

Мозгова Ю.А.

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ ПІД ВПЛИВОМ КОМБІНОВАНОЇ ТЕРАПІЇ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГНІЙНО – ЗАПАЛЬНОМУ ПРОЦЕСІ, СПРИЧИНЕНОМУ *K. PNEUMONIAE*

Харківський національний медичний університет

В останні роки спостерігається значне зростання інфекційних захворювань, етіологічно асоційованих з умовно-патогенними мікроорганізмами, серед яких одне з провідних місць займають бактерії роду *Klebsiella*. Перебіг і результат гнійно-запальних захворювань в значній мірі залежать від стану імунологічної реактивності організму. У зв'язку з цим набуває актуальності розробка комплексного патогенетично обґрунтованого підходу до терапії даних захворювань з включенням у програми лікування імункорекції. Тому метою дослідження було визначення метаболічних змін під впливом комбінованої терапії при експериментальному генералізованому гнійно-запальному процесі, спричиненому *K. pneumoniae*. Моделювання генералізованого гнійно-запального процесу, спричиненого *K. pneumoniae* проводили на мишах лінії C57Blak, які були розподілені на відповідні групи (контролю та миші, що отримували комбіновану терапію). Вміст малонового діальдегіду, дієнових кон'югатів, активність каталази визначали спектрофотометричними методами. Сульфгідрильні групи визначали за допомогою набору фірми Lachema, Чехія. Для статистичної обробки результатів використовували програму Excel для персонального комп'ютера та t-критерій Стьюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант. В результаті визначення метаболічних змін під впливом комбінованої терапії при експериментальному генералізованому гнійно-запальному процесі, спричиненому *K. pneumoniae* було виявлено, що в організмі інфікованих тварин, яким вводили різні антибактеріальні та імункорегуючі препарати, спостерігалась динаміка змін показників стану процесів перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи в залежності від комбінації препаратів. Встановлено, що під впливом комбінацій препаратів: меропенему з ронколейкіном або з глутаксимом та левофлоксацину з ронколейкіном або з глутаксимом спостерігається відновлення метаболічних процесів за рахунок підвищення активності каталази і продукції SH-груп та пригнічення вмісту дієнових кон'югатів, гідроперекису та малонового діальдегіду в організмі.

Ключові слова: метаболічні зміни, гнійно-запальний процес, *K. pneumoniae*, комбінована терапія.

Представлену роботу виконано в рамках теми наукових досліджень кафедри мікробіології, вірусології та імунології Харківського національного медичного університету: «Експериментальне мікробіологічне обґрунтування протимікробної терапії гнійно-запальних захворювань», № державної реєстрації 0114U003390.

Вступ

Гнійно-запальні захворювання (ГЗЗ) різної локалізації до теперішнього часу залишаються однією з актуальних проблем сучасної медицини, що зумовлено їх поширеністю, тенденцією до хронічного і рецидивуючого перебігу, недостатньою ефективністю традиційних методів лікування [1]. В останні роки спостерігається значне зростання інфекційних захворювань, етіологічно асоційованих з умовно-патогенними мікроорганізмами, серед яких одне з провідних місць займають бактерії роду *Klebsiella* [2]. Бактерії даної групи характеризуються вираженою неоднорідністю, бо є, з одного боку, представниками транзиторної нормальної мікрофлори людини, а з іншого – збудниками інфекційних захворювань [3]. Одним з найважливіших аспектів характеристики умовно-патогенних ентеробактерій є їх резистентність до антимікробних препаратів [4]. При цьому масове поширення антибіотикорезистентних штамів в популяціях умовно-патогенних мікроорганізмів стало

важливою проблемою клінічної медицини у зв'язку з їх більш високими адаптаційними можливостями в порівнянні зі збудниками класичних інфекцій [5].

Тим часом для оцінки ефективності лікування необхідні контроль і обмеження вільно-радикального окиснення ліпідів, що грає універсальну роль в регуляції гомеостазу і причинно-наслідкових механізмах розвитку різноманітних патологічних станів, включаючи тяжкі інфекції [6, 7]. Результати лікування ГЗЗ, незважаючи на застосування сучасних методів і досягнуті певні успіхи, не задовольняють повністю завдань сучасної медицини. Перебіг і результат ГЗЗ в значній мірі залежать від стану імунологічної реактивності організму. У зв'язку з цим набуває актуальності розробка комплексного патогенетично обґрунтованого підходу до терапії ГЗЗ з включенням у програми лікування імункорекції [8].

Мета дослідження

Визначення метаболічних змін під впливом комбінованої терапії при експериментальному

генералізованому гнійно-запальному процесі, спричиненому *K. pneumoniae*.

Об'єкт і методи дослідження

Моделювання генералізованого гнійно-запального процесу (ГЗП), спричиненого *K. pneumoniae* [9] проводили на мишах –самцях інбредної лінії C57Blak, масою 20-22 г, які перебували в умовах стандартного лабораторного утримання і раціону харчування. Робота з тваринами проводилася відповідно до Європейської конвенції по захисту хребетних тварин при їх використанні в експериментальних й інших наукових цілях [10].

Розподіл лабораторних тварин (по 20 мишей у кожній групі) був проведений таким чином: 1 група (К-) – інтактні миші; 2 група (К+) – інфіковані; 3 група – інфіковані миші, які отримували терапію амоксицином і ронколейкіном (Ам+РІ); 4 група – інфіковані миші, що отримували амоксицил та глутаксим (Ам+Гл); 5 група – інфіковані миші, які отримували терапію левофлоксацином і ронколейкіном (Лф+РІ); 6 група – інфіковані миші, що отримували левофлоксацин і глутаксим (Лф+Гл); 7 група – інфіковані миші, які отримували терапію меропінемом і ронколейкіном (Мр+РІ); 8 група – інфіковані миші, які отримували терапію меропінемом і глутаксимом (Мр+Гл).

Вміст малонового діальдегіду (МДА), дієнових кон'югатів (ДК), активність каталази визначали спектрофотометричними методами. Сульфгідрильні групи визначали у відповідності до інструкції за допомогою набору фірми Lachema, Чехія.

Для статистичної обробки результатів використовували програму Excel для персонального комп'ютера (розрахунок середньої арифметичної, стандартної похибки), для перевірки гіпотез щодо рівності генеральних середніх двох незалежних, незв'язаних вибірок використовували t-критерій Стюдента з попередньою перевіркою нормальності розподілу варіант [11].

Результати досліджень та їх обговорення

В організмі інфікованих тварин, яким вводили різні антибактеріальні та імунорегуючі препарати, спостерігали таку динаміку змін показників стану процесів перекисного окиснення ліпідів. У сироватці крові тварин, яким вводили на тлі ГЗП, спричиненого *K. pneumoniae* досліджувані препарати, спостерігали статистично достовірне зниження вмісту дієнових кон'югатів (ДК) порівняно з групою інфікованих тварин. Найбільш виразним це було у тварин, яким

уводили комбінації препаратів меропінему з ронколейкіном та меропінему з глутаксимом – спостерігали зниження у 2,9 рази та у 3 рази відповідно. Також суттєвим було зниження рівня ДК на тлі введення комбінацій левофлоксацину з ронколейкіном та левофлоксацину комплексно з глутаксимом: у 2,8 та у 2,7 рази, відповідно, порівняно з інфікованими тваринами. Для таких комбінацій як амоксицил з ронколейкіном та амоксицил з глутаксимом цей показник знижувався в середньому у 1,5 та у 2,3 рази відповідно.

Порівняно з тваринами 1-ої групи рівень ДК залишався підвищеним особливо за дії амоксицилу з глутаксимом. Зі всіх комбінацій препаратів, які вводили в організм інфікованих тварин, позитивну дію виявили лише меропінем з ронколейкіном, меропінем з глутаксимом, левофлоксацин з ронколейкіном та левофлоксацин з глутаксимом, бо знижували рівень ДК до рівня контрольної групи.

Найбільш виразною була динаміка змін другого показника стану процесів перекисного окиснення ліпідів, а саме вмісту малонового діальдегіду (МДА). Позитивну дію виявила комбінація препаратів меропінем комплексно з глутаксимом, яка призвела до зниження в сироватці крові вмісту МДА до значень контрольної групи тварин. Дія амоксицилу з ронколейкіном не викликала будь-яких достовірних змін цього показника, порівняно з інфікованими тваринами й тому рівень залишався суттєво підвищеним порівняно з контролем.

У печінці експериментальних тварин використання комбінацій меропінем з ронколейкіном та меропінем комплексно з глутаксимом призводило до зниження рівня ДК та МДА до значень контрольної групи.

У нирках рівень ДК практично не змінювався за дії амоксицилу з ронколейкіном та амоксицил комплексно з глутаксимом. Але за дії комбінацій левофлоксацин з ронколейкіном, левофлоксацин з глутаксимом, меропінем з ронколейкіном та меропінем з глутаксимом статистично достовірним було зниження цього показника порівняно з контролем (група інфікованих тварин).

Щодо МДА в нирках то його вміст дорівнював значенню контрольної групи інтактних тварин за дії комбінацій препаратів – левофлоксацину з ронколейкіном, левофлоксацину комплексно з глутаксимом меропінем з ронколейкіном та меропінем комплексно з глутаксимом (**табл. 1**).

В інших випадках рівень МДА в нирках залишався статистично достовірно підвищеним. Аналогічна динаміка

спостерігалась й щодо рівня гідроперекисів у серці: Комбінації левофлорсацину з ронколейкіном та левофлорсацину з глутаксимом призводили до зниження рівня цього показника до контрольних значень, а дія інших комбінацій не призводила до будь-яких

змін гідроперекисів в організмі інфікованих тварин.

Як це видно з **табл. 2**, дослідження стану показників АОС організму інфікованих мишей за дії комбінацій антибактеріальних та імунореґуючих препаратів виявили такі зміни.

Таблиця 1
*Вміст дієвих кон'югатів та малонового діальдегіду в організмі мишей з ГЗП, спричиненим *K. рneumonіае*, за впливу комбінованої терапії (Мт, n=20)*

Показники	1 група К -	2 група К +	3 група Ам+Rl	4 група Ам+Гл	5 група Лф+Rl	6 група Лф+Гл	7 група Мр+Rl	8 група Мр+Гл
Сироватка крові								
ДК ^а	45,4±2,1	136,8±2,7 *	*93,7±2,5*	*60,8±2,7*	*49,9±2,3	*48,0±2,3	*46,5±2,0*	*45,8±2,1
МДА ^а	1,6±0,1	18,9±,4*	11,7±1,0*	*5,9±0,4*	*2,9±0,2*	*2,7±0,2*	*2,5±0,3*	*1,7±0,1
Печінка								
ДК ^б	41,1±1,7	69,7±2,6*	*52,1±3,6	*53,9±3,3	*43,5±2,4	*43,8±3,5	*41,7±3,8	*42,2±3,9
МДА ^б	13,2±1,1	29,4±1,7*	*22,0±0,9	*23,2±1,2	*13,6±1,2	*14,5±1,4	*13,4±1,1	*13,1±1,3
Нирки								
ДК ^б	25,2±1,9	46,2±2,1	*32,4±1,1*	*39,1±1,6	*26,7±1,2*	*28,2±1,4	*19,0±1,5	*21,7±1,9
МДА ^б	16,5±1,1	28,9±2,4*	*27,7±1,6	*24,2±1,1	17,8±2,0*	17,5±1,8*	15,2±2,1*	14,4±2,1*
Серце								
Гідроперекиси ^б	48,5±3,0	98,3±2,9*	*68,5±3,7	*74,5±4,9	*49,1±3,7*	*51,3±4,6*	*48,8±5,1*	*49,5±5,4*

Примітка^а – мкмоль/л, ^б - мкмоль/г білка, * - p<0,05 відносно 1-ої групи (контролю); * – відносно 2-ої групи (інфікованих тварин).

Таблиця 2
*Показники стану антиоксидантної системи в організмі мишей з ГЗП, спричиненого *K. рneumonіае*, при використанні комбінованої терапії (М±т, n=20)*

Показники	1 група К -	2 група К+	3 група Ам+Rl	4 група Ам+Гл	5 група Лф+Rl	6 група Лф+Гл	7 група Мр+Rl	8 група Мр+Гл
Сироватка крові								
Каталаза ^а	3,5±0,3	2,8±0,2	2,5±0,4	*2,8±0,3	2,9±0,3	3,2±0,2	2,9±0,3	3,0±0,3
SH-групи ^б	18,6±1,6	13,2±1,0*	*14,7±1,4	*15,9±1,6	*17,0±1,3	*19,3±1,2	*19,2±1,4	*19,5±1,5
Нирки								
Каталаза ^с	194,5±5,5	121,7±4,7*	*152,2±7,5	*164,7±5,6	*186,2±8,2	191,1±7,3*	*192,7±6,9	*194,5 ±5,8
Серце								
Каталаза ^с	379,4±7,5*	144,5±6,3	*314,1±6,6*	*325,4±6,3*	*348,9±5,5*	*352,8±5,3*	*364,5±7,0*	*369,4 ±6,0*

Примітка: ^а – мккат/г Нв, ^б - ммоль/л, ^с – ммоль/хв·г білка;

* - p<0,05 відносно 1-ої групи ; * – відносно інфікованих тварин (2-ої групи).

У крові експериментальних тварин активність каталази не змінювалася й залишалася на рівні контрольних значень інфікованих тварин, тільки для комбінації левофлорсацин з глутаксимом спостерігалось незначне підвищення активності ферменту порівняно з інфікованими тваринами.

Для сульфгідрильних груп крові характерним було досягнення рівня контрольної групи інтактних тварин для комбінацій меропенем з ронколейкіном та меропенем комплексно з глутаксимом. У нирках активність каталази мала тенденцію до підвищення порівняно з інфікованими тваринами й дорівнювала значенням контролю першої групи тварин, крім дії амоксиклав з ронколейкіном та амоксиклав комплексно з глутаксимом. У серці на фоні комбінованої терапії простежувалася динаміка підвищення активності ферменту порівняно з інфікованими тваринами, але воно не досягало рівня контролю.

Висновки

Отже, в результаті проведеного дослідження визначено зміни стану перекисного окиснення ліпідів та

антиоксидантної системи під впливом комбінованої терапії при експериментальному генералізованому гнійно-запальному процесі, спричиненому *K. рneumonіае*. Встановлено, що за впливу комбінацій препаратів: меропенем з ронколейкіном або з глутаксимом та левофлорсацину з ронколейкіном або з глутаксимом спостерігається відновлення метаболічних процесів, за рахунок підвищення активності каталази і продукції SH-груп та пригнічення вмісту дієвих кон'югатів, гідроперекису та малонового діальдегіду в організмі.

Перспективою подальших досліджень в даному напрямку є вивчення стану імунної системи при експериментальному ГЗП, спричиненому *K. рneumonіае*, під впливом комбінованої терапії.

Література

- Абакумов М.М. Роль иммунокоррекции в профилактике и комплексном лечении госпитальной хирургической инфекции / М.М. Абакумов, Г.В.Булава, Ш.Н.Даниелян // Актуальные проблемы современной хирургии: материалы конгресса, 22-25 февраля 2003г., Москва – М., 2003. – С. 105.
- Анганова Е.В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость : дис. ... доктора биол. наук : спец. 03.02.03 / Е.В. Анганова – Иркутск, 2012. – 216 с.
- Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной

локализации / В.М. Бондаренко. – Тверь : Изд-во «Триада», 2011. – 88 с.

4. Лакомкин В.И. Изменение антиоксидантного статуса миокарда под влиянием коэнзима Q10 при окислительном стрессе / В.И. Лакомкин, Г.Г. Коновалова, Е.И. Каленикова [и др.] // Биохимия. – 2005. – Т. 70, Вып. 1. – С. 97-104.
5. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич – К. : МОРИОН, 2000. – 320 с.
6. Медведев А.И. Применение локальной иммунокоррекции в сочетании с ультразвуковой кавитацией в лечении детей с гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей : дис. ... канд. мед. наук : спец. 14.00.35, 14.00.36 / А.И. Медведев – Курск, 2005. – 140 с.
7. Першин Г.Н. Методы экспериментальной химиотерапии: Практическое руководство / Г.Н. Першин. – М. : Медицина, 1971. – 539 с.
8. Шепелев А.П. Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней / А.П. Шепелев, И.В. Корниенко, А.В. Шестопалов [и др.] // Вopr. Мед. Химии. – 2000. – Т. 46, № 2. – С.35-38.
9. Фиалкина С.В. Генетические детерминанты патогенности клинических штаммов *Klebsiella pneumoniae* : дис. ... канд. биол. наук : спец. 03.00.07 / С.В. Фиалкина – М., 2004. – 140 с.
10. Bradford P.A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat / P.A. Bradford // Clin Microbiol Rev. – 2001. – Vol. 14, Issue 4. – P. 933-951.
11. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Strasbourg. Council Treatu Series, 1987. – №123. – 52 p.

References

1. Abakumov M.M. Rol' immunokorrekcii v profilaktike i kompleksnom lechenii gospital'noj hirurgicheskoi infekcii / M.M. Abakumov, G.V.Bulava, Sh.N.Danieljan // Aktual'nye problemy

sovremennoj hirurgii: materialy kongressa, 22-25 fevralja 2003g., Moskva – M., 2003. – S. 105.

2. Anganova E.V. Uslovno-patogennye jenterobakterii: dominirujushhie populjaci, biologicheskie svoystva, mediko-jekologicheskaja znachimost' : dis. ... doktora biol. nauk : spec. 03.02.03 / E.V. Anganova – Irkutsk, 2012. – 216 s.
3. Bondarenko V.M. Rol' uslovno-patogennyh bakterij pri hronicheskix vospalitel'nyh processah razlichnoj lokalizacii / V.M. Bondarenko. – Tver' : Izd-vo «Triada», 2011. – 88 s.
4. Lakomkin B.I. Izmenenie antioksidantnogo statusa miokarda pod vlijaniem koenzima Q10 pri oksitel'nom stresse / B.I. Lakomkin, G.G. Konvalova, E.I. Kalenikova [i dr.] // Biohimija. – 2005. – Т. 70, Vyp. 1. – S. 97-104.
5. Lapach S.N. Statisticheskie metody v mediko-biologicheskix issledovanijah s ispol'zovaniem Excel / S.N. Lapach, A.V. Chubenko, P.N. Babich – K. : MORION, 2000. – 320 s.
6. Medvedev A.I. Primenenie lokal'noj immunokorrekcii v sochetanii s ul'trazvukovoj kavitaciej v lechenii detej s gnojno-vospalitel'nymi zabolevanijami mjagkix tkanej : dis. ... kand. med. nauk : spec. 14.00.35, 14.00.36 / A.I. Medvedev – Kursk, 2005. – 140 s.
7. Pershin G.N. Metody jeksperimental'noj himioterapii: Prakticheskoe rukovodstvo / G.N. Pershin. – M. : Medicina, 1971. – 539 s.
8. Shepelev A.P. Rol' processov svobodnoradikal'nogo okslenija v patogeneze infekcionnyh boleznej / A.P. Shepelev, I.V. Kornienko, A.V. Shestopalov [i dr.] // Vopr. Med. Himii. – 2000. – Т. 46, № 2. – S.35-38.
9. Fialkina S.V. Geneticheskie determinanty patogennosti klinicheskix shtammov *Klebsiella pneumoniae* : dis. ... kand. biol. nauk : spec. 03.00.07 / S.V. Fialkina – M., 2004. – 140 s.
10. Bradford P.A. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat / P.A. Bradford // Clin Microbiol Rev. – 2001. – Vol. 14, Issue 4. – P. 933-951.
11. European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes // Strasbourg. Council Treatu Series, 1987. – №123. – 52 r.

Реферат

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОД ВЛИЯНИЕМ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ ПРИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ, ВЫЗВАННОМ *K. PNEUMONIAE*
Мозговая Ю.А.

Ключевые слова: метаболические изменения, гнойно-воспалительный процесс, *K. pneumoniae*, комбинированная терапия.

В последние годы наблюдается значительный рост инфекционных заболеваний, этиологически ассоциированных с условно-патогенными микроорганизмами, среди которых одно из ведущих мест занимают бактерии рода *Klebsiella*. Течение и исход гнойно-воспалительных заболеваний в значительной степени зависят от состояния иммунологической реактивности организма. В связи с этим приобретает актуальность разработка комплексного патогенетически обоснованного подхода к терапии данных заболеваний с включением в программы лечения иммунокоррекции. Целью исследования было определение метаболических изменений под влиянием комбинированной терапии при экспериментальном генерализованном гнойно-воспалительном процессе, вызванном *K. pneumoniae*. Моделирование генерализованного гнойно-воспалительного процесса, вызванного *K. pneumoniae*, проводили на мышах линии C57Blak, которые были разделены на соответствующие группы (контроля и мыши, получавшие комбинированную терапию). Содержание малонового диальдегида, диеновых конъюгатов, активность каталазы определяли спектрофотометрическим методом. Сульфгидрильные группы определяли с помощью набора фирмы Lachema, Чехия. Для статистической обработки результатов использовали программу Excel для персонального компьютера. В результате определения метаболических изменений под влиянием комбинированной терапии при экспериментальном генерализованном гнойно-воспалительном процессе, вызванном *K. pneumoniae* было обнаружено, что в организме инфицированных животных, которым вводили различные антибактериальные препараты и иммунокорректоры, наблюдалась динамика изменений показателей состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы в зависимости от комбинации препаратов. Установлено, что под влиянием комбинаций препаратов: меропенем с ронколейкином или глутаксимом и левофлоксацин с ронколейкином или глутаксимом наблюдается восстановление метаболических процессов за счет повышения активности каталазы и продукции SH-групп и угнетение содержания диеновых конъюгатов, гидроперекиси и малонового диальдегида в организме.

Summary

METABOLIC CHANGES DUE TO COMBINED THERAPY IN EXPERIMENTAL PYO-INFLAMMATORY PROCESS CAUSED BY *K. PNEUMONIAE*
Mozgova Ya. A.

Key words: metabolic changes, pyo-inflammatory process, *K. pneumoniae*, combine therapy.

Recent years have seen a significant increase in infectious diseases, etiologically associated with opportunistic microorganisms, including bacteria from genus *Klebsiella* in a leading position. The course and outcome of inflammatory diseases largely depend on the state of immunological reactivity. The development of combine pathogenetically reasonable treatment becomes actual and necessary together with immunocorrection for including in therapy programs. The aim of the study was to determine metabolic changes under the influence of combined therapy in experimental generalized pyo-inflammatory process caused by *K. pneumoniae*. Materials and methods. Model of generalized pyo-inflammatory process caused by *K. pneumoniae* was performed on C57 Black mice divided into 2 control groups and a group of comparison which received combined therapy. The content of malonic dialdehyde, diene conjugates, catalase activity was assessed by spectrophotometric techniques. Sulfide-hydride groups were defined by Lachema kit (Czech Republic). Excel was used to process data. Research results. It was found that under the influence of combine therapy in experimental generalized pyo-inflammatory process caused *K. pneumoniae* in infected animals the dynamics of lipid peroxidation and antioxidant system indicators depended on the combination of drugs. Conclusions. It was established that combinations of meropenem with roncoleukin or glutoxymum and levofloxacinum with roncoleukin or glutoxymum restore metabolic processes by increasing the activity of catalase and production of SH-groups and decreasing of diene conjugates, hydroperoxide and malonic dialdehyde.