

**А. П. Левицкий, Е. М. Левченко\*, В. Л. Васюк\*\***

*Государственное учреждение “Институт стоматологии НАМН Украины”, 65026 Одесса*

*\*Коммунальное учреждение “Одесская областная клиническая больница”, 65123 Одесса*

*\*\*Буковинский государственный медицинский университет МЗ Украины, 58002 Черновцы*

## **ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИДИСБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ**

При моделировании у 35 белых крыс-самцов линии Вистар экспериментального метаболического синдрома отмечено в крови резкое увеличение соотношения нейтрофилы/лимфоциты и снижение числа моноцитов, а в печени — почти 5-кратное увеличение активности уреазы, 3-кратное снижение активности лизоцима, достоверное повышение уровня маркеров воспаления (МДА и эластазы). Установлено 13-кратное увеличение степени дисбиоза в печени и достоверное увеличение активности щелочной фосфатазы. Использование антидисбиотических препаратов (квертулин, квертиал и лизоцим) нормализует состояние печени.

**Ключевые слова:** печень, метаболический синдром, дисбиоз, иммунодефицит, антидисбиотические препараты.

Метаболический синдром (МС) — это патологическое состояние организма, в основе которого лежит избыточное потребление калорийной пищи, причем вполне сбалансированной по всем незаменимым факторам питания [12, 16]. Чаще всего это связано с избыточным поступлением жиров, особенно с высоким содержанием пальмитиновой кислоты [5] либо легко усвояемых углеводов (сахара, крахмала), которые в печени превращаются в пальмитиновую кислоту, а затем в соответствующие триглицериды, инкретируемые печенью в составе липопротеинов очень низкой плотности [6].

Высококалорийные рационы, прежде всего высокожировые (ВЖР), вызывают развитие ожирения [20], следствием которого является хроническая активация симпатической системы [14]. При этом происходит усиление процессов фосфорилирования, активация гормонозависимой липазы жировых клеток и усиленный гидролиз триглицеридов с поступлением в кровь повышенного количества свободных жирных кислот [7]. Последние вызывают развитие инсулинорезистентности —

важнейшего фактора в патогенезе сахарного диабета 2 типа и МС [10, 22].

Дальнейшим патогенетическим звеном развития МС являются изменения видового состава эндогенной микрофлоры и ее содержания, которые определяются как дисбиоз [9, 21, 25]. Обязательными элементами дисбиоза являются эндотоксинемия (главным образом, за счет липополисахарида [22]) и системное воспаление [15, 24]. Результатом этого можно считать глубокое нарушение липидного обмена, проявляющееся гиперлипидемией и стеатозом печени, переходящим в стеатогепатит [11, 23]. Ведущая роль дисбиоза в патогенезе МС подтверждается и лечебным эффектом применения антидисбиотических препаратов [13, 18-20].

Цель работы — исследование влияния ряда новых антидисбиотических препаратов на состояние печени при экспериментальном МС.

**Материал и методы.** В работе были использованы следующие вещества: кверцетин (“Merck”, США; содержание основного вещества 99,6 %), ину-

А. П. Левицкий — зам. директора по научной работе Института стоматологии НАМН Украины, чл.-корр. НААН Украины (flavan@mail.ru)

Е. М. Левченко — зам. главного врача Одесской областной клинической больницы, к.м.н.

В. Л. Васюк — доцент кафедры терапии Буковинского государственного медицинского университета МЗ Украины, к.м.н.

лин из корней цикория ("Consucra Groupe Waxoing S.A.", Бельгия), цитрат кальция (Китай), гиалуроновая кислота (препарат "Генгигель", "Ricerpharma", Италия), лизоцим (препарат "Clerizyma", "Cagliificio Clerici S.p.A", Италия).

Из этих веществ готовили следующие препараты:

- "Квертулин" (ТУ У 10.8-13903778-040:2011) — содержит кверцетин, инулин и цитрат кальция;
- "Квертгил" (ТУ У 20.4-13903778-032:2012) — содержит квертулин и гиалуроновую кислоту;
- "Лизоцим в желатине" (10 % Clerizyma в 10 % растворе желатина).

В экспериментах было использовано 35 белых крыс-самцов линии Вистар (4 мес, массой 250 г), распределенных на 5 групп (по 7 в каждой): 1 — интактные, 2 — МС — дисбиоз + иммунодефицит + высокожировой рацион (ВЖР) [17], 3 — МС + препарат "Квертулин", 4 — МС + препарат "Лизоцим в желатине", 5 — МС + препарат "Квертгил". Дозы препаратов указаны в табл. 1.

Таблица 1

Экспериментальные группы крыс и дозы препаратов

Группа	Лечебный препарат	Компоненты, мг/кг
Интактные	—	—
Метаболический синдром (МС)	—	—
МС + квертулин	Квертулин порошок 300 мг/кг <i>per os</i>	Кверцетин — 5 Инулин — 180 Цитрат кальция — 115
МС + лизоцим	Лизоцим в желатине 1000 мг/кг	В пересчете на чистый лизоцим — 20
МС + квертгил	Квертгил-гель 0,5 мл/крысу аппликации на СОПР	Кверцетин — 0,68 Инулин — 24,0 Цитрат кальция — 15,32 Гиалуроновая кислота — 0,8

Дисбиоз вызывали с помощью антибиотика линкомицина, который давали с питьевой водой в дозе 60 мг/кг ежедневно в течение 5 сут. Иммунодефицит создавали путем в/брюшинного введения цитостатика циклофосфана в дозе 25 мг/кг через день. ВЖР получали путем добавки к комбикорму 15 % нерафинированного подсолнечного масла.

Продолжительность эксперимента составила 21 сут. Антидисбиотические препараты начинали вводить с первого дня опыта. Эутаназию животных осуществляли на 22-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

В крови определяли клеточный состав лейкоцитов [4]. В гомогенате печени (50 мг/мл 0,05 М

трис-НCl буфера pH 7,5) определяли активность уреазы (показатель микробного обсеменения) [3], лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [3], уровень маркеров воспаления [10]: малонового диальдегида (МДА), активность эластазы, антиоксидантного фермента каталазы и щелочной фосфатазы (ЩФ, маркер холестаза) [2].

По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали ферментативный показатель степени дисбиоза [3]. По соотношению активности каталазы и содержанию МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [2].

Статистическую обработку результатов осуществляли в соответствии с указаниями [1].

**Результаты и их обсуждение.** Результаты определения клеточного состава крови крыс с экспериментальным МС, получавших антидисбиотические препараты, представлены в табл. 2. Из этих данных видно, что содержание лейкоцитов при МС несколько снижается, причем, главным образом, за счет значительного снижения числа лимфоцитов, о чем свидетельствует многократное возрастание соотношения нейтрофилов/лимфоциты. Снижается почти в 2 раза и численность моноцитов.

Таблица 2

Влияние квертулина, лизоцима и квертгиала на клеточный состав крови крыс с МС,  $M \pm m$ 

Группа	Лейкоциты, $\cdot 10^9/\text{л}$	Нейтрофилы/лимфоциты	Моноциты, %
Интактные	$12,8 \pm 1,5$	$0,37 \pm 0,03$	$10,4 \pm 0,5$
Метаболический синдром (МС)	$9,9 \pm 1,2$	$3,16 \pm 0,20^{***}$	$5,6 \pm 1,3^{**}$
МС + квертулин	$11,8 \pm 1,6$	$3,24 \pm 0,25^{***}$	$5,8 \pm 0,7^{**}$
МС + лизоцим	$7,6 \pm 1,1^*$	$2,42 \pm 0,13^{***\#}$	$9,4 \pm 1,0^{\#}$
МС + квертгил	$11,6 \pm 0,9$	$1,97 \pm 0,12^{***\#}$	$7,8 \pm 0,8^*$

Примечания (здесь и в табл. 3-5): \* —  $P < 0,05$ , \*\* —  $P < 0,01$ , \*\*\* —  $P < 0,001$  по сравнению с интактными; # —  $P < 0,05$ , ## —  $P < 0,01$  по сравнению с МС.

Использование антидисбиотических препаратов оказывает разное действие на клеточный состав: лизоцим и квертгил снижают соотношение нейтрофилов/лимфоциты, однако не возвращают его к норме и повышают численность моноцитов, но достоверно — лишь в группе МС + лизоцим. В отличие от лизоцима и квертгиала, квертулин мало влияет на показатели крови.

Полученные нами результаты свидетельствуют об ослаблении лимфоцитарного звена клеточного иммунитета при экспериментальном МС. Из трех испытанных антидисбиотических препаратов наиболее эффективным оказался квертгил.

Результаты определения активности уреазы и лизоцима в печени крыс с МС, получавших анти-

дисбиотические препараты, представлены в табл. 3. Эти данные показывают, что при патологии без лечения почти в 5 раз возрастает активность уреазы, что свидетельствует об увеличении микробной обсемененности печени. Напротив, активность лизоцима снижается в 2,7 раза. Антидисбиотические препараты снижают активность уреазы и повышают активность лизоцима. Однако активность уреазы достоверно снижается лишь при действии лизоцима.

Таблица 3

Влияние квертулина, лизоцима и квертгиала на активность уреазы и лизоцима в печени крыс с МС,  $M \pm m$

Группа	Уреаза, мк-кат/кг	Лизоцим, ед./кг
Интактные	$0,20 \pm 0,05$	$167 \pm 15$
Метаболический синдром (МС)	$0,97 \pm 0,11^{**}$	$62 \pm 10^{**}$
МС + квертулин	$0,73 \pm 0,10^{**}$	$93 \pm 9^{* \#}$
МС + лизоцим	$0,56 \pm 0,09^{* \#}$	$136 \pm 15^{\#}$
МС + квертгиал	$0,67 \pm 0,11^{**}$	$99 \pm 10^{* \#}$

Показано, что при экспериментальном МС степень дисбиоза в печени крыс возрастает в 13 раз (рис. 1). Все антидисбиотические препараты достоверно снижают степень дисбиоза, хотя и не возвращают его к норме, причем наиболее эффективными оказались лизоцим и квертгиал.

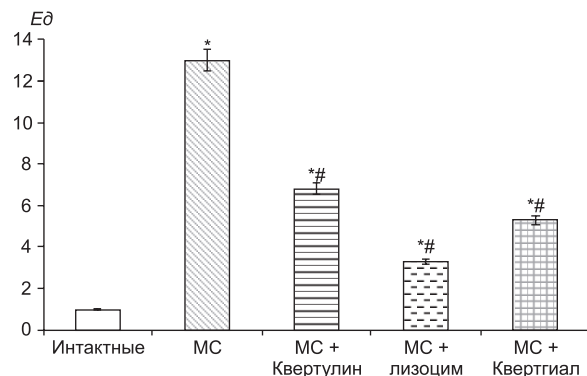


Рис. 1. Влияние Квертулина, лизоцима и Квертгиала на степень дисбиоза в печени при МС. \* —  $P < 0,05$  по сравнению с интактными, # —  $P < 0,05$  по сравнению с МС.

Результаты определения уровня маркеров воспаления в печени крыс с МС, получавших антидисбиотические препараты, представлены в табл. 4. Как видно из этих данных, при патологии достоверно возрастает уровень обоих маркеров, а антидисбиотические препараты их уровень снижают, причем квертулин — практически до нормы. Наиболее слабое действие оказал препарат лизоцима.

Результаты определения активности каталазы и ЩФ в печени крыс, которые на фоне МС получа-

ли антидисбиотические препараты, представлены в табл. 5. Из этих данных видно, что активность каталазы печени не изменяется ни при патологии, ни при воздействии антидисбиотических средств. В то же время, активность ЩФ достоверно возрастает при патологии, что свидетельствует о развитии холестаза, и существенно снижается (практически до нормы) под влиянием антидисбиотических препаратов, из которых наиболее эффективным оказался квертгиал.

Таблица 4

Влияние квертулина, лизоцима и квертгиала на уровень маркеров воспаления в печени крыс с МС,  $M \pm m$

Группа	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мк-кат/кг
Интактные	$37,6 \pm 1,8$	$382 \pm 8$
Метаболический синдром (МС)	$50,7 \pm 2,2^{***}$	$486 \pm 12^{***}$
МС + квертулин	$42,0 \pm 2,5^{\#}$	$406 \pm 17^{\# \#}$
МС + лизоцим	$44,7 \pm 2,4^*$	$443 \pm 22^*$
МС + квертгиал	$43,2 \pm 2,9^{\#}$	$427 \pm 13^{* \# \#}$

Таблица 5

Влияние квертулина, лизоцима и квертгиала на активность каталазы и ЩФ в печени крыс с МС,  $M \pm m$

Группа	Каталаза, мкат/кг	ЩФ, мк-кат/кг
Интактные	$5,93 \pm 0,20$	$4,84 \pm 0,25$
Метаболический синдром (МС)	$5,78 \pm 0,09$	$6,44 \pm 0,48^*$
МС + квертулин	$5,86 \pm 0,08$	$5,25 \pm 0,41$
МС + лизоцим	$5,79 \pm 0,21$	$5,14 \pm 0,22^{\#}$
МС + квертгиал	$5,84 \pm 0,04$	$4,97 \pm 0,12^{\# \#}$

Показано, что индекс АПИ в печени достоверно снижается при патологии, однако существенно возрастает под влиянием антидисбиотических препаратов, особенно тех, которые содержат кверцетин (рис. 2).

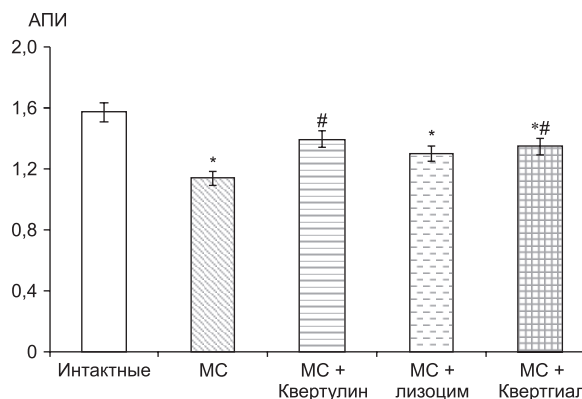


Рис. 2. Влияние Квертулина, лизоцима и Квертгиала на величину АПИ в печени при МС. \* —  $P < 0,05$  по сравнению с интактными, # —  $P < 0,05$  по сравнению с МС.

Таким образом, на фоне ВЖР наблюдаются серьезные нарушения состояния печени при экспериментальной дисбиотической патологии, осложненной иммунодефицитом.

Антидисбиотические препараты оказывают гепатопротекторное действие, что подтверждает роль кишечного дисбиоза в патогенезе гепатита и диктует первоочередную необходимость устранения кишечного дисбиоза для профилактики и

лечения гепато-билиарной патологии. Для этой цели более предпочтительным является препарат лизоцима в желатине, который можно использовать перорально. Что же касается гепатопротекторного действия двух кверцетинсодержащих препаратов, то предпочтение следует отдать квертигалу, который при аппликации на слизистую полости рта вызывает такое же действие, как и квертулин, но только в значительно меньших дозах.

### Список использованной литературы

1. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
2. Левицкий А. П., Деньга О. В., Макаренко О. А. и др. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: Метод. рекомендации. — Одесса, 2010. — 16 с.
3. Левицкий А. П., Макаренко О. А., Селиванская И. А. и др. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: метод. рекомендации. — К.: ГФЦ, 2007. — 23 с.
4. Руководство по клинической лабораторной диагностике: В 2 ч. — К.: Вища школа, 1982. — Ч. 2. — 175 с.
5. Титов В. Н. Высокое содержание пальмитиновой кислоты в пище — основная причина повышения уровня холестерина липопротеинов низкой плотности и атероматоза интимы артерий // Клин. лабор. диагностика. — 2013. — № 2. — С. 3-10.
6. Титов В. Н. Метаболический синдром, физико-химические и биологические основы патогенеза, формирования симптомов, диагностики и лечения // Клин. лабор. диагностика. — 2005. — № 9. — С. 10.
7. Титов В. Н. Неэтерифицированные и свободные жирные кислоты плазмы крови. Патогенез артериальной гипертензии и симптомы синдрома переедания — метаболический синдром (лекция) // Клин. лабор. диагностика. — 2013. — № 12. — С. 27-38.
8. Al-Daghri N. M., Guerini F. R., Al-Attas O. S. et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity and inflammasome activity // PLOS one. — 2014. — 9, № 7. — P. 102-141.
9. Bäckhed F., Manchester J. K., Semenkovich C. F. et al. Mechanism underlying the resistance to diet-induced obesity in germ-free mice // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2007. — 104, № 3. — P. 979-984.
10. Bjursell M., Admyre T., Göransson M. et al. Improved glucose control and reduced body fat mass in free fatty acid receptor 2-deficient mice fed a high-fat diet // Am. J. Physiol. — 2011. — 300, № 1. — P. E211-E220.
11. Browning J. D., Horton J. D. Molecular mediators of hepatic steatosis and liver injury // J. Clin. Invest. — 2004. — 114, № 1. — P. 147-152.
12. Burcelin R., Crivelli V., Dacosta A. et al. Heterogeneous metabolic adaptation of C57BL/6J mice to high-fat diet // Amer. J. Physiol. — 2002. — 282. — P. E834-E842.
13. Cani P. D., Bibiloni R., Knauf C. et al. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat-diet-induced obesity and diabetes in mice // Diabetes. — 2008. — 57, № 6. — P. 1470-1481.
14. Donglas R. S., Bell C. Chronic sympathetic activation: consequence and cause of age-associated obesity? // Diabetes. — 2004. — 53, № 2. — P. 276-284.
15. Gregor M. F., Hotamisligil G. S. Inflammatory mechanisms in obesity // Ann. Rev. Immunol. — 2011. — 29, № 3. — P. 415-445.
16. Grundy S. M. Metabolic syndrome pandemic // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. — 2008. — 28, № 5. — P. 629-636.
17. Levitsky A. P., Glazunov O. A., Meladze I. N. Influence of quercetin on condition of parodont in rats with experimental metabolic syndrome // J. Health Sci. — 2014. — 4, № 11. — С. 133-144.
18. Mulvihill E. E., Huff M. W. Protection from metabolic dysregulation, obesity, and atherosclerosis by citrus flavonoids<sup>1</sup> activation of hepatic PGC1- $\alpha$ -mediated fatty acid oxidation // PPAR. Res. — 2012. — doi: 10.1155/2012/857142.
19. Ooi L. G., Ahmad R., Yuen K. H. et al. Lactobacillus acidophilus CHO-220 and inulin reduced plasma total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol via alteration of lipid transporters // J. Dairy Sci. — 2010. — 93, № 11. — P. 5048-5058.
20. Panchal S. K., Brown L. Rodent models for metabolic syndrome research // J. Biomed. Biotechnol. — 2010. — 2011, № 1. — P. 14-23.
21. Turnbaugh P. J., Ley R. E., Mahowald M. A. et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest // Nature. — 2006. — 444. — P. 1027-1031.
22. Unger R. H. Lipotoxic diseases // Annu. Rev. Med. — 2002. — 53. — P. 319-336.
23. Van der Kallen, van Greevenbroek M., Stehouwer C. et al. Endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis in the development of diabetes: is there a role for adipose tissue and liver? // Apoptosis. — 2009. — 14, № 12. — P. 1424-1444.
24. Zaldivar F., McMurray R. G., Nemet D. et al. Body fat and circulating leukocytes in children // Int. J. Obesity. — 2006. — 30, № 6. — P. 906-911.
25. Zhang A., Zhang M., Wang S. et al. Interactions between gut microbiota, host genetics and diet relevant to development of metabolic syndromes in mice // ISME J. — 2010. — 4, № 2. — P. 232-241.

Получено 21.09.2014

## ГЕПАТОПРОТЕКТОРНА ДІЯ АНТИДИСБІОТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ

А. П. Левицький, О. М. Левченко\*, В. Л. Васюк\*\*

Державна установа "Інститут стоматології НАМН України", 65026 Одеса

\*Комунальна установа "Одеська обласна клінічна лікарня", 65123 Одеса

\*\*Буковинський державний медичний університет, 58002 Чернівці

За умов моделювання у 35 білих щурів-самців лінії Вістар експериментального метаболічного синдрому відзначено у крові різке збільшення співвідношення нейтрофіли/лімфоцити та зниження числа моноцитів, а в печінці — майже 5-разове збільшення активності уреази, 3-разове зниження активності лізоциму, достовірне підвищення рівня маркерів запалення (МДА і еластази). Встановлено 13-разове збільшення ступіня дисбіозу в печінці та достовірне збільшення активності лужної фосфатази. Використання антидисбіотичних препаратів (квертулін, квертгіал, лізоцим) нормалізує стан печінки.

## HEPATOPROTECTIVE EFFECT OF ANTIDYSBIOTIC DRUGS IN EXPERIMENTAL METABOLIC SYNDROME

A. P. Levitsky, E. M. Levchenko\*, V. L. Vasiuk\*\*

State Institution "Institute of Stomatology NAMS Ukraine", 65026 Odessa

\*Municipal Institution "Odessa Regional Hospital", 65123 Odessa

\*\*Bukovinian State Medical University Ministry of Health Ukraine, 58002 Chernivtsi

Modeling of experimental metabolic syndrome in Wistar male rats was accompanied by a sharp increase in neutrophils/lymphocytes ratio and decrease in the numbers of monocytes in the blood, as well as almost 5-fold increase in the urease activity, a 3-fold decrease in the activity of lysozyme, and significant increase in the levels of inflammatory markers (MDA and elastase) in the liver. A 13-fold increase was observed in the level of dysbiosis in the liver and a significant increase in the alkaline phosphatase activity. Using antidysbiotic drugs (Quertulin, Quertgial and lysozyme) normalized the state of liver.