

17. Entsiklopediya klinicheskikh laboratornykh testov [The encyclopedia of clinical laboratoric tests]. Red. N. U. Tica. Moskva: Labinform, 1997: 128, 459-460.

18. Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3<sup>rd</sup> ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005: 616.

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

Работа поступила в редакцию 22.12.2015 г.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования.

УДК 612.33+612.015.13

О. А. Петренко<sup>1</sup>, І. В. Петренко<sup>2</sup>, А. П. Левицький<sup>3</sup>

### ГАСТРОПРОТЕКТОРНА ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИДИСБИОТИЧНИХ ЗАСОБІВ У ЩУРІВ З ПРЕДНІЗОЛОНОВИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ

<sup>1</sup>Комунальна установа «Одеська обласна клінічна лікарня»

<sup>2</sup>ДУ «Іллічівська басейнова лікарня на водному транспорті МОЗ України»

<sup>3</sup>ДУ «Інститут стоматології НАМН» (м. Одеса)

65026, м. Одеса, вул. Ришельєвська, 11. E-mail: [flavan@mail.ru](mailto:flavan@mail.ru)

**Summary.** Petrenko O. A., Petrenko I. V., Levitsky A. P.. **GASTROPROTECTIVE ANTIDYSBIOTIC MEANS EFFICIENCY IN RATS WITH PREDNIZOLON IMMUNODEFICIENCY.** The objective. To determine the gastroprotective (anti-ulcer) effectiveness of the drug "Kvertulin" (quercetin + inulin + calcium citrate) and meal of grapes husks at an experimental immunodeficiency. Materials and methods. The immunodeficiency was induced by administration of prednisolone per os (5 mg/kg) during 14 days. Condition stomach lining was assessed by the area of ulcers and erosions, by level of proteases, MDA and catalase. Antidysbiotic means (ADM) was administered in the feed at a dose of 400 mg / kg within 14 days. Availability of immunodeficiency was evaluated by white blood cells level (lymphocytes) in the blood. Results. On the development of immunodeficiency indicate a threefold reduction in the number of lymphocytes. Number of ulcers and erosions in the gastric mucosa was increased 5.5-fold, significantly increased protease activity and MDA level while reducing the index API. Administration of ADM completely eliminated the formation of ulcers and erosions, normalizes level of MDA and have a little effect on the activity of proteases. Conclusion. ADM possesses anti-ulcer effect due to the normalization of peroxidation.

**Keywords:** stomach, ulcer, prednisolone, immunodeficiency, gastroprotectors, antidysbiotic means.

**Реферат.** Петренко О. А., Петренко І. В., Левицький А. П. **ГАСТРОПРОТЕКТОРНА ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИДИСБИОТИЧНИХ ЗАСОБІВ У ЩУРІВ З ПРЕДНІЗОЛОНОВИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ.** Цель работы – определение гастропротекторной (противоязвенной) эффективности препарата антидисбиотических средств (АДС) при экспериментальном иммунодефиците. Иммунодефицит вызывали введением *per os* преднизолона (5 мг/кг) в течение 14 дней. Состояние слизистой желудка оценивали по площади язв и эрозий, по уровню протеаз, катепсина и МДА. АДС (квертулин и мука из виноградной выжимки) вводили с кормом в

дозе 400 мг/кг в теченні 14 днів. Наявність імунodefіцита оцїнювали по уроню лейкоцитів крові. На розвиток імунodefіцита указувало троекратне зниження числа лимфоцитів. Кількість язв і ерозій в слизистій шлунку збільшувалась в 5,5 рази, достовірно зростала активність протеаз і рівень МДА. Введення квертуліна повністю устранило формування язв і ерозій, нормалізувало рівень МДА і мало впливало на активність протеаз. Заключення. АДЗ мають противоязвенним ефектом за рахунок нормалізації процесів перекисного окислення.

**Ключові слова:** жєлудок, язва, преднізолон, імунodefіцит, гастропротектори, антидисбіотичні засоби.

**Реферат.** Петренко О. А., Петренко І. В., Левицький А. П. **ГАСТРОПРОТЕКТОРНА ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИДИСБІОТИЧНИХ ЗАСОБІВ У ЩУРІВ З ПРЄДНІЗОЛОНОВИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ.** Мета роботи – визначення гастропротекторної (противиразкової) ефективності антидисбіотичних засобів (АДЗ) при експериментальному імунodefіциті. Імунodefіцит викликали введенням *per os* преднізолону (5 мг/кг) протягом 14 днів. Стан слизової оболонки шлунку оцїнювали за площею виразок і ерозій, по рівню протеаз, катепсину і МДА. АДЗ (квертулін і мука з виноградних вичавок) вводили з кормом в дозі 400 мг/кг протягом 14 днів. Наявність імунodefіциту оцїнювали по рівню лейкоцитів крові. На розвиток імунodefіциту вказувало триразове зниження числа лимфоцитів. Кількість виразок і ерозій в слизовій оболонці шлунку збільшувалась в 5,5 рази, достовірно зростала активність протеаз і рівень МДА. Введення АДЗ повністю усунуло утворення виразок і ерозій, нормалізувало рівень МДА і мало впливало на активність протеаз. Висновок. АДЗ володіють противиразковою дією за рахунок нормалізації процесів перекисного окислення.

**Ключові слова:** шлунок, виразка, преднізолон, імунodefіцит, гастропротектори, антидисбіотичні засоби.

**Вступ.** Глюкокортикоїди за умов тривалого їх застосування викликають в організмі велику кількість ускладнень: гастропатії, шлункові виразки, остеопороз, діабет, імунodefіцит та ін. [1-4]. Доведено, що в патогенезі численних ускладнень глюкокортикоїдної терапії суттєве місце посідає дисбіоз [5].

**Метою** даної роботи стало визначення гастропротекторної ефективності за умов преднізолонового імунodefіциту двох антидисбіотичних засобів (АДЗ).

В якості АДЗ було обрано два нових засоба: Квертулін (Кв) і мука з виноградних вичавок (МВВ). Перший з них містить біофлавоноїд кверцетин, пребіотик інулін і цитрат кальцію [6]. Другий засіб містить біологічно активні речовини з виноградних вичавок, головним чином, біофлавоноїди [7].

#### **Матеріали і методи дослідження**

Досліди було проведено на 32 білих щурах лінії Вістар (саміці 3 місяці, 140±8г), яких було поділено у 4 рівних групи: 1-а – норма, 2-а – преднізолоновий імунodefіцит (ПД), 3-я – ПД+квертулін, 4-а – ПД+МВВ.

ПД відтворювали шляхом введення *per os* преднізолону в дозі 10 мг/кг (перші 2 дні) і в дозі 5 мг/кг (наступні 12 днів).

Квертулін виробництва НВА «Одеська біотехнологія» за ТУ У 10.8-13903778-040:2012 вводили з кормом в дозі 400 мг/кг щоденно на протязі 14 днів.

МВВ виготовляли з виноградних вичавок винограда сорта Ізабєла після сушки при ±110 °С і подрібнення в кофемолці. МВВ також вводили з кормом в дозі 400 мг/кг щоденно на протязі 14 днів.

Евтаназію тварин здійснювали на 15-й день під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотальної кровотечі із серця.

В крові визначали вміст лейкоцитів, нейтрофілів та лімфоцитів [8]. За співвідношенням лімфоцитів та нейтрофілів розраховували лімфоцитарний індекс (ЛІ). Після вилучення шлунку робили його розтин по малій кривизні, промивали від залишків їжі і на поверхні слизової оболонки підраховували кількість виразок та ерозій, а також вимірювали їх площу. Потім відскрібали слизову оболонку шлунку і зберігали її при –30 °С. В гомогенаті слизової оболонки (50 мг/мл 0,05М трис-НСІ буфера рН 7,5) визначали

активність еластази [9], катепсина D [9], каталази [9], вміст малонового діальдегіда (МДА) [9]. За співвідношенням активності каталази і вмісту МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ [9].

#### **Результати та їх обговорення**

В таблиці 1 наведено результати визначення вмісту лейкоцитів (нейтрофілів і лімфоцитів) в крові шурів, які отримували преднізолон. З цих даних видно, що хоча загальний вміст лейкоцитів суттєво не змінюється, однак доля нейтрофілів збільшується втричі, а доля лімфоцитів знижується також втричі. В результаті цього індекс ЛІ знижується майже в 10 разів, що свідчить про значне пригнічення імунітету (тобто, розвиток імунодефіциту). АДЗ знижують вміст нейтрофілів і збільшують вміст лімфоцитів та дещо підвищують індекс ЛІ. Більш виражену імуностимулюючу дію показує МВВ.

В таблиці 2 приведені результати досліджень, які свідчать, що введення преднізолону здійснює ульцерогенну дію на слизову оболонку шлунка, що проявляється збільшенням кількості виразок та їх площі. Однак введення АДЗ суттєво знижує ці показники.

*Таблиця 1*

Вплив антидисбіотичних засобів на вміст лейкоцитів, нейтрофілів та лімфоцитів в крові шурів з преднізолоновим імунодефіцитом (ПІД)  
( $M \pm m$ ,  $n=8$  в усіх групах)

№ п/п	Групи	Лейкоцити, $\times 10^9/\text{л}$	Нейтрофіли, %	Лімфоцити, %	Лімфоцитарний індекс
1	Норма	12,2 $\pm$ 0,7	21,6 $\pm$ 1,2	69,0 $\pm$ 2,3	3,19 $\pm$ 0,02
2	ПІД	10,1 $\pm$ 1,4 $p > 0,05$	69,8 $\pm$ 5,2 $p < 0,01$	23,6 $\pm$ 5,5 $p < 0,01$	0,34 $\pm$ 0,04 $p < 0,01$
3	ПІД + квертулін	11,5 $\pm$ 1,4 $p > 0,2$ $p_1 > 0,3$	61,3 $\pm$ 2,2 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	32,0 $\pm$ 4,5 $p < 0,01$ $p_1 > 0,3$	0,52 $\pm$ 0,05 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$
4	ПІД + МВВ	10,7 $\pm$ 0,9 $p > 0,3$ $p_1 > 0,5$	45,8 $\pm$ 2,3 $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	43,8 $\pm$ 3,9 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	0,96 $\pm$ 0,11 $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Примітки:  $p$  – в порівнянні з групою № 1,  $p_1$  – в порівнянні з групою № 2.

*Таблиця 2*

Вплив антидисбіотичних засобів на ульцерогенез в слизовій оболонці шлунка шурів за умов преднізолонового імунодефіциту (ПІД) ( $M \pm m$ ,  $n=8$  в усіх групах)

№ п/п	Групи	Ерозії		Виразки		Гастропротекторна ефективність, %
		число	площа, $\text{мм}^2$	число	площа, $\text{мм}^2$	
1	Норма %	1 12,5	1,25 $\pm$ 0,30	1	1,28 $\pm$ 0,33	–
2	ПІД %	2 25,0	3,14 $\pm$ 0,41 $p < 0,01$	11	50,24 $\pm$ 2,78 $p < 0,01$	0
3	ПІД + квертулін	0	0	1	2,41 $\pm$ 0,37 $p_1 < 0,01$	95,5
4	ПІД + МВВ	0	0	3	5,24 $\pm$ 0,56 $p < 0,01$	90,2

Примітки: див. табл. 1.

Гастропротекторну ефективність (ГПЕ) розраховували за формулою:

ГПЕ =  $[(S_2 - S_{3(4)})/S_2] \times 100 \%$ , де

$S_2$  – площа виразок і ерозій у щурів з ПІД (група № 2);

$S_{3(4)}$  – площа виразок і ерозій у щурів з ПІД, які отримували квертулін (група № 3) або МВВ (група № 4).

ГПЕ використаних АДЗ виявилась досить високою з деякою перевагою квертуліну (табл. 2).

Введення преднізолону достовірно підвищує активність протеолітичних ферментів еластази і катепсину D (гастрит?), причому введення квертуліну суттєво не вплинуло на активність протеаз, тоді як введення МВВ достовірно знизило активність катепсину D.

На рисунку представлено результати визначення в слизовій оболонці шлунка активності каталази, вмісту МДА та рівня індексу АПІ. З цих даних видно, що за умов ПІД дещо знижується активність каталази, суттєво збільшується вміст МДА і, як наслідок, суттєво знижується вміст АПІ, що свідчить про порушення балансу антиоксидантної та прооксидантної систем на користь останньої. АДЗ мало впливають на рівень каталази, однак достовірно знижують рівень МДА і суттєво підвищують індекс АПІ (особливо квертулін).

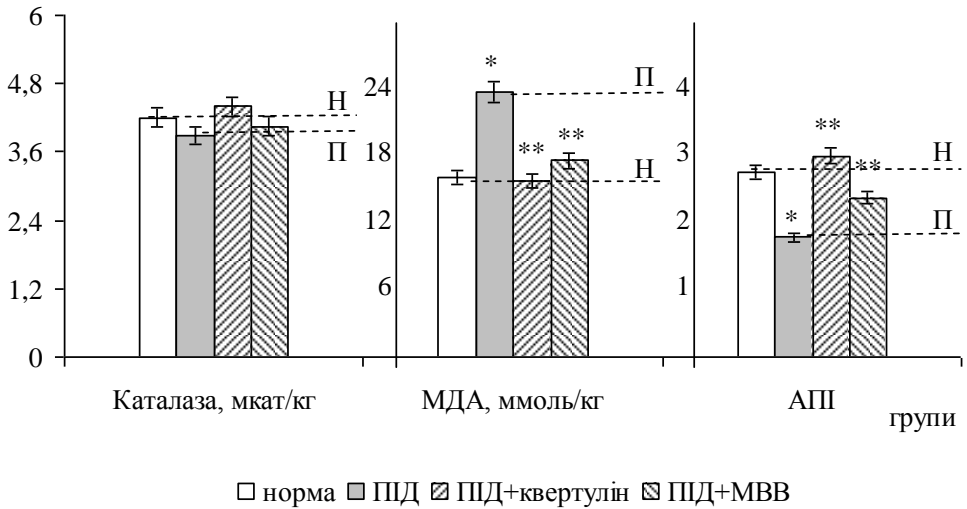


Рис. Вплив антидисбіотичних засобів на активність каталази, вміст МДА та індекс АПІ в слизовій оболонці шлунка щурів з преднізолоновим імунodefіцитом (ПІД) (Н – норма, П – патологія), (\* –  $p < 0,05$  в порівнянні з гр. 1 «норма»; \*\* –  $p < 0,05$  в порівнянні з гр. 2 «ПІД»)

Таблиця 3

Вплив антидисбіотичних засобів на активність протеаз в слизовій оболонці шлунка щурів з преднізолоновим імунodefіцитом (ПІД) ( $M \pm m$ ,  $n=8$  в усіх групах)

№ п/п	Групи	Еластаза, нкат/кг	Катепсин D, мк-кат/кг
1	Норма	$61 \pm 3$	$1,95 \pm 0,04$
2	ПІД	$79 \pm 8$ $p < 0,05$	$2,31 \pm 0,07$ $p < 0,05$
3	ПІД + квертулін	$74 \pm 4$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	$2,18 \pm 0,09$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,2$
4	ПІД + МВВ	$75 \pm 6$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,5$	$2,08 \pm 0,08$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$

Примітки: див. табл. 1.

Таким чином, преднізолоновий імунodefіцит здійснює ульцерогенний ефект головним чином за рахунок активізації процесів вільнорадикального окислення, про що

свідчить достовірне збільшення рівня МДА, зниження індексу АПІ і нормалізація цих показників під впливом АДЗ, що майже повністю виключає ульцерогенний ефект преднізолону. Активізація протеаз мабуть не має прямого відношення до ульцерогенезу, тому що АДЗ мало впливають на цей показник.

#### **Висновки**

1. Преднізолон викликає розвиток лімфоцитарного імунодефіциту, гастриту та утворення шлункових виразок.
2. Преднізолон активізує в слизовій оболонці шлунка процеси перекисного окислення ліпідів (ПОЛ).
3. Антидисбіотичні засоби знижують ступінь лімфоцитарного імунодефіциту (особливо МВВ), знижують рівень ПОЛ (особливо квертулін) і виявляють високу гастропротекторну ефективність.

#### **Література:**

1. Xiaoxia J. Effect of glucocorticosteroids in lipidperoxidation – possible correlation of corticoid treatment to the complication of cataract in severe atopic dermatitis / J. Xiaoxia, W. Shaobai, N. Iukie // Abstracts of 5 Interscience World conference on Inflammation, antiheumatics, analgesics, immunomodulators. – Geneva, Switzerland, Palexpo, 25-28 april 1993. – P. ..
2. Подвигина Т. Т. Зависимость процесса заживления эрозий слизистой оболочки желудка, вызванной индометацином, от содержания глюкокортикоидов в крови у крыс / Т. Т. Подвигина, А. И. Богданов, Л. П. Филаретова // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 2002. – № 2. – С. 29-32.
3. Генделека Г. Ф. Стероидный диабет. Особенности диагностики и лечения / Г. Ф. Генделека, Е. Н. Павловская // Вісник морської медицини. – 2004. – № 1 (24). – С. 85-87.
4. Гоженко А. І. Виразкова хвороба: етіологія і патогенез / А. І. Гоженко, А. О. Авраменко // Досягнення біології та медицини. – 2004. – № 1 (3). – С. 108-111.
5. Столяр В. Г. Вплив полівалентного орального гелю на біохімічні показники дисбіозу і запалення в яснах щурів з преднізолоновим пародонтитом / В. Г. Столяр, А. В. Борисенко, А. П. Левицкий // Journal of Health Sciences. – 2014. – Vol. 04, N 02. – P.257-268.
6. Квертулин – витамин Р, пребиотик, гепатопротектор / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – Одесса: КП «ОГТ», 2012. – 20 с.
7. Кормовая ценность муки из виноградной выжимки / А. П. Левицкий, И. В. Ходаков, И. А. Селиванская [и др.] // Зернові продукти і комбікорми. – 2013. – № 4 (52). – С. 20-22.
8. Базарнова М. А. Руководство по клинической лабораторной диагностике: [учебное пособие] / Под ред. М. А. Базарновой – Ч.2. - К.: Вища школа, 1982. – С. 18.
9. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации // А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.] – Одесса: КП ОГТ, 2010 – 16 с.

#### **References**

1. Xiaoxia J. Effect of glucocorticosteroids in lipidperoxidation – possible correlation of corticoid treatment to the complication of cataract in severe atopic dermatitis / J. Xiaoxia, W. Shaobai, N. Iukie // Abstracts of 5 Interscience World conference on Inflammation, antiheumatics, analgesics, immunomodulators. – Geneva, Switzerland, Palexpo, 25-28 april 1993. – P. ..
2. Podvignina T. T., Bogdanov A. I., Filaretova L. P. Dependence of healing erosions of the gastric mucosa caused by indomethacin content of glucocorticoids in the blood of rats. Patologicheskaya fiziologiya I eksperimentalnaya terapiya. 2002; 2: 29-32.
3. Gavdeleka G. F., Pavlovskaya E. N. The steroid diabetes. Diagnosis and treatment. Visnyk morskoy meditsiny. 2004; 1(24): 85-87.
4. Gozhenko A. I., Avramenko A. O. Peptic ulcer disease: etiology and pathogenesis. Dosiagnennya biologii ta meditsiny. 2004; 1 (3): 108-111.
5. Stolyar, V., Borysenko, A., Levitsky A. The effect of polyvalent oral gel on biochemical parameters of dysbiosis and gum inflammation in the rats with prednisolone-induced periodontitis. Journal of Health Sciences. 2014; 04(02): 257-268.

6. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.] Kvertulin – vitamin P, prebiotik, gepatoprotektor [Quertulin - vitamin P, a prebiotic, gepatoprotector]. Odessa, KP OGT, 2012:20.
7. Levitsky A. P., Khodakov I. V., Selivanskaya I. A. [et al.]. The feeding value of the grape pomace flour. Zernovi produkti i kombikormi. 2013; 4(52): 20-22.
8. Bazarnova M. A. Rukovodstvo po klinicheskoy laboratornoy diagnostike [Manual of Clinical Laboratory Diagnostics]. Kiev, Vyshcha shkola, 1982: 18.
9. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [et al.] Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010:16.

Работа поступила в редакцию 12.01.2016 г.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования.