

УДК 616.361-089:570.8-002:615.24

ВЛИЯНИЕ КВЕРТУЛИНА НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС С ПРЕНДИЗОЛОНОВЫМ ИММУНОДЕФИЦИТОМ

Васюк В.Л.¹, Левицкий А.П.², Гоженко А.И.³

¹Буковинский государственный медицинский университет (г. Черновцы)

²ГУ "Институт стоматологии НАМН Украины" (г. Одесса)

e-mail: flavan@mail.ru

³Украинский НИИ медицины транспорта (г. Одесса)

Введение преднизолона снижает содержание в крови лимфоцитов, а в печени уровень лизоцима при увеличении активности уреазы, степени дисбиоза, уровня маркеров воспаления. В сыворотке крови увеличивается содержание билирубина и активность АЛТ. Введение квертулина оказывает гепатопротекторный эффект.

Ключевые слова: печень, преднизолон, иммунодефицит, дисбиоз, гепатит, гепатопротектор.

Введение

Преднизолон, как и все кортикостероиды, вызывает иммунодефицит [1], который определяет патогенез многих осложнений кортикостероидной терапии [2-4].

Учитывая, что печень играет центральную роль в обменных, регуляторных и защитных процессах [5], мы поставили перед собой задачу определить состояние печени при экспериментальном иммунодефиците и исследовать возможность коррекции возникающих нарушений с помощью препарата гепатопротектора квертулина.

Последний препарат представляет собой композицию из биофлаваноида кверцетина, пребиотика инулина и цитрата кальция [6].

Материалы и методы исследования

В работе был использован квертулин производства НПА "Одесская биотехнология" в соответствии с требованиями ТУ У 10.8-13903778-040:2012. Иммунодефицит (ИД) вызывали с помощью преднизолона производства ЧАО "Фармацевтическая фирма "Дарница" (Украина).

Эксперименты были проведены на

24 белых крысах линии Вистар (самки, 3 месяца, средняя масса 140 ± 8 г). Крысы были распределены в 3 равные группы: 1-ая - норма, 2-ая получала преднизолон, 3-ья - получала преднизолон и с кормом препарат квертулина в дозе 400 мг/кг ежедневно в течение 14 дней.

Для воспроизведения ИД крысам перорально вводили препарат преднизолона в дозе 10 мг/кг (первые 2 дня), а затем в дозе 5 мг/кг (остальные 12 дней). Умерщвление животных осуществляли на 15-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. В цельной крови определяли содержание лейкоцитов и лейкоцитарную формулу [7]. В сыворотке крови определяли уровень "печеночных" маркеров: содержание билирубина [8], активность аланинтрансаминазы (АЛТ) [8] и щелочной фосфатазы (ЩФ) [9]. В гомогенате печени (50 мг/мл 0,05М трис-НСI буфера рН 7,5) определяли уровень маркеров воспаления [10]: активность эластазы и содержание малонового диальдегида (МДА); показатель микробного обсеменения - активность уреазы [11]; пока-

Таблица 1

Влияние квертулина на содержание лейкоцитов в крови крыс с преднизолоновым иммунодефицитом

№ п/п	Группы	Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	Нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	Н/Л
1	Норма	$12,2 \pm 0,7$	$21,6 \pm 1,2$	$69,0 \pm 2,3$	$0,31 \pm 0,02$
2	Преднизолоновый иммунодефицит (ПИ)	$10,1 \pm 1,4$ $p > 0,05$	$69,8 \pm 5,2$ $p < 0,01$	$23,6 \pm 5,5$ $p < 0,01$	$2,96 \pm 0,31$ $p < 0,001$
3	ПИ + квертулин	$11,5 \pm 1,4$ $p > 0,2$ $p_1 > 0,3$	$61,3 \pm 2,2$ $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	$32,0 \pm 4,5$ $p < 0,01$ $p_1 > 0,2$	$1,92 \pm 0,20$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$

Примечания. В этой и во всех остальных таблицах $n = 8$; p – в сравнении с группой № 1; p_1 – в сравнении с группой № 2.

Таблица 2

Влияние квертулина на уровень маркеров воспаления в печени крыс с преднизолоновым иммунодефицитом

№ п/п	Группы	Эластаза, мк-кат/кг	МДА, ммоль/кг
1	Норма	$0,67 \pm 0,05$	$63,2 \pm 6,7$
2	Преднизолоновый иммунодефицит (ПИ)	$0,79 \pm 0,06$ $p > 0,05$	$79,3 \pm 4,0$ $p < 0,05$
3	ПИ + квертулин	$0,74 \pm 0,05$ $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$	$74,0 \pm 4,7$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$

затель неспецифического иммунодефицита - активность лизоцима [11] и по соотношению относительных активностей этих двух ферментов рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [12].

Кроме того, в гомогенате печени определяли активность антиоксидантного фермента каталазы [10] и по соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [10].

Результаты исследований подвергли традиционной статобработке [13].

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты определения содержания лейкоцитов и лейкоцитарной формулы в крови крыс, получавших преднизолон. Из этих данных видно, что у крыс, получавших преднизолон, наблюдается явная тенденция к лейкопении, причем за счет лимфоцитов ("лимфоцитарный иммунодефицит"). В то же время, содержание нейтрофилов возрастает в 3 раза, что свидетельствует о развитии воспалительной реакции.

Более показательным является соотношение числа нейтрофилов и лимфоцитов (Н/Л), которое после введения преднизолона возрастает почти в 10 раз.

Введение квертулина проявляет явную тенденцию к увеличению числа лейкоцитов (главным образом за счет лимфоцитов), что дает достоверное снижение соотношения Н/Л, хотя оно все равно выше показателя нормы.

В табл. 2 представлены результаты определения в печени

уровня биохимических маркеров воспаления: эластазы и МДА. Как видно из этих данных, оба показателя после введения преднизолона повышаются, причем содержание МДА достоверно. Введение квертулина проявляет тенденцию к снижению обоих маркеров воспаления.

В табл. 3 показано изменение в печени активности уреазы и лизоцима. Видно, что введение преднизолона достоверно повышает активность уреазы, свидетельствующее о росте микробной обсемененности, и снижает в 1,9 раза активность лизоцима, отражающего состояние неспецифического иммунитета. Введение квертулина снижает активность уреазы до нормы, а активность лизоцима повышает, что отражает рост уровня неспецифического иммунитета.

Рассчитанная по методу Левицкого [12] степень дисбиоза в печени увеличивается почти в 3 раза после введения преднизолона, а введение квертулина снижает степень дисбиоза в 2

Влияние квертулина на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в печени крыс с преднизолоновым иммунодефицитом

№ п/п	Группы	Уреазы, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Норма	0,14 ± 0,01	150 ± 17	1,00 ± 0,15
2	Преднизолоновый иммунодефицит (ПИ)	0,22 ± 0,03 p < 0,05	82 ± 10 p < 0,01	2,91 ± 0,35 p < 0,001
3	ПИ + квертулин	0,14 ± 0,01 p = 1 p ₁ < 0,05	105 ± 18 p > 0,05 p ₁ > 0,05	1,43 ± 0,21 p > 0,05 p ₁ < 0,05

Таблица 4

Влияние квертулина на активность каталазы и индекс АПИ в печени крыс с преднизолоновым иммунодефицитом

№ п/п	Группы	Каталаза, мкат/кг	АПИ, ед.
1	Норма	6,30 ± 0,17	1,00 ± 0,03
2	Преднизолоновый иммунодефицит (ПИ)	7,02 ± 0,16 p < 0,05	0,88 ± 0,04 p < 0,05
3	ПИ + квертулин	7,32 ± 0,09 p < 0,01 p ₁ > 0,01	0,99 ± 0,03 p > 0,6 p ₁ < 0,05

Таблица 5

Влияние квертулина на уровень «печеночных» маркеров в сыворотке крови крыс с преднизолоновым иммунодефицитом

№ п/п	Группы	Билирубин, мкмоль/л	АЛТ, мк-кат/л	ЩФ, мк-кат/л
1	Норма	2,69 ± 0,22	0,64 ± 0,02	2,06 ± 0,13
2	Преднизолоновый иммунодефицит (ПИ)	3,71 ± 0,30 p < 0,05	0,74 ± 0,04 p < 0,05	2,20 ± 0,15 p > 0,3
3	ПИ + квертулин	2,76 ± 0,25 p > 0,3 p ₁ < 0,05	0,67 ± 0,03 p > 0,3 p ₁ > 0,05	2,19 ± 0,19 p > 0,3 p ₁ > 0,8

раза.

Что же касается активности антиоксидантного фермента каталазы, то её уровень в печени крыс, получавших преднизолон, достоверно возрастает, и ещё больше при одновременном введении квертулина (табл. 4). Рассчитанный по нашему методу показатель АПИ достоверно снижается при введении преднизолона и возвращается к норме при одновременном введении квертулина.

Наконец, в табл. 5 показан характер изменения уровня "печеночных" маркеров в сыворотке крови крыс, получавших преднизолон. Из этих данных видно, что введение преднизолона дос-

товерно повышает два из трёх маркеров, а именно, содержание билирубина и активность АЛТ, что свидетельствует, в определенной степени, о начинающемся гепатите. Введение квертулина нормализует оба "печеночных" маркера, что свидетельствует о гепатопротекторном действии квертулина.

Таким образом, длительное введение преднизолона вызывает развитие гепатита, возможно, за счет дисбиотических процессов. Введение квертулина устраняет явление дисбиоза в печени и подавляет развитие гепатита.

Выводы

1. Пероральное введение преднизолона в течение 14 дней приводит к развитию дисбиоза, вызывая "лимфоцитарный" и "лизоцимный" иммунодефициты.
2. Одновременное с преднизолоном введение квертулина предотвращает развитие дисбиоза и гепатита, что дает основание для проведения клинических испытаний данного препарата.

Литература

1. Алешина Р. М. Синдром вторичной иммунной недостаточности: клинико-лабораторная характеристика // Р. М. Алешина // Кліні. імунологія. Алергологія. Інфектологія. - 2007. - № 2 (07). - С. 17-20.
2. Голованова Н. Ю. Стероидный остеопороз

- роз при диффузных болезнях соединительной ткани и системных васкулитах у детей / Н. Ю. Голованова, Г. А. Лыскина, А. Г. Ильин // Рос. педиатрический журнал. - 1998. - № 3. - С. 8-10.
3. Tomita A. Glucocorticoid - induced osteoporosis-mechanisms and preventions / A. Tomita // Nippon Rinsho. - 1998. - v. 56, № 6. - P. 1574-1578.
 4. Полунина Т. Е. Клинические проявления гепатотоксического действия цитостатических препаратов / Т. Е. Полунина, И. В. Маев // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. - 2007. - № 3. - С. 52-54.
 5. Левицкий А. П. Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. - Одесса: КП ОГТ, 2011 - 141 с.
 6. Квертулин: витамин Р, пребиотик, гепатопротектор / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. - Одесса: КП ОГТ, 2012. - 20 с.
 7. Базарнова М. А. Клиническое исследование крови (В кн.: Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 2. Под ред. М. А. Базарновой) / М. А. Базарнова, Т. Л. Сакун. - К.: Вища школа, 1982. - С. 35-52.
 8. Горячковский А. М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский. - Одесса: Экология, 2005. - 616 с.
 9. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.]. - К.: ГФЦ, 2005. - 50 с.
 10. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. - Одесса, 2010. - 16 с.
 11. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. - К.: ГФЦ МЗУ, 2007. - 22 с.
 12. Патент на корисну модель № 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.]. № u 2008 15092 від 26.12.2008. Опубл. 10.08.2008. Бюл. № 15.
 13. Кокунин В. А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В. А. Кокунин // Укр. біохім. журнал. - 1975. - т. 47, № 6. - С. 776-791.

References

1. Alyeshyna R. M. Secondary immune deficiency syndrome: clinical and laboratory characteristics. Klin. imunologiya. Alergologiya. Infek-tologiya. 2007; 2(107): 17-20.
2. Golovanova N. Yu., Lyskina G. A., Ilyn A. G. Steroid osteoporosis in diffuse connective tissue diseases and systemic vasculitis in children. Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal. 1998; 3: 8-10.
3. Tomita A. Glucocorticoid - induced osteoporosis-mechanisms and preventions. Nippon Rinsho. 1998; 56 (6): 1574-1578.
4. Polunina T. Ye., Mayev I. V. Clinical manifestations of hepatotoxic action of cytotoxic drugs. Eksperim. i klin. gastroenterologiya. 2007; 3: 52-54.
5. Levitsky A. P., Demyanenko S. A., Tsiselskiy Yu. V. Antimikrobnaya funktsiya pecheni [The antimicrobial function of liver]. Odessa, KP OGT, 2011:141.
6. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. Kvertulin. Vitamin P, prebiotik, gepatoprotektor ["Querthulin", Vitamin P, prebiotic, hepatoprotector]. Odessa, KP OGT, 2012:20.
7. Bazarnova M. A., Sakun T. L. Klinicheskoe issledovanie krovi [The clinical study of blood. In the book "The Manual on Clinical Laboratorial Diagnostics. P. 2 (ed. Bazarnova M.A.)]. Kiev, Vyshcha shkola, 1982: 35-52.
8. Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3rd ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005:616.
9. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Denga O. V. [et al.]. Eksperimentalnye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie reko-mendatsii [The experimental methods of the study of osteogenesis stimulators]. Kiev, GFK, 2005:50.
10. 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.

11. Levitsky A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. Fermentativ-nyy 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: 22.
12. Levitskiy A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. [et al.]. 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.
13. Kokunin V.A. Statistical processing of data for a small number of experiments. Ukr. biokhim. jurn. 1975; 47(36):776-791.

Резюме

ВПЛИВ КВЕРТУЛІНА НА СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З ПРЕДНІЗОЛОНОВИМ ІМУНОДЕФІЦИТОМ

Васюк В.Л., Левицький А.П., Гоженко А.І.

Введення преднізолону знижує вміст в крові лімфоцитів, а в печінці рівень лізоцима при збільшенні активності уреазу, ступеня дисбіозу, рівня маркерів запалення. В сироватці крові зростає вміст білірубіна і активність АЛТ. Введення квертуліна справляє гепатопротекторний ефект.

Ключові слова: печінка, преднізолон, імунодефіцит, дисбіоз, гепатит, гепатопротектор.

Summary

INFLUENCE OF KVERTULINA ON RATS LIVER WITH PREDNISOLONE IMMUNODEFICIENCY

Vasyuk V.L., Levitsky A.P., Gozhenko A.I.

Objective: To determine the hepatoprotective effect of kvertulina in experimental prednisolone immunodeficiency (PI).

Materials and methods. PI was reproduced in rats by oral administration of prednisolone at a dose of 5 mg / kg. Status of PI was evaluated by the content of lymphocytes and lysozyme activity. Liver state was evaluated by level of ALT and bilirubin in serum as well as activity of elastase, urease, lysozyme, catalase, and the MDA content in liver tissue. Kvertulin was administered in the feed at a dose of 400 mg / kg for 14 days.

Results. The application of prednisolone reduces the amount of blood lymphocytes 3 times, lysozyme activity in liver 1.9 times and nearly to 3 times increases in the degree of liver dysbiosis. Experiencing increasing levels of inflammatory markers in the liver (elastase, MDA), bilirubin and ALT in blood serum. The application of kvertulina reduces the degree of PI, dysbiosis and occurrences of hepatitis.

Conclusion. Kvertulin has hepatoprotective effect in immunodeficiency.

Keywords: liver, prednisolone, immunodeficiency, dysbiosis, hepatitis, hepatoprotectors.

*Впервые поступила в редакцию 25.09.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*