

волны 280 нм. В свою очередь это способствует массовому высвобождению нуклеопротеинового компонента (МММ₁ при длине волны 254 нм), сопровождает развитие резорбционно-некротических изменений в поджелудочной железе и других органах.

Кроме того доказано, что при введении дексаметазона на начальных этапах развития ОП происходит замедление процессов ЭИ, тогда как отсроченное введение препарата не сопровождается вероятным снижением эндотоксемии.

Ключевые слова: острый панкреатит, эндогенная интоксикация, молекулы средней массы, крысы.

Summary

ROLE OF MIDDLE MASS MOLECULES IN EXPERIMENTAL L-ARGININE INDUCED PANCREATITIS AND THE CORRECTION BY DEXAMETHASONE

Cherkasova V.V.

The article presenting the results of research on 82 white male rats of Wistar line weight 180-220 g, on which was modeled acute pancreatitis (AP) and correction by dexamethasone. Animal blood samples were taken on 12, 24 and 48 hours of AP

to determine the content of middle mass molecules (MMM) for the assessment of endogenous intoxication (EI).

It was established that the development of AP accompanies massive release of trypsin, which leads to the destruction of protein components of cell membranes in various organs, as indicated by the elevation of MMM₂ at a wavelength of 280 nm. In turn, this contributes to the massive release nucleoprotein component (MMM₁ at a wavelength of 254 nm) that accompanies the development of resorptive-necrotic changes in the pancreas and other organs.

Also demonstrated, that after administered dexamethasone in the early stages of the AP, is slowing EI process, while the postponed introduction of the drug is not accompanied by a probable decrease of endotoxemia.

Key words: acute pancreatitis, endogenous intoxication, middle mass molecules, rats.

*Впервые поступила в редакцию 20.04.2017 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616.33: 342.092

ДИСБИОТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА

Левицкий А.П.¹, Гоженко А.И.², Левченко Е.М.³, Васюк В.Л.⁴

¹ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины» (г. Одесса); flavan@mail.ru

²ГУ «Украинский НИИ медицины транспорта МЗУ» (г. Одесса)

³КУ «Одесская областная клиническая больница»

⁴Буковинский государственный медицинский университет (г. Черновцы)

Высокожировой рацион в сочетании с кишечным дисбиозом вызывает развитие стеатогепатита, что указывает на целесообразность использования для его профилактики антидисбиотических средств.

Ключевые слова: высокожировой рацион, кишечный дисбиоз, неалкогольный стеатогепатит.

Введение

Неалкогольный стеатогепатит представляет собой состояние повышенного содержания триглицеридов в паренхиме воспаленной печени, обусловленные многими факторами [1-3]. Если раньше главной причиной стеатогепатита считали чрезмерное потребление алкоголя [4], то в последнее время значительно выросло число больных, у которых алкоголь не является причиной развития стеатогепатита (неалкогольный стеатогепатит, НАСГ). В этом случае причинами НАСГ рассматривают ожирение [5, 6], сахарный диабет 2 типа [7], метаболический синдром [8]. Хотя есть и противоположные мнения, рассматривающие НАСГ, как первопричину всех этих вышеперечисленных заболеваний [9, 10].

В последние десятилетия появилось значительное количество работ, показавших важную роль микробного фактора в патогенезе ожирения [11], сахарного диабета 2 типа [12], метаболического синдрома [13] и атеросклероза [14].

В качестве микробного фактора в этих работах рассматривают повышенное содержание условно патогенных бактерий в микробной системе организма [15]. Это состояние определяется как дисбиоз, при котором определяется не только нарушение видового и количественного состава микробов (дисбактериоз), но и увеличение в крови выше порогового уровня кишечного эндотоксина (липополисахарида, ЛПС) [16].

Целью настоящего исследования стало определение роли кишечного дисбиоза в патогенезе НАСГ.

Материалы и методы исследования

Опыты были проведены на 20 белых крысах линии Вистар (самцы, 6 месяцев, 354 ± 15 г), распределенных в 3 группы: 1-ая (8 гол.) — норма, получала стандартный комбикорм вивария (содержание жира 7 %), 2-ая (6 гол.) получала высокожировую рацион (ВЖР) (+ 15 % подсолнечного масла к стандартному

комбикорму) и 3-я (6 гол.) получала ВЖР и с первого дня опыта в течение 5 дней получала с питьевой водой антибиотик линкомицин в дозе 60 мг/кг для воспроизведения дисбиоза [17].

Эвтаназию животных осуществляли на 21-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. В гомогенате печени определяли содержание триглицеридов (ТГ) ферментативным методом [18], уровень маркеров воспаления [19]: содержание малонового диальдегида (МДА) и активность эластазы; активность уреазы (маркер микробного обсеменения) [20], лизоцима (показатель уровня неспецифического иммунитета) [20]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [20].

В сыворотке крови определяли уровень «печеночных» маркеров: содержание билирубина [21], активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) [21] и щелочной фосфатазы (ЩФ) [19], а также содержание ТГ [18].

Статобработку полученных результатов осуществляли в соответствии с указаниями [22].

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 представлены результаты определения содержания триглицеридов в печени и в сыворотке крови крыс, получавших ВЖР или ВЖР + дисбиоз. Из этих данных видно, что ВЖР достоверно увеличивает содержание ТГ в печени (на 38 %), а при сочетании ВЖР с дисбиозом содержание ТГ в печени увеличивается на 49 %.

В сыворотке крови крыс, получавших ВЖР, содержание ТГ увеличивается всего на 12 % ($p > 0,05$), а получавших ВЖР + Дисбиоз — на 36 % ($p < 0,01$).

В таблице 2 представлены результаты определения в ткани печени биохимических маркеров воспаления. Из этих

Таблица 1 стеатогепатит.

Влияние дисбиоза на уровень триглицеридов в печени и в сыворотке крови крыс, получавших ВЖР ($M \pm m$)

№№ пп	Группы	Триглицериды	
		печень, ммоль/кг	сыворотка крови, ммоль/л
1	Норма, $n = 8$	$6,66 \pm 0,24$	$0,33 \pm 0,02$
2	ВЖР, $n = 6$	$9,30 \pm 0,88$ $p < 0,05$	$0,37 \pm 0,01$ $p > 0,05$
3	ВЖР+дисбиоз, $n = 6$	$9,92 \pm 0,67$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	$0,45 \pm 0,02$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$

Примечание. p — в сравнении с гр. 1, p_1 — в сравнении с гр. 2.

Таблица 2

Влияние дисбиоза на уровень маркеров воспаления в печени крыс, получавших ВЖР ($M \pm m$)

№№ пп	Группы	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мк-кат/кг
1	Норма, $n = 8$	$41,6 \pm 1,0$	$0,41 \pm 0,02$
2	ВЖР, $n = 6$	$38,7 \pm 2,9$ $p > 0,1$	$0,52 \pm 0,01$ $p < 0,01$
3	ВЖР+дисбиоз, $n = 6$	$56,2 \pm 3,6$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$0,58 \pm 0,03$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$

Примечание. См. табл. 1.

В таблице 3 представлены результаты определения в ткани печени активности уреазы, лизоцима и степени дисбиоза. Видно, что у крыс, получавших ВЖР, активность уреазы возрастает в 1,8 раза, тогда как у крыс, получавших ВЖР на фоне кишечного дисбиоза, активность уреазы возрастает почти в 5 раз, что свидетельствует о значительном росте микробной обсемененности печени.

данных видно, что у крыс, получавших ВЖР, повышается уровень лишь одного маркера — эластазы, тогда как у крыс, получавших ВЖР + дисбиоз, достоверно возрастает уровень обоих маркеров воспаления: МДА на 35 %, эластазы на 42 %. Эти данные свидетельствуют о том, что при сочетании ВЖР с дисбиозом в печени развивается воспаление, т. е.

Активность лизоцима печени, напротив, достоверно снижается у крыс, получавших ВЖР (на 37 %) или ВЖР + дисбиоз (на 66 %), что свидетельствует о снижении уровня неспецифического иммунитета в этом органе.

В результате этого, степень дисбиоза в печени крыс, получавших ВЖР, возрастает в 2,86 раза, а получавших ВЖР на фоне кишечного дисбиоза — в 14,15 раза.

Таблица 3

Влияние дисбиоза на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в печени крыс, получавших ВЖР ($M \pm m$)

№№ пп	Группы	Уреаза, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза, ед.
1	Норма, $n = 8$	$0,036 \pm 0,005$	110 ± 12	$1,00 \pm 0,20$
2	ВЖР, $n = 6$	$0,065 \pm 0,010$ $p < 0,05$	69 ± 9 $p < 0,05$	$2,86 \pm 0,37$ $p < 0,05$
3	ВЖР+дисбиоз, $n = 6$	$0,173 \pm 0,024$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	37 ± 7 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$14,15 \pm 1,72$ $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$

Примечание. См. табл. 1.

Таблица 4

Влияние дисбиоза на уровень «печеночных» маркеров в сыворотке крови крыс, получавших ВЖР ($M \pm m$)

№№ пп	Группы	Билирубин, мк-моль/л	АЛТ, мк-кат/л	ЩФ, мк-кат/л
1	Норма, $n = 8$	$4,0 \pm 0,2$	$0,33 \pm 0,01$	$2,8 \pm 0,2$
2	ВЖР, $n = 6$	$4,2 \pm 0,3$ $p > 0,3$	$0,34 \pm 0,01$ $p > 0,3$	$2,8 \pm 0,2$ $p = 1,0$
3	ВЖР+дисбиоз, $n = 6$	$4,9 \pm 0,3$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	$0,44 \pm 0,03$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,02$	$5,4 \pm 0,4$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Примечание. См. табл. 1.

В таблице 4 показано изменение уровня в сыворотке крови «печеночных» маркеров. Из этих данных видно, что уровень печеночных маркеров существенно возрастает лишь при сочетании ВЖР с кишечным дисбиозом. Увеличение уровня билирубина и ЩФ свидетельствует о раз-

вители холестаза, а увеличение активности АЛТ (на 33 %) указывает на цитолиз гепатоцитов [21].

Таким образом, проведенные нами исследования показали решающую роль кишечного дисбиоза в патогенезе стеатогепатита, возникающего у лиц с чрезмерным потреблением жиров и ожирением. Полученные данные могут служить основанием для определенной переориентации стратегии профилактических мероприятий при НАСГ. На повестку дня должен быть поставлен вопрос о необходимости использования для профилактики НАСГ антидисбиотических средств [23].

Сочетание ВЖР и дисбиоза является экспериментальной моделью НАСГ и может использоваться для оценки эффективности антидисбиотических средств.

Выводы

1. Сочетание высокожирового рациона с кишечным дисбиозом вызывает развитие стеатогепатита.
2. Для профилактики стеатогепатита необходимо использовать антидисбиотические средства.

Литература

1. Неалкогольный стеатогепатит: диагностика и лечение, основанные на факторах риска / М. М. Северова, Т. Н. Лопаткина, А. В. Русских [и др.] / Фарматека. — 2011. — № 8. — С. 50-56.
2. Махов В. М. Жировая дистрофия печени и стеатогепатит — возможность смешанного варианта / В. М. Махов, А. А. Соколова // РМЖ. — 2011. — т. 19, № 5. — С. 282-287.
3. Геномные, протеомные и метаболомные предикторы развития неалкогольной жировой болезни печени у больных с ожирением. Сообщение 1 / О. О. Черняк, Т. Б. Сенцова, И. В. Ворожко [и др.] // Вопросы питания. — 2015. — т. 84, № 4. — С. 18-24.
4. Абдурахманов Д. Т. Алкогольный гепатит / Д. Т. Абдурахманов // Клиническая фармакология и терапия. — 2009. — т. 18, № 1. — С. 12-16.
5. Висцеральное ожирение как предиктор

атерогенеза у больных с неалкогольной жировой болезнью печени / Г. Д. Фадеевко, Т. А. Соломенцева, К. А. Сытник [и др.] // Сучасна гастроентерологія. — 2015. — № 2 (82). — С. 22-27.

6. 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.
7. Боднар П. М. Неалкогольна жирова хвороба печінки у хворих на цукровий діабет 2 типу: патогенез, діагностика та лікування / П. М. Боднар, Г. П. Михальчин, Н. М. Кобиляк // Ендокринологія. — 2012. — т. 17, № 1. — С. 94-101.
8. Anderson N. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis / N. Anderson, J. Byrlak // Pharmacol. Rev. — 2008. — v. 60, № 3. — P. 311-357.
9. 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 in Health and Disease. — 2015. — v. 14, № 6. — P. 1-8.
10. Fibrinogen production is enhanced in an in vivo model of non-alcoholic fatty liver disease: an isolated risk factor for cardiovascular events? / E. Yeung, P. Treskes, S. Martin [et al.] // Lipids in Health and Disease. — 2015. — v. 14, № 86. — P. 1-8.
11. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest / P. J. Turnbaugh, R. E. Ley, M. A. Mahowald [et al.] // Nature. — 2006. — v. 444, № 21/28. — P. 1027-1031.
12. Левицкий А. П. Дисбиоз, диабетическая ретинопатия и пребиотики / А. П. Левицкий, Ю. В. Цисельский. — Одесса: КП ОГТ, 2012 — 197 с.
13. Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice / P. D. Cani, R. Bibboni, C. Knauf [et al.] // Diabetes. — 2008. — 57 (6). — P. 1470-1481.
14. Эпидемиологические взаимосвязи пародонтита, дисбиоза кишечника, атерогенной дислипидемии при метаболическом синдроме / Н. Б. Петрухина, О. А. Зорина, И. М. Рабинович [и др.] // Стоматология. — 2015. — т. 94, № 2. — С. 16-19.

15. Багнюк В. Умовно патогенні інфекції: як їм протидіяти / В. Багнюк // Вісник НАН України. — 2006. — № 4. — С. 52-63.
16. Wang X. Endotoxins: structure, function and recognition / X. Wang, P. Quinn // *Series: Subcellular Biochemistry*. — v. 53. — Springer, 2010. — 415 p.
17. Вплив дисбіозу на стан печінки та ліпідного обміну щурів, які отримували високожировий раціон / В. В. Ткачук, В. І. Величко, О. М. Левченко [та ін.] // *Одеський медичний журнал*. — 2014. — № 2 (142). — С. 27-31.
18. Інструкція до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом / ТУ У 24.4-24607793-020-2003.
19. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: методические рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.]. — Одесса, 2010. — 16 с.
20. 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, 2007. — 22 с.
21. Горячковский А. М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский. — Одесса: Экология, 2005. — 616 с.
22. Лапач О.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / О.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
23. Левицкий А. П. Применение антидисбиотических средств в стоматологии / А. П. Левицкий // *Вісник стоматології*. — 2014. — № 4. — С. 80-88.
4. Abdurakhmanov D. T. Alcoholic hepatitis. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya*. 2009; 18 (1): 12-16.
5. Fadeenko G. D., Solomentseva T. A., Sytnik K. A [et al.]. Visceral obesity is predictor of atherogenesis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Suchasna gastroenterologiya* 2015; 2 (82): 22-27.
6. Komshilova K. A, Troshina E. A Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: metabolic risks and their correction. *Ozhirenie i metabolizm*. 2015; 2 (43): 35-39.
7. Bodnar P. M., Mikhal'chishin G. P., Kobilyak N. M. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with diabetes mellitus 2 type: pathogenesis, diagnostika and treatment. *Endokrinologiya* 2012; 17 (1): 94-101.
8. Anderson N., Byrlak J. Molecular mechanisms and therapeutic targets in steatosis and steatohepatitis. *Pharmacol. Rev.* 2008; 60 (3): 311-357.
9. 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 in Health and Disease*. 2015; 14 (6): 1-8.
10. Yeung E., Treskes P., Martin S. [et al.]. Fibrinogen production is enhanced in an in vivo model of non-alcoholic fatty liver disease: an isolated risk factor for cardiovascular events? *Lipids in Health and Disease*. 2015; 14 (86): 1-8.
11. 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 (21/28): 1027-1031.
12. Levitsky A P., Tsiselskiy Yu. V. Disbioz, diabeticheskaya retinopatiya i prebiotiki [Dysbiosis, diabetic retinopathy and prebiotics]. *Odessa, KP OGT*, 2012: 197.
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): 1470-1481.
14. Petrukhina N. B., Zorina O. A., Rabinovich I. M. [et al.]. Epidemiologic correlations of parodontitis, intestinal dysbiosis, atherogenic dyslipidemia at metabolic syndrome. *Stomatologiya* 2015; 94 (2): 16-19.
15. Bagnyuk V. Conditional pathogenic infections: as to counteract? *Visnyk NAN* (4): 18-24.

References

- Ukrai'ny. 2006; (4): С. 52-63.
16. Wang X., Quinn P. Endotoxins: structure, function and recognition. *Seria: Subcellular Biochemistry*. Springer 2010; 53: 415.
 17. Tkachuk V. V., Velichko V. I., Levchenko E. M. [et al.]. The influence of dysbiosis upon the contents of lipids in blood serum and in liver of rats, kept on highly fat diet. *Odes'kij medichnij zhurnal*. 2014; 2 (142): 27-31.
 18. The instruction to the set of reagents for the determination of triglycerides in blood serum and plasma with enzymatic colorimetric method. TU U 24.4-24607793-020-2003.
 19. 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.
 20. Levitsky A P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A. [et al.]. *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: 22.
 21. Goryachkovskiy A. M. *Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike* [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3rd ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005: 616.
 22. Lapach S.N., Chubenko AV., Babich P.N. *Statisticheskiye metody v medico-biologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel* [Statistical methods in medical and biological research by using Excel]. Kiyev, Morion, 2000: 320.
 23. Levitsky A P. The use of antidysbiotic preparations in dentistry. *Visnyk stomatologii*. 2014; 4: 89-92.

Резюме

ДИСБІОТИЧНІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТУ

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

Високожировий раціон в поєднанні з кишковим дисбіозом викликає розвиток стеатогепатиту, що вимагає застосування для його профілактики антидисбіотичні засоби.

Ключові слова: високожировий раці-

он, кишковий дисбіоз, неалкогольний стеатогепатит.

Summary

DYSBIOTIC ASPECTS OF EXPERIMENTAL NONALCOHOLIC STEATOHEPATITIS

*Levitsky A.P., Gozhenko A.I.,
Levchenko E.M., Vasyuk V.L.*

Aim: To investigate of role of intestinal dysbiosis in nonalcoholic steatohepatitis.

Materials and methods: Rats were feed high fat diet (fodder plus 15 % sunflower oil). One group of rats received high fat diet (HFD) on experimental intestinal dysbiosis, wich obtained by introduce of lincomycin in drinking water. The duration of experiment was 21 days. The content of triglyceride (TG), activity of elastase, urease, lysozyme and content of malondialdehyde (MDA) were determined in liver homogenates. The content of MDA, activity of ALT and alcalin phosphatase (AP) were determined in serum. Degree of dysbiosis was determined by ratio of relative activities of urease and lysozyme.

Results: HFD increased content of TG in liver, but no increased levels of hepatic marks (bilirubine, ALT and AP). Combination of HFD and intestinal dysbiosis increased level of TG in liver and in serum, increased levels of inflammation marks (MDA and elastase) and decreased of level of lysozyme in liver.

Conclusion: Combination HFD and intestinal dysbiosis is essential to development of steatohepatitis. Antidysbiotic means is a need to prophylactic of nonalcoholic steatohepatitis.

Keywords: *high fat diet, intestinal dysbiosis, nonalcohol steatohepatitis.*

*Впервые поступила в редакцию 30.03.2016 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования*