спостерігалось достовірне його зниження (середня третина тіла $48,89 \pm 3,39$ мл/хв·100 г, антрум – $58,06 \pm 4,80$ мл/хв·100 г, $P < 0,001$). Ендотоксин шигели Зонне приводив до зниження РКСОШ як у середній третині тіла, так і в антральному відділі вже через 1 год. і знижувався через 5 год. (середня третина через 1 год. – $48,32 \pm 4,28$, через 5 год. – $32,54 \pm 5,45$ мл/хв·100 г; антральний відділ відповідно $54,82 \pm 6,42$ та $40,22 \pm 6,81$ мл/хв·100 г).

Висновки

1. Промивання шлунка, внутрішньочеревне введення щурам фізіологічного розчину в умовах експерименту не призводило до змін РКСОШ, внутрішньошлункової рН, гематокриту.
2. Введення інтактним щурам глюкосолану, сунамол та тренталу не викликало суттєвих змін з боку показників, що вивчались. У той же час під впливом ентеросорбенту СКНоп-1К відбувалось зниження РКСОШ у середній третині тіла, теоникола – посилення його і залуження шлунка.
3. Одноразове введення щурам ендотоксину кишкової палички, протез мірабіліс, або шигели Зонне викликало вже через годину зниження РКСОШ з наступними незначними коливаннями. Найбільш виражене зниження РКСОШ спостерігалось під дією ендотоксину шигели Зонне.
4. Під впливом ендотоксину відбувалось згущення крові, що зберігалось весь період спостереження.
5. Кислотоутворення в шлунку в перші години ендотоксикозу пригнічувалось, а потім посилювалось про що свідчило різко кисла внутрішньошлункова рН.
6. Виявлені якісні зміни здебільшого не залежали від виду ендотоксину та тварини і відрізнялись лише ступенем вираженості.

Список літератури

1. Бобильова О.О., Бережнов С.П., Мухарська Л.М., Падченко А.Г., Ситенко М.А., Некрасова Л.С. Епідемічна та санітарно-гігієнічна ситуація в Україні // Сучасні інфекції. – 2002. - №2. – С. 4 – 7.
2. Юшук Н.Д., Бродов Л.Е. Дифференциальная диагностика и лечение острых кишечных инфекций // Российский журнал гастроэнтерологии, гематологии, колопроктологии. – 2000. - №5. Том 10. – С. 13 – 16.
3. Гаркавий С.І. Гігієнічна оцінка способу первинної профілактики кишкових інфекцій водного походження // Сучасні інфекції. – 2002. - №2. – С. 64 – 67.
4. Sansonetti P.J. Molecular mechanisms of cell and tissue invasion by *Shigella flexneri* // Infect. Agents. Dis. – 1993. – Vol. 2. – P. 201 – 206.

5. Lychlinsky A., Sansonetti P.J. Apoptose, interleukine-1 et shigellose // *Med. Sci.* – 1995. – Vol. 11. – P. 128 – 129.
6. Hermant D., Arricau N., Parsot C., Popoff M.Y. Functional conservation of the Salmonella and Shigella effectors of entry into epithelial cells // *Molec. Microbiol.* – 1995. – P. 781 – 789.
7. Цинзерлинг В.А., Комарова Д.В., Васин Ю.В. Морфологическая характеристика современной дизентерии, вызванной шигеллами Флекснера 2А // *Архив.патологии.* – 1997. – Том. 59. №1. – С. 41 – 45.
8. Murakami M., Moriga M., Miyake T., Uchino H. Contact electrode method in hydrogen gas clearance technique: a new method for determination of regional gastric mucosal blood flow in Animals and Humans // *Gastroent.* – 1982. – Vol. 82. – P. 457 – 467.
9. Лея Ю.Я. Исследование кислотообразования в желудке. – М.: Медицина, 1976. – 140 с.

УДК 612.017.4:579.842.1/.2:[616.33/34-005.1-008.821.1+616.151.1]

Чемич Н.Д.

Влияние эндотоксинов энтеробактерий на регионарный кровоток, внутрижелудочную pH и гематокрит

В статье представлены материалы экспериментального изучения влияния эндотоксинов кишечной палочки, протей мирабилис, шигеллы Зонне на регионарный кровоток слизистой оболочки желудка (РКСОЖ) крыс, внутрижелудочную pH, гематокрит. Установлено, что однократное введение эндотоксина уже через час вызывает уменьшение РКСОЖ как в средней трети тела, так и в антральном отделе с последующими незначительными колебаниями. Наиболее выраженное уменьшение кровотока наблюдается под действием эндотоксина шигеллы Зонне. Эндотоксины приводят к сгущению крови. Кислотообразование в первые часы эксперимента угнетается, а затем усиливается, о чем свидетельствует резко кислая внутрижелудочная pH. Выявленные качественные изменения в большинстве случаев не зависели от вида эндотоксина и животных, отличались лишь степенью выраженности.

UDK: 612.017.4:579.842.1/.2:[616.33/34-005.1-008.821.1+616.151.1]

Chemych M.D.

The Influence of Enterobacteria Endotoxins on the Regional Blood Flow, Intragastric pH and Hematocrit

Observed: materials of experimental study of the influence of *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Shigella zonae* endotoxins on the regional blood flow of the stomach mucous layer (RBFMSZ) of rats, intragastric pH, hematocrit.

Established: the introduction of endotoxin reduces RBFMSZ in an hour, both in the middle third part of the body and in the antral part. There may occur subsequent insignificant fluctuations. The strongly pronounced decrease of blood flow is observed under the effect of *Shigella zonae*.

Endotoxins result in blood clotting. Acid formation is suppressed at first hours of the experiment, then it intensifies. Sharply-acidic intragastric pH testifies it. The revealed qualitative changes in most cases did not depend on the type of endotoxin and animal's species. They only differed by the extent of their manifestation.