

ВПЛИВ ДЕЯКИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ БІОПРЕПАРАТІВ НА ОКРЕМІ БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПОТИРЕОЗУ

Бойко Н.В., Кривцова М.В., Фабрі З.Й., Ніколайчук В.І.

Ужгородський національний університет, кафедра генетики та фізіології рослин, м. Ужгород

Ключові слова: еубіотики, *Bacillus*, Біоспорин, Моноспорин-ПК, експериментальний гіпотиреоз

Вступ. Протягом останніх десятиріч посилюється вплив різних антропогенних чинників на організм людини. Встановлення причинно-наслідкових зв'язків між конкретним “екотоксином” і розвитком хвороби ускладнюється неможливістю з'ясування прямої залежності між наявністю у навколишньому середовищі шкідливих агентів і їх впливом на здоров'я людини [7]. Однак відомо, що так звані “екологічні токсини” справляють канцерогенну, генотоксичну, ембріотоксичну дію на макроорганізми, зокрема сприяють формуванню ряду хронічних патологічних станів. Так, виявлена наявність кореляції між частотою транзиторних змін функції гіпофізарно-тиреоїдної системи новонароджених і ступенем екологічного неблагополуччя в окремих регіонах [5, 7]. Найбільш чутливою до “екзотоксинів” є імунна система організму, негативний вплив яких на неї призводить до виникнення вторинної імуносупресії або розвитку аутоімунних реакцій шляхом порушення цитогенетичного гомеостазу [2]. В останні роки значенню імунних порушень у розвитку синдрому гіпотиреозу приділяється велика увага дослідників [1, 8]. Це обумовлено знаходженням високих титрів антитиреоїдних антитіл у великого відсотку обстежених хворих із так званою “спонтанною” мікседемою [4]. Однак, характер змін імунного статусу організму і їх значення у розвитку гіпотиреозу вивчені недостатньо [4]. Слушною, на нашу думку, є необхідність включення у комплексну терапію хворих на ідіопатичний гіпотиреоз імунорегулюючих препаратів [3]. Дана проблема особливо актуальна для Закарпаття, яке за вмістом йоду у ґрунті, воді, харчових продуктах та кормах належить до регіонів з йодною недостатністю середнього ступеня тяжкості, зокрема за визначеним показником медіани йодоурії [9, 10]. В умовах природного йодного дефіциту вивчення йодно-тиреоїдного статусу організму набуває особливої актуальності, оскільки є інтегрованим показником функціональної активності щитоподібної залози. Дані про те, що біопрепарати, створені на основі живих мікробних культур (в тому числі і роду *Bacillus*), виявляють виразну імунomodulatory дію на організм теплокровних обумовлюють перспективність вивчення принципової можливості їх використання для корекції обміну речовин в умовах експериментального гіпотиреозу, що є метою даної роботи. Дослідження впливу деяких еубіотиків із бацил на стан гіпофізарно-тиреоїдної системи організму має

також науково-теоретичний інтерес у плані розшифрування механізмів дії бактеріальних біопрепаратів взагалі. Практичний інтерес даних досліджень полягає у вивченні можливості використання еубіотиків із бацил для корекції імунного статусу, порушень метаболізму в умовах природної йодно-недостатності організму.

Матеріали та методи. Вивчення впливу еубіотиків на ряд біохімічних показників метаболізму та функціональний стан щитоподібної залози в умовах експерименту проводили на морських свинках обох статей вагою 300-400 г. Контролем 1 (К₁) служила одна із 6 дослідних груп лабораторних тварин (інтактні), яких утримували на звичайному раціоні віварію. Тваринам другої (контроль 2, КБ) і третьої (контроль 3, КМ) груп протягом 7 днів додатково щоденно вводили перорально по 1мл відомого вітчизняного препарату Біоспорину (аналог) і досліджуваного еубіотика Моноспорину-ПК (титр 1млрд. мікр. кл./1мл) відповідно. У тварин четвертої, п'ятої і шостої груп викликали експериментальний гіпотиреоз шляхом внесення метізолу у кількості 5мг/1кг ваги через зонд у шлунок 1 раз на добу протягом 21 дня. Четверта група лабораторних тварин (КГ) служила контролем експериментального гіпотиреозу. Тваринам п'ятої (ГБ) і шостої (ГМ) груп на фоні гіпотиреоїдного стану протягом тижня вводили препарати Біоспорину й Моноспорину-ПК відповідно з терапевтичною метою.

Забір крові здійснювали шляхом пункції серця. Для оцінки впливу еубіотиків на основні біохімічні показники сироватки крові інтактних та піддослідних тварин визначали вміст загального білку (ЗБ) за біуретовою реакцією, білкових фракцій – методом електрофорезу на папері, сечовини – за допомогою біотесту “Lachema” за кольоровою реакцією з диацетилмонооксимом. Функціональний стан печінки оцінювали за показниками тимолової проби і рівня холестерину. Холестерин визначали ензиматичним (ХОД-ПОД) методом, тимолову пробу – осадженням патологічно підвищених концентрацій β-глобулінів, γ-глобулінів і ліпопротеїнів із сироватки крові буферним розчином (рН=7,55), насиченим тимолом, із наступним вимірюванням інтенсивності помутніння сироватки. СРР-реакцію проводили з використанням специфічної преципітуючої сироватки до С-реактивного білку шляхом реєстрації появи чи відсутності позитивної реакції (ознака запального або некротич-

ного процесу в організмі). Вміст середньо-молекулярних пептидів (СМП) у сироватці крові визначали фотометричним методом за даними оптичної густини. Визначення вищевказаних біохімічних показників сироватки крові проводили на базі клінічної біохімічної лабораторії міської дитячої лікарні з використанням стандартних наборів. Про гіпотиреоїдний стан тварин та функцію гіпофізарно-тиреоїдної системи судили за вмістом тироксину (T_4), трийодтироніну (T_3) та тиреотропіну (ТТГ) в сироватці крові. Отримані результати оброблені методом варіаційної статистики по Фішеру-Ст'юденту. Вірогідними вважали зміни при $P < 0,05$ [5].

Результати досліджень та їх обговорення. Отримані дані свідчать про наявність нормалізуючого впливу Біо- і Моноспорину-ПК на основні біохімічні показники сироватки крові в умовах відтвореного на лабораторних тваринах експериментального гіпотиреозу. Визначення вмісту ЗБ в сироватці крові лабораторних тварин показало, що в контролі 1 (інтактні морські свинки, далі K_1) цей показник становив $52,6 \pm 2,85$ г/л, у контролі 2 (пероральне введення Біоспорину, далі – КБ) рівень ЗБ був незначно вищий за норму і становив $53,73 \pm 2,14$ г/л. Статистично недостовірне зростання ЗБ свідчить про відсутність суттєвого впливу пролонгованого прийому даного еубіотика на синтез білків крові. В той же час, тривале пероральне введення Моноспорину-ПК (контроль 3, далі КМ) супроводжувалось значним зростанням вмісту ЗБ в сироватці крові лабораторних тварин, що є доказом інтенсифікації процесу синтезу білків внаслідок прийому даного біопрепарату ($62,52 \pm 1,15$ г/л).

У лабораторних тварин, у яких було викликано експериментальний гіпотиреоз (далі КГ) спостерігали суттєве (різке) зменшення кількості ЗБ – до $43,0 \pm 1,25$ г/л, що є результатом зниження рівня загального метаболізму за умов дефіциту гормонів щитоподібної залози, що, можливо, відображається, насамперед, на функціональному стані печінки, тобто здатності печінки синтезувати білки крові. Проведений біохімічний аналіз сироватки крові лабораторних тварин двох експериментальних груп: Гіпотиреоз+Біоспорин та Гіпотиреоз-Моноспорин-ПК, далі – ГБ та ГМ відповідно, показав, що біоспорин є більш сильним стимулятором синтезу білків в умовах викликаного модельного гіпотиреоїдного стану (рис. 1). Застосування Моноспорину-ПК в аналогічних умовах дозволяло нормалізувати рівень ЗБ – до $52,8 \pm 1,85$ г/л.

Отже, обидва біопрепарати (особливо Біоспорин) володіли здатністю підвищувати рівень ЗБ в сироватці крові. Це може бути результатом стимуляції процесів синтезу білків в печінці і лімфоцитах і, одночасно, зниження інтенсивності їх розпаду в організмі. Враховуючи те, що розщеплення білків відбувається у всіх тканинах пропорційно до їх метаболічної активності, можна відмітити загально стимулюючу дію обох біопрепаратів на

перебіг метаболічних процесів в клітинах печінки і лімфоцитах організму в умовах експериментального гіпотиреозу.

Фракція альбумінів у сироватці крові лабораторних тварин (норма, K_1) становила $49,0 \pm 1,22$ %. У варіанті досліду КБ не спостерігали практично ніяких змін даного показника у лабораторних тварин, проте в групі КМ відмічали незначну тенденцію до його зниження. Експериментальний гіпотиреоз (група КГ) не супроводжувався суттєвими змінами кількості альбумінів в сироватці крові – $49,50 \pm 1,25$ %. Більш виразна тенденція до їх зменшення відмічена у випадку застосування Біоспорину у групі ГБ (до $42,26 \pm 2,25$ %), ніж при пероральному використанні Моноспорину-ПК у групі ГМ ($44,10 \pm 1,85$ %) (рис. 1). Вміст α_1 -глобуліну в сироватці тварин групи K_1 становив $12,2 \pm 1,25$ %. Введення Біоспорину і Моноспорину-ПК викликало пониження його рівня на 50% (групи КБ і КМ). У контрольних тварин з гіпотиреозом (КГ) відбувалось менш суттєве зменшення даного показника. При застосуванні еубіотиків (групи ГБ і ГМ) в умовах експериментального гіпотиреозу відмічено тенденцію до нормалізації вмісту α_1 -глобулінової фракції, особливо у випадку використання Моноспорину-ПК (група ГМ, рис. 1). Концентрація α_2 -глобуліну в групі K_1 була рівна $18,3 \pm 1,85$ % (рис. 1). У варіанті досліду КБ спостерігали достовірне зменшення кількості α_2 -глобулінів, що було менш виразним у тварин групи КМ. При експериментальному гіпотиреозі (КГ) відмічали незначну тенденцію до підвищення рівня α_2 -глобулінів у сироватці крові. Під впливом Моноспорину-ПК (група ГМ) у гіпотиреоїдних морських свинок відбувалось зменшення цього показника в сторону його нормалізації. Слід відмітити, що вміст α_2 -глобулінів у гіпотиреоїдних лабораторних тварин, що одержували Біоспорин (група ГБ) був значно нижчим за норму, хоч і в цьому випадку спостерігали незначну тенденцію до збільшення кількості даної фракції в сироватці крові. Вміст β -глобулінів у тварин групи K_1 був рівний $10,2 \pm 2,25$ %. Під впливом тривалого перорального введення Біоспорину (КБ) спостерігали незначну тенденцію до його збільшення, у той же час Моноспорин-ПК практично не впливав на рівень β -глобулінів в сироватці крові (рис. 1). В умовах експериментального гіпотиреозу відмічали незначне зменшення рівня β -глобулінів. Під впливом Моноспорину-ПК (група ГМ) спостерігали нормалізацію даного показника, в той час як Біоспорин підвищував рівень β -глобулінів вище від встановленої норми. Вміст γ -глобулінів у групі K_1 був рівний $10,3 \pm 1,25$ %. В групах лабораторних тварин КБ і КМ відмічали різке підвищення рівня імуноглобулінів (фракція γ -глобулінів) на 120-130 відсотків. Зменшення рівня γ -глобулінів відмічали у гіпотиреоїдних морських свинок. У групі ГБ рівень γ -глобулінів відновлювався до відповідних високих значень, аналогі-

чно контрольним тваринам, яким вводили Біоспорин (КБ). У випадку використання Моноспорину-ПК відмічали нормалізацію цього показника з менш значною тенденцією до підвищення (рис. 1).

Відомо, що сечовина є основним азотомісним кінцевим продуктом обміну білків, який синтезується в печінці і її концентрація в крові залежить від швидкості її синтезу в цьому органі та виділення її нирками. Зміни концентрації сечовини в крові відображають швидкість утилізації і розпаду білків у периферійних клітинах. Рівень сечовини у інтактних тварин становив $9,07 \pm 1,65$ ммоль/л. Цей показник після введення Моноспорину-ПК суттєво не змінювався, хоча в цьому випадку спостерігали незначну тенденцію до його зниження. Більш суттєве зменшення вмісту сечовини у крові морських свинок обумовлювало пероральне введення Біоспорину. У групі тварин КГ (експериментальний гіпотиреоз) відмічена більш суттєва тенденція до зменшення кількості сечовини у сироватці крові. Нормалізацію даного показника майже в однаковій мірі до рівня норми спостерігали при використанні для корекції метаболічних показників обох еубіотиків (рис. 1).

Нами також проведено оцінку функціонального стану печінки за показниками тимолової проби і рівня холестерину в сироватці крові. В нормі тимолова проба (ступінь помутніння сироватки внаслідок випадання осаду) становила 0,04 МЕ. В результаті тривалого перорального введення обох еубіотиків лабораторним тваринам (групи КБ і КМ відповідно) одержано однакові результати – 0,094 МЕ, що свідчить про збільшення даного показника більш як удвічі проти контролю. Зростання значень тимолової проби (до 0,84) МЕ спостерігали у групі тварин КГ. Введення біопрепаратів гіпотиреїдним морським свинкам призводило до однакового зниження даного показника порівняно з групою КГ, проте ще не до рівня контролю у інтактних тварин (рис. 1). Оскільки усі отримані показники тимолової проби знаходились у межах норми, слід вважати, що суттєвих порушень функції печінки в усіх варіантах досліду немає. Вміст холестерину в крові (у інтактних тварин був рівний $2,64 \pm 0,14$ ммоль/л) є одним із найбільш важливих показників ліпідного обміну. Разом з тим, враховуючи, що холестерин синтезується в печінці, його концентрація певною мірою характеризує функціональний стан цього органу. У випадку введення обох біопрепаратів (групи КБ і КМ) спостерігали тенденцію до підвищення рівня холестерину в крові подібно до такої ж тенденції у гіпотиреїдних тварин. Важливо відмітити, що введення Моно- і Біоспорину лабораторним тваринам із модельним гіпотиреїдом викликало нормалізацію

(зниження вмісту) рівня холестерину порівняно з групами КМ і КБ, причому більш ефективним було застосування Моноспорину-ПК. Отримані дані свідчать про сприятливий регулюючий вплив досліджуваних еубіотиків на перебіг ліпідного обміну в організмі лабораторних тварин в стані гіпотиреїду (рис. 1).

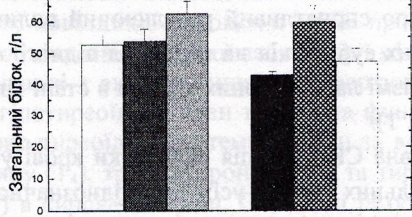
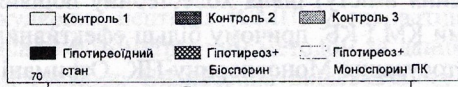
Негативна CRP-реакція сироватки крові у експериментальних тварин усіх груп однозначно свідчить про відсутність запально-деструктивних і некротичних процесів.

Середньо-молекулярні пептиди є чутливим показником як екзогенної, так і ендогенної інтоксикації організму. До групи СМП відносять в основному регуляторні пептиди (ангіотензини, опіоїди, тахікініни, гастроінтестинальні пептиди, пептидні гормони, імуноактивні пептиди тощо). Норма для СМП становила 0,157. У групі КБ рівень СМП знижувався до 0,112, а у групі КМ – до 0,074. Введення Моно- і Біоспорину як інтактним, так і тваринам з експериментальним гіпотиреїдом (групи КБ, КМ, ГБ, ГМ) викликало чітко виражене зменшення даного показника, що є прямим доказом відсутності будь-якої інтоксикації в результаті застосування досліджуваних еубіотиків а також про їх сприятливий ефект (рис. 1).

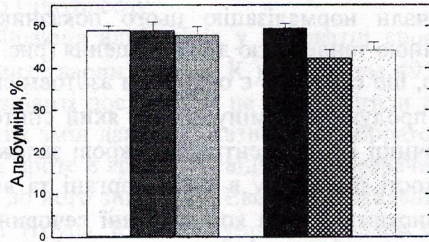
Висновки. 1. Виявлено нормалізуючий вплив Біо- і Моноспорину на рівень загального білку і білкових фракцій в сироватці крові, особливо у випадку застосування останнього. Більш стимулюючу дію на білковий спектр крові має Біоспорин. У гіпотиреїдних експериментальних тварин, що отримували Моноспорин-ПК (група ГМ) реєстрували гіпопротеїнемію. У тварин групи КМ і гіпотиреїдних морських свинок після введення Біоспорину (група ГБ) фіксували гіперпротеїнемію.

2. Введення бактеріальних біопрепаратів Біоспорину і Моноспорину-ПК експериментальним тваринам мало сприятливий регулюючий вплив на функціональний стан печінки, нирок і деякі біохімічні показники обміну речовин. В ряді випадків встановлено нормалізуючу дію досліджуваних еубіотиків на стан білкового і ліпідного обміну. При цьому слід відмітити, що більш нормалізуючий ефект мав Моноспорин-ПК, а дія Біоспорину характеризувалася чіткою тенденцією до стимуляції.

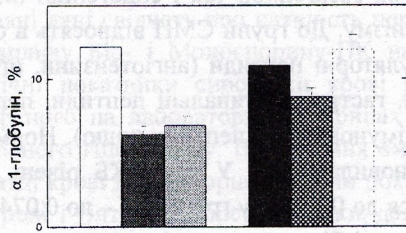
3. Отримані результати свідчать про принципову можливість використання досліджуваних еубіотиків (Біоспорину та Моноспорину-ПК) з метою корекції метаболічних змін за умов експериментального гіпотиреїду.



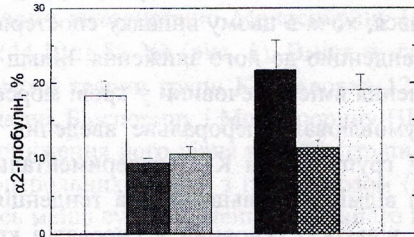
a



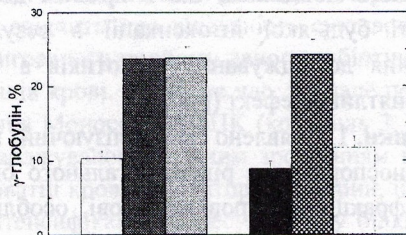
b



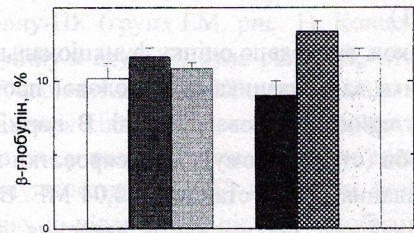
c



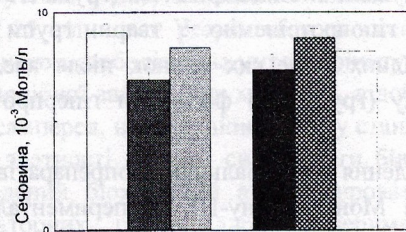
d



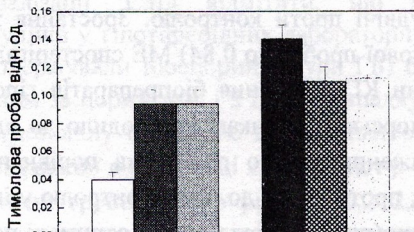
e



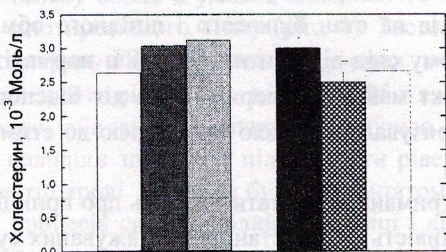
f



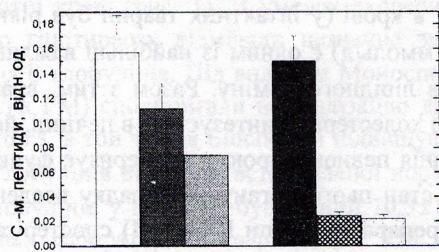
g



h



i



j

Рис. 1. Застосування Біоспорину (аналог) та Моноспорину-ПК (досліджуваний біопрепарат) для корекції біохімічних показників крові лабораторних тварин в різних варіантах досліду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ваюта Н.П., Акимов Д.В. Исследование иммунологического статуса больных гипотиреозом //Вопросы иммунологии и гематологии. – 1990. – С. 25-27.
2. Длин В.В., Османов И.М. Роль тяжёлых металлов в формировании заболеваний у детей //Российский медицинский журнал. – 1997. – №6. – С. 45-48.
3. Епишин А.В. Хабарова Н.А., Грыцив В.Е. Отдалённые результаты терапии идиопатического гипотиреоза в зависимости от иммунного статуса //Клиническая медицина. – 1996. – №5. – С. 37-39.
4. Епишин А.В., Грыцив В.Е. Изменения в иммунном статусе при первичном гипотиреозе //Проблемы эндокринологии. – 1989. – Т. 35. – С. 30-35.
5. Ойвин И.А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований //Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 1960. - №4. – С. 76-85.
6. Паськів В.І., Сидорчук І.Й., Масляк В.А., Руснак О.К., Пічкарь Й.І., Фабрі З.Й. Оцінка тяжкості йодної недостатності в Українських Карпатах //Ендокринологія. – 2001. – №6. – С. 226.
7. Помелова В.Г., Калининкова С.Г. Неонатальный скрининг на врождённый гипотиреоз в экологически неблагоприятных регионах //Проблемы эндокринологии. – 2000. – №6. – С. 18-25.
8. Попович Л.В., Сидорчук І.Й., Кроха Н.В. Імунологічна реактивність у дітей раннього віку за умов йодної недостатності //Матеріали VII з'їзду ендокринологів України. – Київ, 2001. – С. 244-244.
9. Турияница І.М., Фабрі З.Й., Пашенко А.Е., Кульчицкий О.К., Горзов И.П., Турияница С.М., Росток Л.М., Задорожная Т.А., Филип С.С. Йодно-тиреоидный статус организма в условиях природного йодного дефицита. – Том. I. Йод, щитовидная железа и тиреоидная регуляция в норме и при йодной недостаточности. – Ужгород: Патент, 1996. – 146 с.
10. Фабрі З.Й., Росток Л.М., Решетарь О.І., Алексахіна К.І., Фабрі А.З., Качала Л.О. Оцінка йодної недостатності у різних біогеохімічних регіонах Закарпаття //Науковий вісник Ужгородського університету. Серія Медицина – 2001. – Випуск 16. – С. 153-156.

SUMMARY

THE INFLUENCE OF SOME BACTERIAL BIOPREPARATIONS UPON CERTAIN BIOCHEMICAL BLOOD INDEXES IN THE CONDITION OF EXPERIMENTAL HYPOTHYROIDISM

Boiko N.V., Krivtsova M.V., Fabry Z.I., Nikolaichuk V.I.

Main parameters of the blood serum were studied in male and female guinea pig with experimental hypothyroidism induced by metysol in a daily dose of 5mg/kg. The eubiotics (Biosporine and Monosporine) improved the initially disturbed parameters of the blood. Regular intake of Monosporine normalized main biochemical indices of blood serum. The results confirm the stimulating effect of Biosporine.

Key words: eubiotics, Bacillus, Biosporine, Monosporine, experimental hypothyroidism