

УДК 517.112:612.8+615.462.03

ВЛИЯНИЕ ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ТРИГЛИЦЕРИДОВ В ПЕЧЕНИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС, ПОЛУЧАВШИХ ВЫСОКОЖИРОВОЙ РАЦИОН НА ФОНЕ ДИСБИОЗА И ИММУНОДЕФИЦИТА

Гоженко А.И.¹, Левицкий А.П.², Левченко Е.М.², Ткачук В.В.²

¹УкрНИИ медицины транспорта МЗУ, г. Одесса

²ГУ «Институт стоматологии НАМН», г. Одесса

e-mail: flavan@mail.ru

При моделировании у крыс иммунодефицита (с помощью цитостатика циклофосфана) и дисбиоза (с помощью линкомицина) на фоне высокожирового рациона установлено повышение содержания триглицеридов (ТГ) в печени, а также содержания ТГ, холестерина и уровня печеночных маркеров (билирубин, АЛТ и щелочная фосфатаза) в сыворотке крови. Введение антидисбиотических препаратов (квертулин, квертгиал и лизоцим) снижало содержание ТГ в печени, а также уровень ТГ, холестерина и печеночных маркеров в сыворотке крови.

Ключевые слова: дисбиоз, иммунодефицит, высокожировой рацион, печень, триглицериды, холестерин, печеночные маркеры.

Введение

В последнее время появились данные, свидетельствующие о тесной патогенетической связи ожирения с дисбиотическими явлениями в организме [1, 2]. Как известно, развитие дисбиоза в значительной степени обусловлено наличием в организме иммунодефицита [3].

Поэтому были сделаны попытки регулировать накопление жиров в организме с помощью препаратов антидисбиотического и иммуностимулирующего действия [4].

Целью нашего исследования стало изучение действия на содержание триглицеридов в печени и в сыворотке крови крыс ряда новых лечебно-профилактических препаратов, обладающих антидисбиотическим действием. К таким препаратам относятся квертулин (кверцетин + инулин + цитрат кальция), лизоцим в желатине и квертгиал (квертулин + гиалуроновая кислота) [5].

Материалы и методы исследования

В работе были использованы следующие материалы: кверцетин (производства «Merck», США, содержание основного вещества 99,6 %); инулин из корней цикория (производства «Consucra Groupe Waxoing S.A.», Бельгия); цитрат кальция (производства Китай); гиалуроновая кислота (препарат «Генгиал» производства «Ricerpharma», Италия); лизоцим (препарат «Clerizuma», производства «Caglificio Clerici S.p.A», Италия).

Из этих материалов готовили следующие препараты:

- «Квертулин» (ТУ У 10.8-13903778-040:2011);
- «Квертгиал» (ТУ У 20.4-13903778-032:2012);
- «Лизоцим в желатине» (10 % Clerizuma в 10 % растворе желатина).

В экспериментах было использовано 35 белых крыс линии Вистар (самцы, 4 месяца, средняя живая масса 250 г), распределенных в 5 равных групп:

**Экспериментальные группы и дозы препаратов
(все группы по 7 крыс)**

№№ п/п	Группы	Лечебный препарат	Дозы лечебных средств, мг/кг
1	Норма	–	–
2	Патология (П)	–	–
3	П + Квертулин	Квертулин порошок 300 мг/кг per os	Кверцетин – 5 Инулин – 180 Цитрат кальция – 115
4	П + Лизоцим	Лизоцим в желатине 1000 мг/кг	В пересчете на чистый лизоцим – 20
5	П + Квертгиал	Квертгиал гель 0,5 мл/крысу аппликации на СОПР	Кверцетин – 0,68 Инулин – 24,0 Цитрат кальция – 15,32 Гиалуроновая кислота – 0,80

- 1-ая – норма (интактные животные);
- 2-ая – патология: дисбиоз + иммунодефицит + высокожировой рацион (ВЖР);
- 3-ья – патология + препарат «Квертулин»;
- 4-ая – патология + препарат «Лизоцим в желатине»;
- 5-ая – патология + препарат «Квертгиал». Дозы препаратов указаны в таблице.

Дисбиоз вызывали с помощью антибиотика линкомицина, который давали с питьевой водой в дозе 60 мг/кг ежедневно в течение 5 дней [6]. Иммунодефицит создавали путем в/брюшинного введения цитостатика циклофосфана в дозе 25 мг/кг через день [7]. ВЖР получали путем добавки к комбикорму 15 % нерафинированного подсолнечного масла.

Продолжительность эксперимента составила 21 день. Лечебные препараты начинали вводить с первого дня опыта. Умерщвление жи-

вотных осуществляли на 22-й день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

Получали сыворотку крови и иссекали часть печени, которые хранили до исследования при –30 °С.

В гомогенате печени (50 мг/мл 0,05 М трис-НСI-бу-

фера рН 7,5) определяли содержание триглицеридов (ТГ) ферментативным методом [8], а в сыворотке крови, кроме ТГ, определяли содержание холестерина [9] и уровень печеночных маркеров: содержание билирубина [10], активность АЛТ [10] и щелочной фосфатазы (ЩФ) [11].

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли в соответствии с указаниями [12].

Результаты и их обсуждение

На рис. 1 представлены результаты определения содержания ТГ в печени крыс с тройной патологией. Из этих данных видно, что в патологической пе-

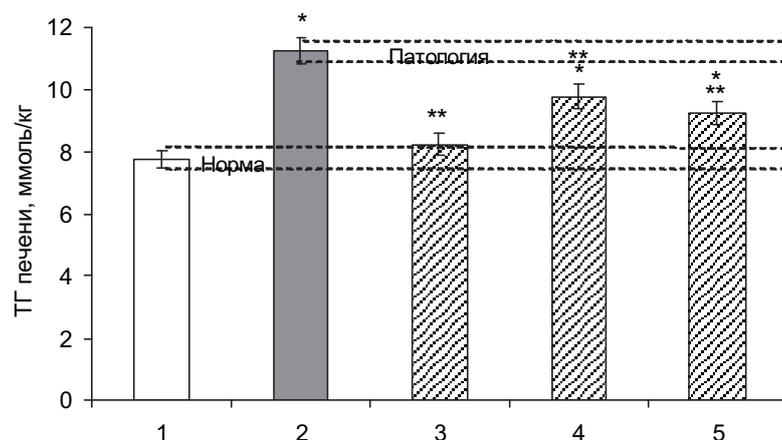


Рис. 1. Влияние квертулина, квертгиала и лизоцима на содержание ТГ в печени крыс с патологией (1 – норма, 2 – патология (П), 3 – П + квертулин, 4 – П + лизоцим, 5 – П + квертгиал)

* – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 1, ** – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 2

чени достоверно возрастает содержание жира, которое существенно снижается под влиянием испытанных нами антидисбиотических препаратов, однако в наибольшей степени (вплоть до нормы) – под влиянием Квертулина.

В сыворотке крови крыс с тройной патологией достоверно возрастает содержание и ТГ, и холестерина (рис. 2 и рис. 3). Под влиянием антидисбиотических препаратов содержание ТГ несколько снижается (однако, во всех случаях $p > 0,05$), тогда как содержание холестерина достоверно снижается практически до нормы.

Определение в сыворотке крови печеночных маркеров (билирубина, аланинтрансаминазы и ЩФ) (рис. 4) показало существенное возрастание их уровня, что свидетельствует о развитии гепатита (стеатогепатита). Под влиянием антидисбиотических препаратов, таких, как квертулин и лизоцим в желатине уровень билирубина и АЛТ достоверно

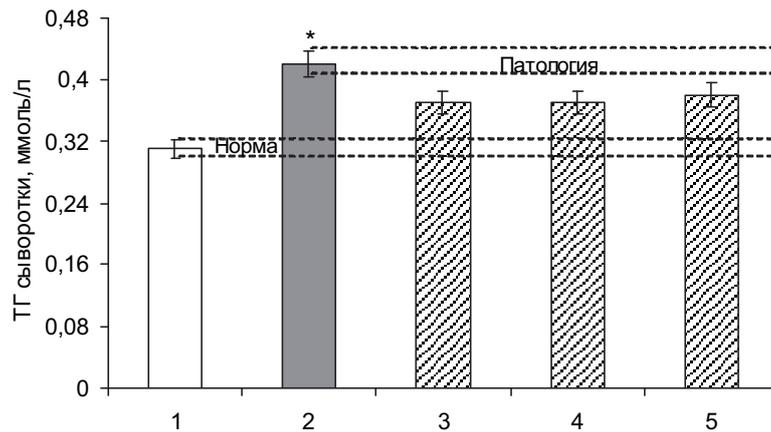


Рис. 2. Влияние квертулина, квертгиала и лизоцима на содержание ТГ в сыворотке крови крыс с патологией (1-5 – см. рис. 1)

* – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 1

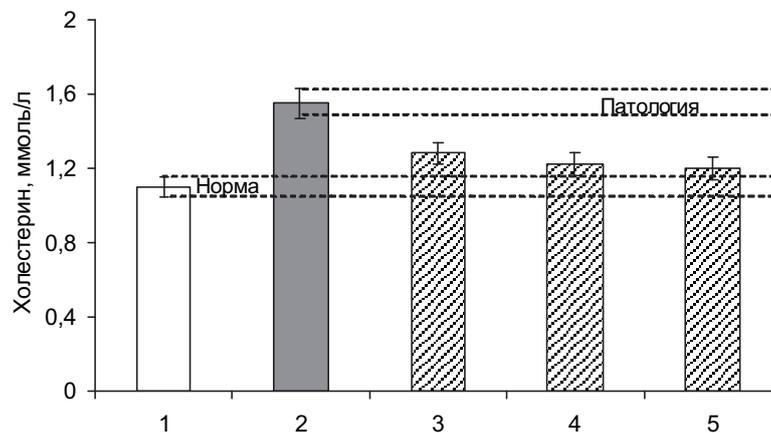


Рис. 3. Влияние квертулина, квертгиала и лизоцима на содержание холестерина в сыворотке крови крыс с патологией (1-5 – см. рис. 1)

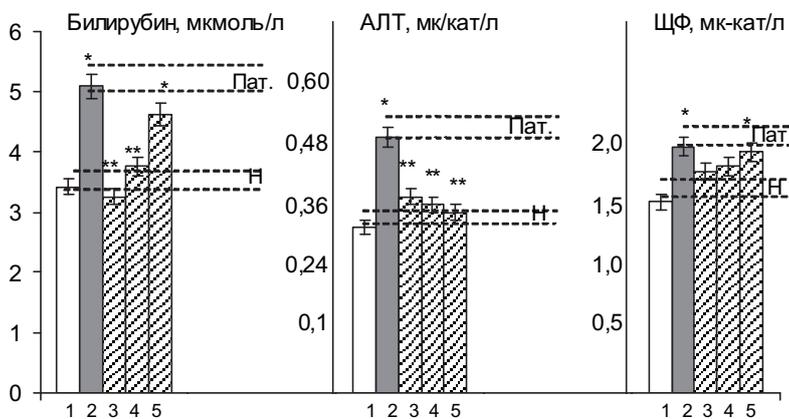


Рис. 4. Влияние квертулина, квертгиала и лизоцима на уровень печеночных маркеров в сыворотке крови крыс с патологией (1-5 – см. рис. 1)

* – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 1, ** – $p < 0,05$ в сравнении с гр. № 2

снижается (почти до нормы), а активность ЩФ лишь проявляет тенденцию к снижению. Третий антидисбиотический препарат, который содержит гиалуроновую кислоту и который использовался в виде оральных аппликаций, снизил до нормы лишь активность АЛТ и совершенно не повлиял на повышенный уровень билирубина и ЩФ.

Таким образом, ВЖР на фоне дисбиоза и иммунодефицита вызывает развитие гепатостеатоза и стеатогепатита, который сопровождается гипертриглицеридемией и гиперхолестеринемией. Антидисбиотические препараты, особенно квертулин, содержащий гепатопротектор кверцетин, пребиотик инулин и цитрат кальция, оказывает четко выраженное лечебно-профилактическое действие, устраняя не только явления стеатоза печени, но и устраняя явления стеатогепатита.

Ранее нами было показано гепатопротекторное действие квертулина при экспериментальной патологии печени [5] и в клинике у больных с холециститами и циррозом печени [13].

Можно полагать, что квертулин займет достойное место в арсенале средств, применяемых для профилактики и лечения стетогепатита.

Литература

1. Cani P.D. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance / P.D. Cani [et al.] // *Diabetes*. – 2007. – v. 56. – P. 1761-1772.
2. Possemiers S. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability / S. Possemiers [et al.] // *Gut*. – 2009. – v. 58. – P. 1091-1103.
3. Воеводин Д.А. Дисбактериоз и иммунопатологический процесс / Д.А. Воеводин, Г.Н. Розанова, М.А. Стенина // *ЖМЭИ*. – 2005. – № 2. – С. 88-92.
4. Gozhenko A.I. The hepatoprotective effect of quertulin in rats with disbiosis after high fat diet / A.I. Gozhenko, E.M. Levchenko, A.P. Levitsky // *Journal of Health Sciences*. – 2013. – v. 3, № 9. – P. 339-346.

5. Квертулин (витамин Р, пребиотик, гепатопротектор) / А.П. Левицкий, О.А. Макаренко, И.А. Селиванская [и др.]. – Одесса: КП ОГТ, 2012. – 20 с.
6. Деклараційний патент на корисну модель № 31012. Спосіб моделювання дисбіозу (дисбактеріозу) / Левицький А. П., Селиванська І.О., Цісельський Ю.В. [та ін.] – № u 200711609; заявл. 22.10.2007; опубл. 25.03.2008. Бюл. № 6.
7. Левицкий А.П. Пародонтопротекторное действие квертулина при экспериментальном иммунодефиците / А.П. Левицкий, Т.В. Томилина, И.И. Соколова // *Вісник стоматології*. – 2013. – № 2. – С. 2-6.
8. Інструкція до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом / ТУ У 24.4-24607793-020-2003.
9. Холестерин. Ферментативно-фотометрический метод с холестерин-оксидазой (пероксидазой) / РТ МД11-15796482-001:2003.
10. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А.М. Горячковский - [3-е изд.]. - Одесса: Экология, 2005. - 616 с.
11. Левицкий А.П. Сравнительная характеристика трех методов определения фосфатаз слюны человека / А.П. Левицкий, А.И. Марченко, Т.Л. Рыбак // *Лабор. дело*. – 1973. – № 10. – С. 624-625.
12. Кокунин В.А. Статистическая обработка данных при малом числе опытов / В.А. Кокунин // *Укр. біохім. журн.* – 1975. – т. 47, 3 б. – С. 776-791.
13. Биохимические маркеры воспаления и дисбиоза в слюне и в сыворотке крови у больных холециститом после лечения / С.А. Демьяненко, П.И. Пустовойт, Е.А. Токарь [и др.] // *Вісник стоматології*. – 2012. – № 1 (78). – С. 20-22.

References

1. Cani P.D. [et al.]. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*. 2007;56:1761-1772.
2. Possemiers S. [et al.]. Changes in gut microbiota control inflammation in obese mice through a mechanism involving GLP-2-driven improvement of gut permeability. *Gut*. 2009;58:1091-1103.
3. Voevodin D.A., Rozanova G.N., Stenina M.A. Dysbacteriosis and

- immunopathological process. JMEI. 2005;2:88-92 (in Russian).
4. Gozhenko A.I., Levchenko E.M., Levitsky A.P. The hepatoprotective effect of quertulin in rats with disbiosis after high fat diet. Journal of Health Sciences. 2013;3(9):339-346.
 5. Levitskiy A. P., Makarenko O. A., Selivanskaya I. A., Khromagina L. N., Knava O. E., Khodakov I. V., Demyanenko S. A., Stupak E. P., Skidan K. V., Skidan M. I., Tsiselskaya O. Yu., Khlystun N. L. Kvertulin. Vitamin P, prebiotik, gepatoprotektor ["Querthulin", Vitamin P, prebiotic, hepatoprotector]. Odessa, KP OGT, 2012:20 (in Russian).
 6. Levitskiy A. P., Selivanskaya I. A., Tsiselskiy Yu. V., Pochtar V. N., Rossachanova L. N., Gulavskiy V. T. The method of simulation of dysbiosis (dysbacteriosis). Patent of Ukraine 31012. IPC (2006) A61P 31/00. Application number u 200711609. Date of filling: 22.10.2007. Publ.: 25.03.2008. Bul. № 6 (in Ukrainian).
 7. Levitsky A.P., Tomilina T.V., Sokolova I.I. Periodontal protective effect of kvertulina in experimental immunodeficiency. Visnyk stomatologiy. 2013;2:2-6 (in Russian).
 8. 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.
 9. Cholesterol. Enzymatic-photometric method with cholesterol-oxidase (peroxidase) / RT MD11-15796482-001:2003 (in Russian).
 10. Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3rd ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005:616 (in Russian).
 11. Levitsky A.P., Marchenko A.I., Rybak T.L. Comparative characteristics of the three methods for the determination of human saliva phosphatases. Labor. delo. 1973;10:624-625 (in Russian).
 12. Kokunin V.A. Statistical processing of data for a small number of experiments. Ukr. biokhim. jurn. 1975; 47(36):776-791 (in Russian).
 13. Demyanenko S.A., Pustovoyt P.I., Tokar E.A. [i dr.]. Biochemical markers of inflammation and dysbiosis in saliva and serum of patients with cholecystitis after treatment.

Visnyk stomatologiy. 2012;1(78):20-22 (in Russian).

Резюме

ВПЛИВ ЛІКУВАЛЬНО-ПРОФІЛАКТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ВМІСТ ТРИГЛІЦЕРИДІВ В ПЕЧІНЦІ І СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ, ЯКІ ОТРИМУВАЛИ ВИСОКОЖИРОВИЙ РАЦІОН НА ТЛІ ДИСБІОЗУ ТА ІМУНОДЕФІЦИТУ

Гоженко А.І., Левицький А.П., Левченко О.М., Ткачук В.В.

При моделюванні у щурів імунодефіциту (за допомогою цитостатика циклофосфана) і дисбіоза (за допомогою лінкоміцину) на тлі високожирового раціону встановлено підвищення вмісту тригліцеридів (ТГ) в печінці, а також вмісту ТГ, холестерину і рівня печінкових маркерів (білірубін, АЛТ і лужна фосфатаза) в сироватці крові. Введення антидисбіотичних препаратів (квертулін, квертгін і лізоцим) знижувало вміст ТГ в печінці, а також рівень ТГ, холестерину і печінкових маркерів в сироватці крові.

Ключові слова: дисбіоз, імунодефіцит, високожировий раціон, печінка, тригліцериди, холестерин, печінкові маркери.

Summary

INFLUENCE OF THERAPEUTIC AND PREVENTIVE AGENTS ON TRIGLYCERIDE CONTENT IN LIVER AND BLOOD SERUM OF RATS TREATED WITH HIGH FAT DIET ON THE BACKGROUND OF DYSBIOSIS AND IMMUNODEFICIENCY

Gozhenko A.I., Levitsky A.P., Levchenko E.M., Tkachuk V.V.

In recent years there appeared data about close pathogenic connection of obesity with dysbiotic changes in organism. As is well known, the development of dysbiosis a large extent due to the presence in the body of immunodeficiency.

The aim of our study was to investigate the effect on triglyceride content in the liver and in the blood serum of a number of new therapeutic and prophylactic agents with anti dysbiotic action. Such agents including kvertulin,

lysozyme in gelatin and kvvertgial.

In work were used the following materials: quercetin; inulin made of chicory roots, calcium citrate; hyaluronic acid; lysozyme, of which was prepared the following drugs: In work were used the following materials: quercetin; inulin made of chicory roots, calcium citrate; hyaluronic acid; lysozyme, which was prepared from the following formulations: "Kvertulin", "Kvertgial", "Lysozyme in gelatin." In experiments were used 35 Vistar line white rats. Dysbiosis was induced by antibiotic lincomycin. Immunodeficiency created by of cytostatic intraperitoneal injection cyclophosphamide. High fat diet (HFD) was prepared by adding 15 % of unrefined sunflower oil to the mixed fodder. Duration of experiment was 21 days. Therapeutic drugs started to be entered from the first day of the experiment. Mortification of animals was performed using thiopental anesthesia (20 mg / kg) at day 22 by total exsanguination from the heart. Prepared blood serum and liver part were excised, that was stored before the test at -30 ° C.

In liver homogenate was determined the contents of triglycerides (TG) and in blood serum except TG were determined cholesterol, bilirubin, ALT and alkaline phosphatase (ALP).

In pathological liver significantly were increased fat content, which is significantly reduced under the influence of anti disbiotic drugs we tested, but the greatest

degree (up to norm) — under the influence of Kvertulina. In the blood serum of rats with triple pathology significantly increase the content TG and cholesterol. Under the influence of anti disbiotic drugs TG content decreases slightly, whereas cholesterol was significantly reduced to near normal.

Determination of hepatic markers in blood serum (bilirubin, ALT and alkaline phosphatase) showed a significant increase their level, indicating the development of hepatitis (steatohepatitis). Under the influence of anti disbiotic drugs, such as lysozyme and kvvertulin was significantly reduced bilirubin level and ALT (almost back to normal), and alkaline phosphatase activity only tends to decrease.

HFD on the background of dysbiosis and immunodeficiency causes the development of gepatosteatos and steatohepatitis, which is accompanied by hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia. Anti disbiotic drugs, especially kvvertulin containing hepatic protector quercetin, prebiotic inulin and calcium citrate has a pronounced therapeutic and preventive action, not only eliminating the hepatic steatosis, but also eliminating steatohepatitis.

Key words: *dysbiosis, immunodeficiency, high fat diet, liver, triglycerides, cholesterol, liver function markers.*

*Впервые поступила в редакцию 03.02.2014 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*