

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧНИЙ РОЗДІЛ

УДК 616.36:616.31:612.31:616.98

**А. П. Левицький¹, д.біол. н.,
Двуліт І. П.², к. мед. н., Г. З. Борис²**

¹Державна установа «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії Національної академії медичних наук України»

²Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

АНТИДИСБІОТИЧНА ПРОФІЛАКТИКА УРАЖЕНЬ СЛИННИХ ЗАЛОЗ У ЩУРІВ З НЕАЛКОГОЛЬНИМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

Експериментальний НАСГ викликає значне зростання в слинних залозах щурів активності уреазы, можливо, за рахунок зниження антимікробної функції печінки. В той же час слинні залози доволі резистентні до прозапальних факторів. Антидисбіотичні засоби (леквін і лізоцим) суттєво знижують активність уреазы в слинних залозах і нормалізують їх антиоксидантний статус. Висловлена думка про здатність слинних залоз здійснювати екскрецію уреазы з бактерій.

Ключові слова: слинні залози, НАСГ, уреазы, лізоцим, антидисбіотичні засоби.

А. П. Левицький¹, И. П. Двулит², Г. З. Борис²

¹Государственное учреждение «Институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии Национальной академии медицинских наук Украины»

²Львовский национальный медицинский университет им. Данилы Галицкого

АНТИДИСБИОТИЧЕСКАЯ ПРОФИЛАКТИКА НАРУШЕНИЙ СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗ У КРЫС С НЕАЛКОГОЛЬНЫМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ

Експериментальний НАСГ вызывает значительное возрастание в слюнных железах крыс активности уреазы, возможно, за счет снижения антимікробной функции печени. В то же время, слюнные железы довольно устойчивы к провоспалительным факторам. Антидисбіотические средства (леквін и лізоцим) существенно снижают активность уреазы в слюнных железах и нормализуют их антиоксидантний статус. Высказана мысль о способности слюнных желез осуществлять экскрецию уреазы из бактерий.

Ключевые слова: слюнные железы, НАСГ, уреазы, лізоцим, антидисбіотические средства.

A. P. Levitsky¹, I. P. Dvulit², G. Z. Boris²

¹State Establishment «The Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine»

²Lviv National Medical University named after Danylo Galytskij

ANTIDYSBIOTIC PROPHYLAXIS OF SALIVARY GLANDS DYSFUNCTION ON RATS WITH NON-ALCOHOLIC STEATONEPHRITIS

ABSTRACT

The aim. To reveal the state of rat salivary glands at NASH and determine possibility of prophylaxis of the salivary glands lesions by antidysbiotic means.

The materials and methods. NASH was restored in rats by keeping to high fatty diet with the experimental intestinal dysbiosis. The part of rats with NASH got the antidysbiotic means (lekvin in lysozyme). The activities of urease, lysozyme, elastase, catalase and the content of MDA were estimated in salivary glands.

The findings. Increased the activity of urease and decreased the activity of lysozyme and catalase were foxed at NASH. The antidysbiotic means decreased the activity of urease and increased the activity of lysozyme.

The conclusion. The salivary glands is resistant to inflammation factors. The salivary glands may to the excretion of urease and, may be bacteriae.

Key words: salivary glands, NASH, urease, lysozyme, antidysbiotic means.

Неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) за останні роки набув значного поширення у зв'язку з суттєвим збільшенням споживання жирів, особливо, термічно оброблених [1-3]. Важливу роль в патогенезі НАСГ відіграє і наявність кишечного дисбіозу, який виникає внаслідок ряду причин, однією з яких є і широке застосування антибіотиків [4-6].

В наших попередніх роботах було показано розвиток пародонтиту у щурів з НАСГ і можливість його профілактики за допомогою антидисбіотичних гепатопротекторів [7, 8].

Мета даної роботи. Визначення стану слинних залоз у щурів з експериментальним НАСГ і дослідження можливості профілактики їх ураження за допомогою антидисбіотичних засобів.

Матеріали і методи дослідження. Експерименти було проведено на 40 білих щурах лінії Вістар (самиці, 3 місяці, середня жива маса 150±10 г), яких було розподілено на 4 рівні групи. 1-а група – контроль (інтактні щури); 2-а, 3-я,

4-а групи щурів, у яких відтворювали неалкогольний стеатогепатит (НАСГ) [9] шляхом використання високожирового раціону і відтворення кишкового дисбіозу [10]. Щури 3-ої групи отримували з кормом антидисбіотичний засіб «Леквін» (лецитин + кверцетин + інулін + цитрат Са) [11] в дозі 300 мг/кг щоденно на протязі 20 днів. Щури 4-ої групи отримували з кормом на протязі 20 днів препарат лізоцима «Clerizuma» виробництва фірми «Caglificio clerici S. r. A», Італія на 10 %-ному розчині желатину (доза лізоцима становила 30 мг/кг за добу).

Евтаназію тварин здійснювали на 21-й день дослідження під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотальної кровотечі із серця. Виділяли привушну і підщелепну залози, в гомогенаті яких визначали активність уреазу [12], лізоцима [13], еластази [14], каталази [14] та вміст малонового

діальдегіда (МДА) [15]. За співвідношенням активності каталази і вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [14], а за співвідношенням відносних активностей уреазу і лізоцима розраховували ступінь дисбіозу [16].

Результати дослідів піддавали стандартній статобробці [17].

Результати дослідження та їх обговорення. В таблиці 1 представлено результати визначення біохімічних показників привушної залози щурів. Перш за все треба вказати, що у щурів в привушній залозі практично відсутній фермент лізоцим, який є в невеликій кількості в підщелепній залозі, а найбільший вміст цього фермента виявляється в малих слінних залозах, розташованих в слизовій оболонці порожнини рота [20].

Таблиця 1

Вплив антидисбіотичних засобів на біохімічні показники привушних залоз щурів з НАСГ

Показники	Групи			
	1 контроль	2 НАСГ	3 НАСГ + леквін	4 НАСГ + лізоцим
Уреазу, мк-кат/кг	0,62±0,10	1,73±0,13 p<0,01	1,38±0,15 p<0,01; p ₁ >0,05	1,33±0,13 p<0,01; p ₁ >0,05
Еластаза, мкат/кг	0,09±0,01	0,12±0,01 p>0,05	0,12±0,01 p>0,05; p ₁ =1,0	0,11±0,01 p>0,05; p ₁ >0,05
МДА, ммоль/кг	95,7±6,0	112,4±6,5 p>0,05	95,6±4,4 p>0,8; p ₁ <0,05	96,8±5,5 p>0,6; p ₁ >0,05
Каталаза, мкат/кг	4,77±0,25	3,83±0,09 p<0,05	4,76±0,14 p>0,9; p ₁ <0,01	4,68±0,19 p>0,3; p ₁ <0,05
АПІ	0,50±0,02	0,34±0,03 p<0,01	0,50±0,04 p=1,0; p ₁ <0,05	0,48±0,03 p>0,3; p ₁ <0,05

Примітка: p – в порівнянні з гр. 1; p₁ – в порівнянні з гр. 2.

Як видно з даних таблиці 1, у щурів з НАСГ майже втричі зростає активність уреазу, що свідчить про суттєве збільшення бактеріального обсіменіння залози. Препарат леквін знижує активність уреазу на 20 %, а лізоцим – на 23 %. Активність еластази (маркер запалення [18]) зростає у щурів з НАСГ на 33 % (однак p>0,05), і обидва антидисбіотичних засоба практично не впливають на цей показник в привушній залозі. Вміст МДА, який є показником процесів пероксидації ліпідів [15], зростає у щурів з НАСГ на 17,5 % (p>0,05), а під дією антидисбіотичних засобів повертається до показника контролю. Активність антиоксидантного фермента каталази в привушній залозі щурів з НАСГ знижується на 20 % (p<0,05), але обидва засоби її повністю відновлюють. Аналогічні зміни відбуваються і з індексом АПІ.

В таблиці 2 представлено результати визначення біохімічних показників підщелепної залози.

Слід відмітити дуже високу активність протеолітичного фермента еластази (майже в 30 разів більше, ніж в привушній залозі). З представлених даних видно, що у щурів з НАСГ рівень еластази в підщелепній залозі практично не реагує на наявність НАСГ і на введення антидисбіотичних засобів.

У щурів з НАСГ достовірно зростає вміст МДА (на 15,5 %). Введення «Леквіну» знижує вміст МДА на 10 % (p<0,05), а введення лізоциму – на 6 % (p<0,05). Навпаки, активність каталази в підщелепній залозі знижується на 24 % у щурів з НАСГ і достовірно зростає лише після введення «Леквіну».

У щурів з НАСГ значно (в 2,6 разів) зростає в підщелепній залозі активність уреазу, що свідчить про зростання бактеріального обсіменіння. Обидва засоби суттєво знижують активність уреазу, практично до рівня контролю. Навпаки, активність лізоцима (показник неспецифічного

іmunітету) знижується у щурів з НАСГ майже у 8 разів, що свідчить про суттєве зниження рівня неспецифічного імунітета. Введення «Леквіну»

підвищує активність лізоцима в 3 рази, а введення лізоцима практично повністю відновлює активність цього фермента.

Таблиця 2

Вплив антидисбіотичних засобів на біохімічні показники підщелепних залоз щурів з НАСГ

Показники	Групи			
	1 контроль	2 НАСГ	3 НАСГ + леквін	4 НАСГ + лізоцим
Уреаза, мк-кат/кг	0,10±0,04	0,26±0,02 p<0,01	0,14±0,02 p>0,05; p ₁ <0,01	0,13±0,03 p>0,05; p ₁ <0,01
Лізоцим, од/кг	54±18	7±5 p<0,05	20±1 p<0,05; p ₁ <0,05	46±14 p>0,3; p ₁ <0,05
Еластаза, мкат/кг	2,57±0,14	2,52±0,10 p>0,7	2,55±0,16 p>0,5; p ₁ >0,5	2,55±0,09 p>0,5; p ₁ >0,5
МДА, ммоль/кг	16,8±0,2	19,4±0,3 p<0,01	17,4±0,4 p>0,05; p ₁ <0,05	18,2±0,5 p<0,05; p ₁ <0,05
Каталаза, мкат/кг	6,17±0,07	4,71±0,15 p<0,05	6,01±0,05 p>0,05; p ₁ <0,01	5,94±0,09 p<0,01; p ₁ >0,05
АПІ	3,85±0,11	2,43±0,10 p<0,01	3,45±0,12 p<0,05; p ₁ <0,05	3,20±0,10 p<0,05; p ₁ <0,05
Ступінь дисбіозу	1,00±0,15	20,0±2,10 p<0,001	3,78±0,39 p<0,01; p ₁ <0,001	1,53±0,18 p<0,05; p ₁ <0,001

Примітка: див. табл. 1.

Розрахований за показниками активності уреазі і лізоцима ступінь дисбіозу в підщелепній залозі щурів з НАСГ зростає у 20 разів, введення леквіну знижує його в 5 разів, а введення лізоциму – в 7 разів.

Отримані нами дані дають підстави вважати, що великі слинні залози щурів доволі резистентні до патогенної дії печінкових факторів, про що свідчить відсутність активації біохімічного маркера запалення – еластази і в привушній і в підщелепній залозах.

В той же час відомо, що у щурів з НАСГ значно (в 8-9 разів) зростає активність уреазі в сироватці крові, що свідчить про значне зниження рівня антимікробної функції печінки [19].

В наших досліджах встановлено майже триразове збільшення активності уреазі в слинних залозах щурів з НАСГ, що може свідчити про здатність слинних залоз здійснювати екскрецію уреазі (або уреазупродукуючих бактерій) зі слиною, подібно тому, як це роблять нирки [20].

Раніше нами було показано, що антидисбіотичні засоби суттєво покращують антимікробну функцію печінки та знижують рівень уреазі в сироватці крові [22]. Як наслідок цього, повинна знижуватись і екскреція уреазі слинними залозами, що ми і спостерігали в наших досліджах.

Висновки. 1. НАСГ викликає значне збільшення рівня уреазі в слинних залозах щурів, що може свідчити про їх здатність здійснювати екскрецію уреазі (або бактерій, що поступають до слинних залоз гематогенним шляхом).

2. Слинні залози щурів проявляють резистентність до патогенних факторів печінкового походження.

3. Антидисбіотичні засоби («Леквін» і «Лізоцим») знижують рівень уреазі в слинних залозах і нормалізують їх антиоксидантну активність, можливо, за рахунок гепатопротекторної дії цих засобів.

Список літератури

1. Кардиометаболические факторы риска на разных клинико-морфологических стадиях неалкогольной жировой болезни печени у больных абдоминальным ожирением / К. А. Комшилова, Е. А. Трошина, С. А. Бутрова [и др.] // Ожирение и метаболизм. – 2012. – № 3(32). – С. 20-25.
2. Fasting time and lipid parameters: association with hepatic steatosis – data from a random population sample / M. Gruchot, T. Graeter, S. Oeztuerk [et al.] // Lipids Health. Dis. – 2014. – V. 13, № 18. – P. 1-18.
3. Комшилова К. А. Ожирение и неалкогольная жировая болезнь печени: метаболические риски и их коррекция / К. А. Комшилова, Е. А. Трошина // Ожирение и метаболизм. – 2015. – № 2(43). – С. 35-39.
4. Velichko V. I. Development of dysbiosis in tissues of rats fed with a high fat food / V. I. Velichko, V. V. Tkachuk, A. P. Levitsky // Journal of Health Sciences. – 2014. – V. 4, № 12. – P. 84-92.
5. Пародонтопротекторные действия пищевых жиров с высоким содержанием пальмитиновой кислоты / И. В. Ходаков, А. П. Левицкий, В. В. Ткачук [и др.] // Бюллетень XIV чтений им. В. В. Подвысоцкого. – 2015. – С. 222-223.
6. High-salt in addition to high-fat diet may enhance inflammation and fibrosis in liver steatosis induced by oxidative stress and dyslipidemia in mice / Y. Uetake, H. Ikeda, R. Irie [et al.] // Lipids Health. Dis. – 2015. – V. 14, № 6. – P. 1-8.
7. Фурдычко А. И. Пародонтопротекторное действие антидисбиотического гепатопротектора при эксперимен-

тальном стеатогепатите / А. И. Фурдычко, С. А. Демьяненко, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2015. – № 4(93). – С. 15-18.

8. **Фурдычко А. И.** Влияние антидисбиотических средств на состояние пародонта у крыс с экспериментальным неалкогольным стеатогепатитом / А. И. Фурдычко, М. И. Скидан, А. П. Левицкий // Вісник стоматології. – 2016. – № 1(94). – С. 5-10.

9. **Мукозопротекторное** действие на кишечник крыс антидисбиотического средства леквин при неалкогольном стеатогепатите / А. П. Левицкий, А. В. Бочаров, О. А. Макаренко [и др.] // Фітоterapia. Часопис. – 2016. – № 1. – С. 30-33.

10. **Экспериментальные** методы воспроизведения гингивита: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2013. – 15 с.

11. **Патент** на корисну модель № 108596. Антидисбіотичний засіб «Леквін» / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. О. Селіванська [та ін.]. – № у 201512750 від 23.12.2015; Опубл. 25.07.2016. Бюл. № 14.

12. **Ферментативный** метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – К.: ГФЦ, 2007. – 23 с.

13. **Левицкий А. П.** Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.

14. **Левицкий А. П.** Методы экспериментальной стоматологии // А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, С. А. Демьяненко. – Симферополь: Тарпан, 2018. – 78 с.

15. **Стальная И. Д.** Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. – М.: Медицина, 1977. – С. 66-68.

16. **Патент** на корисну модель, Україна 43140, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А. П., Деньга О. В., Селіванська І. О. [та ін.]. – Опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.

17. **Трухачева Н. В.** Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 379 с.

18. **Левицкий А. П.** Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. – К.: ГФЦ, 2002. – 15 с.

19. **Левицкий А. П.** Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2011. – 141 с.

20. **Meiland R.** A symptomatic bacteriuria in women with diabetes mellitus. Effect on renal function after 6 years of follow-up / R. Meiland, S. E. Geerlings, R. P. Stolk // Arch. Intern. Med. – 2006. – V. 166, № 20. – P. 2222-2227.

21. **Кишечный** дисбиоз – этиологическая и патогенетическая основа синдрома бактериурии / С. В. Халиулина, В. А. Анохин, О. К. Поздеев [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2003. – Т. 84, № 1. – С. 51-53.

22. **Левицкий А. П.** Гепато-оральный синдром / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко. – Симферополь: Тарпан, 2012. – 136 с.

REFERENCES

1. **Komshilova K. A., Troshina E. A., Butrova S. A. i dr.** Cardiometabolic factors of risk on different clinico-morphological studeice of non-alcoholic fatty hepac on patients of abdominal obesity. *Ozhirenne i metabolizm*. 2012; 3(32): 20-25.

2. **Gruchot M., Graeter T., Oeztuerk S. et al.** Fasting time and lipid parameters: association with hepatic steatosis – data from a random population sample. *Lipids Health. Dis*. 2014; 13(18): 1-18.

3. **Komshilova K. A., Troshina E. A.** Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: metabolic risks and their correction. *Ozhirenne i metabolizm*. 2015; 2(43): 35-39.

4. **Velichko V. I., Tkachuk V. V., Levitsky A. P.** Development of dysbiosis in tissues of rats fed with a high fat food. *Journal of Health Sciences*. 2014;4(12):84-92

5. **Khodakov I. V., Levitsky A. P., Tkachuk V. V. i dr.** Parodontoprotective action of food fats with high content of palmitic acid. *Byulleten' XIV chteniy im. V. V. Podvysotskogo*. Odessa, 2015: 222-223.

6. **Uetake Y., Ikeda H., Irie R. et al.** High-salt in addition to high-fat diet may enhance inflammation and fibrosis in liver steatosis induced by oxidative stress and dyslipidemia in mice. *Lipids Health. Dis*. 2015; 14(6): 1-8.

7. **Furdychko A. I., Demyanenko S. A., Levitsky A. P.** The periodontoprotective effect of antidysbiotic hepatoprotector at the experimental steatohepatitis. *Visnyk stomatologii*. 2015; 4(93):15-18.

8. **Furdychko A. I., Skidan M. I., Levitsky A. P.** Influence of antidysbiotic means facilities on the state ofparadontium for rats with experimental non-alcoholic steatohepatitis. *Visnyk stomatologii*. 2016; 1(94): 5-10.

9. **Levitsky A. P., Bocharov A. V., Makarenko O. A. i dr.** The mucosoprotective action of phytopreparation lequin on the rat intestine with non-alcoholic steatohepatitis. *Fitoterapija. Chasopys*. 2016; 1: 30-33.

10. **Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. i dr.** *Eksperymentalnye metody vosproizvedeniia gignivita: metodicheskie rekomendatsii* [The experimental methods of gingivite reproduction: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2013: 15.

11. **Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. ta in.** Antidysbiotic preparation "Lekvin". Patent of Ukraine 108536. IPC (2016.01) A61K 36/00, A61P 3/00. Date of filling: 23.12.2015. Publ.: 25.07.2016. Bul. № 14.

12. **Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. i dr.** *Fermentativnyy metod opredeleniya disbioza polosti rta dlya skringinga pro- i prebiotikov: metodicheskie rekomendatsii* [Enzymatic methods for determination of oral dysbiosis for screening pro- and prebiotics: method guidelines]. *Kiev, GFC*, 2007: 23.

13. **Levitsky A. P.** *Lizotsym vmesto antibiotikov* [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005: 74.

14. **Levitsky A. P., Makarenko O. A., Demyanenko S. A.** *Metody eksperymentalnoi stomatologii* [Methods of experimental stomatology]. *Simferopol, Tarpan*, 2018: 78.

15. **Stalnaya I. D., Garishvili T. G.** *Metod opredeleniya malonovogo dialdegida s pomoshchyu tiobarbiturovoy kisloty* [The method of revelation of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid]. Moskva, Meditsina, 1977: 66-68.

16. **Levitsky A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. ta in.** The method of estimation of the degree of dysbiosis (dysbacteriosis) of organs and tissues. Patent of Ukraine 43140. IPC (2009) G01N 33/48. Application number u 200815092. Date of filling: 26.12.2008. Publ.: 10.08.2009. Bul. № 15.

17. **Truhacheva N. V.** *Matematicheskaja statistika v mediko-biologicheskikh issledovaniyah s primeneniem paketa Statistica* [Mathematical Statistics in biomedical research using application package Statistica]. Moskva, GJeOTAR-Media, 2012: 379.

18. **Levitsky A. P., Stefanov A. V.** *Metody opredeleniya aktivnosti elastazy i eye ingibitorov: metodicheskie rekomendatsii* [The methods of the determination of the activity of elastase and its inhibitors: method guidelines]. *Kiev, GFC*, 2002:15.

19. **Levitsky A. P., Demyanenko S. A., Tsiselskiy Yu. V.** *Antimikrobnaya funktsiya pecheni* [The antimicrobial function of liver]. *Odessa, KP OGT*, 2011:141.

20. **Meiland R., Geerlings S. E., Stolk R. P.** A sympto-

matic bacteriuria in women with diabetes mellitus. Effect on renal function after 6 years of follow-up. *Arch. Intern. Med.* 2006; 166(20): 2222-2227.

21. **Khaliullina S. V., Anokhin V. A., Pozdeev O. K. i dr.** Gut dysbiosis – etiologic and pathogenetic basis of bacteriuria syndrome. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal.* 2003; 84(1): 51-53.

22. **Levitsky A. P., Demyanenko S. A.** *Gepato-oralny*

sindrom [Hepato-oral syndrome]. *Simferopol, Tarpan,* 2012: 140.

Надійшла 19.11.18

