

УДК 616.33:342.092

ПРОФИЛАКТИКА ПЕЧЕНОЧНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ АНТИХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ТЕРАПИИ С ПОМОЩЬЮ ОРАЛЬНОГО АНТИДИСБИОТИЧЕСКОГО ГЕЛЯ

Шухтина И.Н.

ГУ «Украинский НИИ медицины транспорта МЗУ» (г. Одесса)
irinashyhtina@mail.ru

Цель: определить гепатопротекторные свойства при АХБТ препарата квертулидон, содержащего кверцетин, инулин, имудон и цитрат кальция.

Материалы и методы: АХБТ у крыс осуществляли путем введения *per os* омепразола (1,3 мг/кг), амоксила (50 мг/кг) и кларитромицина (7,5 мг/кг) в течение 8 дней. Опытная группа дополнительно получала оральные аппликации геля «Квертулидон» в течение 11 дней. Умерщвление крыс осуществляли на 12-й день. В крови определяли лейкоцитарную формулу, в сыворотке крыс – АЛТ, ЩФ, уреазу, лизоцим. В печени определяли МДА, эластазу, ЩФ, уреазу, лизоцим, каталазу. Рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому и индекс АПИ.

Результаты: АХБТ снижает уровень неспецифического иммунитета (активность лизоцима и лимфоцитарный индекс), вызывает развитие в печени дисбиоза и гепатита. Введение квертулидона усиливает иммунитет, оказывает антидисбиотическое и гепатопротекторное действие.

Ключевые слова: антихеликобактерная терапия, печень, квертулидон, дисбиоз

Введение

При антихеликобактерной терапии (АХБТ) нередко развиваются воспалительно-дистрофические процессы в печени [1-5]. В механизме этих печеночных нарушений существенную роль играют явления дисбиоза, возникающие вследствие иммунодефицита и проявляющиеся системной эндотоксинемией [6].

Ранее нами было показано гепатопротекторная эффективность антидисбиотического препарата квертулин, содержащего кверцетин, инулин и цитрат кальция, при экспериментальной АХБТ [7].

Целью настоящего исследования стало определение гепатопротекторных свойств нового антидисбиотического средства квертулидон, содержащего квертулин и иммуностимулятор имудон [8].

Материалы и методы исследования

В работе было использовано 30 белых крыс линии Вистар (самки, 10

месяцев, 300 ± 12 г), распределенных в 3 равные группы: 1-ая (контроль, норма), 2-ая и 3-я группы получали в течение 8 дней ежедневно *per os* АХБТ (омепразол 1,3 мг/кг, амоксил 50 мг/кг и кларитромицин 7,5 мг/кг). Крысы 3-й группы с первого дня опыта получали аппликации на СОПР мукозо-адгезивного фитогеля «Квертулидон» в дозе 0,5 мг/крысу в течение 11 дней. Крыс умерщвляли на 12 день под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

В крови определяли содержание лейкоцитов, лейкоцитарную формулу и рассчитывали лимфоцитарный индекс (ЛИ), представляющий собой отношение количества лимфоцитов к количеству нейтрофилов [9]. В сыворотке крови определяли активности аланинтрансаминазы (АЛТ) [10], щелочной фосфатазы (ЩФ) [11], уреазы [12] и лизоцима [13].

В гомогенатах печени (50 мг/мл 0,05 М трис-НСI буфера рН 7,5) опреде-

ляли уровень биохимических маркеров воспаления [14]: содержание малонового диальдегида (МДА) и активность эластазы, активность уреазы (показатель микробного обсеменения) [12], лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) бактериолитическим методом [13], антиоксидантного фермента каталазы [14] и ЩФ [11]. По соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима рассчитывали степень дисбиоза по Левицкому [12], а по соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-проксидантный индекс АПИ [14].

Статистическую обработку результатов опытов осуществляли в соответствии с рекомендациями [15], определяя средние величины (M), ошибку средней

величины ($\pm m$) и достоверность различий между средними по t -критерию Стьюдента, принимая за достоверное значение $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты определения цитологических показателей крови крыс, получавших АХБТ и квертулидон. Из этих данных видно, что хотя абсолютное содержание лейкоцитов в крови мало изменяется при АХБТ и после оральных аппликаций геля «Квертулидон», однако существенно изменяется соотношение нейтрофилов и моноцитов. Так, доля нейтрофилов снижается в 2 раза, тогда как доля лимфоцитов возрастает в 1,5 раза. В конечном итоге это приводит к 3-кратному увеличению лимфоцитарного индекса ЛИ и свидетельствует об ослаблении неспецифического иммунитета, который в значительной степени обеспечивают фагоциты.

Аппликации фитогеля достоверно повышают долю нейтрофилов и достоверно снижают долю лимфоцитов и, как следствие, в 1,4 раза снижают индекс ЛИ. Надо также отметить, что квертулидон нормализует сниженный при АХБТ уровень моноцитов, являющихся предшественниками фагоцитов.

В таблице 2 представлены результаты определения активности некоторых ферментов в сыворотке крови

Таблица 1

Лейкоцитоз и лейкоцитарная формула крови крыс, получавших АХБТ и квертулидон ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	Группы		
	1. Контроль	2. АХБТ	3. АХБТ+Квертулидон
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	$13,3 \pm 0,3$	$14,0 \pm 0,3$ $p > 0,05$	$14,9 \pm 0,8$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$
Нейтрофилы (Н), %	$42,4 \pm 1,4$	$21,0 \pm 0,9$ $p < 0,01$	$25,8 \pm 1,9$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$
Лимфоциты (Л), %	$45,2 \pm 1,6$	$66 \pm 2,8$ $p < 0,01$	$58,6 \pm 1,3$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$
Моноциты, %	$8,8 \pm 0,5$	$6,2 \pm 0,9$ $p < 0,05$	$7,4 \pm 0,9$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$
Лимфоцитарный индекс (Л/Н)	$1,07 \pm 0,05$	$3,14 \pm 0,09$ $p < 0,001$	$2,27 \pm 0,11$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$

Примечания: p – по сравнению с гр. № 1; p_1 – по сравнению с гр. № 2.

Таблица 2

Активность ферментов в сыворотке крови крыс, получавших АХБТ и квертулидон ($M \pm m$, $n = 10$)

Показатели	Группы		
	1. Контроль	2. АХБТ	3. АХБТ+Квертулидон
Активность уреазы, мк-кат/л	$0,04 \pm 0,01$	$0,13 \pm 0,02$ $p < 0,01$	$0,06 \pm 0,02$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Активность лизоцима, ед/л	131 ± 8	107 ± 4 $p < 0,05$	132 ± 5 $p > 0,8$ $p_1 < 0,05$
Активность АЛТ, мк-кат/л	$0,38 \pm 0,03$	$0,57 \pm 0,04$ $p < 0,05$	$0,44 \pm 0,04$ $p > 0,1$ $p_1 < 0,05$
Активность ЩФ, мк-кат/л	$0,91 \pm 0,08$	$1,45 \pm 0,12$ $p < 0,01$	$1,26 \pm 0,10$ $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примечания: p – по сравнению с гр. № 1; p_1 – по сравнению с гр. № 2.

Таблица 3

Биохимические показатели печени крыс, получавших АХБТ и квертулидон ($M \pm m, n = 10$)

Показатели	Группы		
	1. Контроль	2. АХБТ	3. АХБТ+Квертулидон
Содержание МДА, ммоль/кг	20,7 ± 3,0	33,9 ± 3,1 $p < 0,05$	30,2 ± 2,9 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$
Активность эластазы, мкат/кг	0,25 ± 0,01	0,31 ± 0,02 $p < 0,05$	0,25 ± 0,01 $p = 1,0$ $p_1 < 0,05$
Активность ЩФ, мк-кат/кг	5,16 ± 0,42	6,56 ± 0,50 $p < 0,05$	5,79 ± 0,44 $p > 0,3$ $p_1 > 0,2$
Активность уреазы, мк-кат/кг	0,21 ± 0,02	0,32 ± 0,02 $p < 0,01$	0,24 ± 0,02 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$
Активность лизоцима, ед/кг	104 ± 12	41 ± 8 $p < 0,01$	53 ± 9 $p < 0,01$ $p_1 > 0,3$
Активность каталазы, мкат/кг	6,33 ± 0,08	6,26 ± 0,06 $p > 0,3$	6,32 ± 0,35 $p > 0,9$ $p_1 > 0,5$

Примечания: p – по сравнению с гр. № 1; p_1 – по сравнению с гр. № 2.

крыс, получавших АХБТ и гель «Квертулидон». Из этих данных видно, что после АХБТ более чем в 3 раза возрастает активность уреазы, свидетельствующая об увеличении микробной обсеменённости крови (бактериемия). Аппликации геля «Квертулидон» снижают активность уреазы более чем в 2 раза. Напротив, активность лизоцима сыворотки крови, достоверно сниженная после АХБТ, под действием квертулидона возвращается к норме. У крыс, получавших АХБТ, достоверно возрастает активность «печеночных» маркеров – АЛТ и ЩФ, что может свидетельствовать о возможном развитии гепатита и холестаза. Квертулидон снижает уровень «печеночных» маркеров, однако достоверно лишь активность АЛТ (табл. 2).

В таблице 3 приведены результаты определения ряда биохимических показателей в печени крыс, получавших АХБТ и квертулидон. Видно, что после АХБТ достоверно возрастает уровень обоих маркеров воспаления: содержание МДА и активность эластазы. Аппликации геля «Квертулидон» снижают уровень изучаемых показателей, однако достоверно лишь активность эластазы. У крыс, получавших АХБТ, в печени также достоверно возрастает активность ЩФ, свидетельствующая о холестазах, и в 1,5 раза увеличивается активность уреазы, что говорит о росте микробной обсеменённости органа. Напротив, активность лизоцима в печени крыс после АХБТ снижается в 2,5 раза. Применение квертулидона снижает повышенные уровни активности ЩФ и уреазы и мало влияет на активность лизоцима. Что же касается

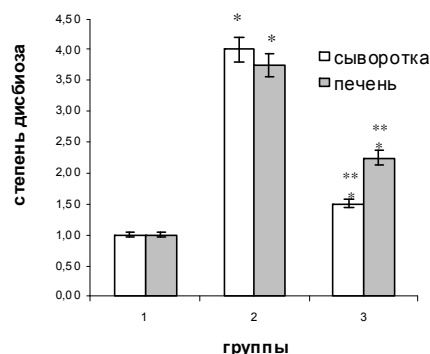


Рис. 1. Степень дисбиоза у крыс, получавших АХБТ и квертулидон (1 – норма, 2 – АХБТ, 3 – АХБТ + квертулидон)
* - $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1;
** - $p < 0,05$ в сравнении с гр. 2

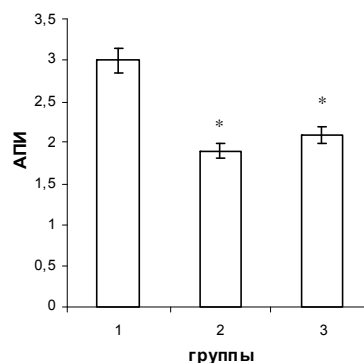


Рис. 2. Индекс АПИ в печени крыс, получавших АХБТ и квертулидон (1 – норма, 2 – АХБТ, 3 – АХБТ + квертулидон)
* - $p < 0,05$ в сравнении с гр. 1

активности антиоксидантного фермента каталазы, то она не изменяется ни после АХБТ, ни после аппликаций квертулидона (табл. 3).

На рис. 1 показаны результаты определения степени дисбиоза по Левицкому, из которых видно, что АХБТ значительно (почти в 4 раза) увеличивает степень дисбиоза и в сыворотке крови и в печени. Оральные аппликации фитогеля достоверно снижают степень дисбиоза, однако не возвращают её к норме. Возможно, для полной нормализации этого показателя необходима либо большая дозировка препарата, либо более продолжительное лечение.

На рис. 2 приведены изменения антиоксидантно-прооксидантного индекса АПИ в печени, отражающего баланс процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Видно, что применение АХБТ приводит к достоверному снижению индекса АПИ, а оральные аппликации квертулидона способствуют тенденции к повышению этого индекса.

Таким образом, проведенные нами исследования ещё раз подтвердили развитие осложнений после АХБТ, состоящие в нарушении функционального состояния печени и возникновении системной эндотоксинемии. В основе этих нарушений может лежать изменения антимикробной функции печени [16], что проявляется развитием дисбиоза как в печени, так и в крови. Причиной развития дисбиоза, по всей видимости, может быть возникающий после АХБТ иммунодефицит, главным образом, за счёт снижения уровня неспецифического иммунитета, о чём свидетельствует снижение доли фагоцитов и активности лизоцима.

Положительное действие квертулидона на фоне АХБТ возможно объясняется его иммуностимулирующими и пребиотическими свойствами. Эти данные дают основание для проведения клинических исследований лечебно-профилактического действия оральных апплика-

ций квертулидона у пациентов, получающих АХБТ, с целью предотвращения негативных последствий этой терапии.

Выводы

1. Антихелибактерная терапия снижает неспецифический иммунитет и вызывает развитие дисбиоза, системной эндотоксинемии и гепатита.
2. Оральные аппликации геля «Квертулидон», содержащего квертулин, инулин, имудон и цитрат кальция, усиливают неспецифический иммунитет и оказывают антидисбиотическое и гепатопротекторное действие.

Литература

1. Циммерман Я. С. Helicobacter pylori-инфекция: внежелудочные эффекты и заболевания (критический анализ) / Я. С. Циммерман // Клиническая медицина. – 2006. – № 4. – С. 63-67.
2. Підгірний В. В. Гепатотоксичні прояви лапсопризолу, метронідазолу і кларитроміцину в експерименті / В. В. Підгірний / / Медична хімія. – 2007. – Т.9, № 2. – С. 74-77.
3. Исаева Г. Ш. Возможное участие бактерий рода Helicobacter в патогенезе гепатобилиарных заболеваний / Г. Ш. Исаева // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2008. – № 4. – С. 14-22.
4. Disturbance of apoptosis and DNA synthesis by Helicobacter pylori infection of hepatocytes / K. Ito, Y. Yamaoka, B. Yoffe, D.Y. Graham // Dig. Diseases and Sci. – 2008. – V.53, N 9. – P. 2532-2540.
5. Adherence, internationalization and persistence of Helicobacter pylori in hepatocytes / K. Ito, Y. Yamaoka, H. Ota [et al.] // Dig. Diseases and Sci. – 2008. – V.53, N 9. – P. 2541-2549.
6. Томилина Т. В. Кверцетин повышает неспецифический иммунитет и снижает дисбиоз и воспаление в пародонте крыс, получавших антихеликобактерную терапию / Т.В. Томилина // Вісник стоматології. – 2015. – № 1 (90). – С. 24-27.
7. Успенский О.Е. Экспериментальная профилактика с помощью кверцетинсодержащих оральных гелей дисбиотических осложнений у крыс, получавших антихеликобактерную терапию / О. Е. Успенский, И.Н. Шухтина // Вісник морської медицини. – 2015. – № 1 (66). – С. 76-

- 82.
8. Успенский О.Е. Снижение неспецифического иммунитета и повышение дисбиоза и воспаления в слизистой оболочке полости рта крыс, получавших антихеликобактерную терапию, и их нормализация под влиянием кверцетина / О. Е. Успенский, К.В. Скидан // Вісник стоматології. – 2015. – № 1 (90). – С. 21-24.
 9. Гаркави Л.Х. Адаптационные реакции и резистентность организма / Л.Х. Гаркави, Е.Б. Квакина. – Ростов н/Д: Ростовс. университет, 1990. – 207 с.
 10. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский – изд. 3-ье. – Одесса: Экология, 2005. – 616 с.
 11. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.] – К.: ГФЦ, 2005. – 50 с.
 12. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, И. А. Селиванская [и др.]. – К.: ГФЦ, 2007. – 22 с.
 13. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса: КП ОГТ, 2005. – 74 с.
 14. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.] – Одесса, 2010. – 16 с.
 15. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ «Статистика» / О. Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера, 2002.
 16. Левицкий А. П. Антимикробная функция печени / А. П. Левицкий, С. А. Демьяненко, Ю. В. Цисельский. – Одесса: КП ОГТ, 2011. – 141 с.
- References**
1. Zimmerman Y.S. Helicobacter pylori-infection: vnezheludochnye effects and disease (critical analysis) / Y.S. Zimmerman // Clinical Medicine. - 2006. - № 4. - pp 63-67.
 2. Podgorny V.V. Hepatotoxic manifestations of lansoprazole, clarithromycin and metronidazole experiment / V. V. Podgorny // Medical chemistry. - 2007. - Vol.9, № 2. - P. 74-77.
 3. Isayeva G. Sh Possible involvement of bacteria of the genus Helicobacter in the pathogenesis of hepatobiliary diseases / G. S. Isaeva // Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. - 2008. - № 4. - pp 14-22.
 4. Disturbance of apoptosis and DNA synthesis by Helicobacter pylori infection of hepatocytes / K. Ito, Y. Yamaoka, B. Yoffe, D.Y. Graham // Dig. Diseases and Sci. – 2008. – V.53, N 9. – P. 2532-2540.
 5. Adherence, internationalization and persistence of Helicobacter pylori in hepatocytes / K. Ito, Y. Yamaoka, H. Ota [et al.] // Dig. Diseases and Sci. – 2008. – V.53, N 9. – P. 2541-2549.
 6. Tomilina T.V. Quercetin increases the non-specific immunity and reduces the dysbiosis and inflammation in periodontitis rats treated with H. pylori therapy / T.V. Tomilina // Herald of dentistry. - 2015. - № 1 (90). - S. 24-27.
 7. Uspensky O.E. The experimental prevention using oral gels dysbiotic kvvertsetinsoderzhaschih complications in rats treated with H. pylori therapy / O.E. Uspensky, I.N. Shuhtina // Bulletin of Marine Medicine. - 2015. - № 1 (66). - S. 76-82.
 8. Uspensky O.E. Reduced non-specific immunity and increasing dysbiosis and inflammation in the oral mucosa of rats treated with H. pylori therapy, and normalization under the influence of quercetin / O.E. Uspensky, K.V. Skidan // Herald of dentistry. - 2015. - № 1 (90). - S. 21-24.
 9. Garkavi L.H. Adaptable reactions and resistance of the body / L.H. Garkavi, E.B. Kvakina. - Rostov-on-Don, Rostov University, 1990. - 207 p.
 10. Goryachkovsky AM. Clinical Biochemistry in laboratory diagnostics / A.M. Goryachkovsky - Edition 3 - Odessa: Ecology, 2005. - 616 p.
 11. Experimental methods for studying bone formation stimulants: method. Recommendations / A.P. Levitsky, O.A. Makarenko O.V. Denga [et al.] - K.: GFC, 2005. - 50 s.
 12. The enzymatic method for the determination of dysbiosis oral screening for pro- and prebiotics: a method. Recommendations / A.P. Levitsky, O.A. Makarenko, I.A. Selivanskaya [et al.]. - K.: GFC, 2007. - 22 p.
 13. Levitsky AP. Lysozyme instead of antibiotics / A.P. Levitsky. - Odessa: manual KP OGТ, 2005. - 74 p.
 14. Biochemical markers of inflammation of

the oral tissues: method. Recommendations / A.P. Levitsky, O.V. Denga, O.A. Makarenko [et al.] - Odessa, 2010. - 16 p.

15. Rebrov O. Statistical analysis of medical data. The use of the application package "Statistics" / O. Rebrov. - M.: Media Sphere, 2002.
16. Levitsky A.P. Antimicrobial liver function / A.P. Levitsky, S. Demyanenko, Y.V. Tsiselsky. - Odessa: KP OGT, 2011. - 141 p.

Резюме

ПРОФІЛАКТИКА ПЕЧІНКОВИХ УСКЛАДНЕНЬ ПРИ АНТИХЕЛІКОБАКТЕРНІЙ ТЕРАПІЇ ЗА ДОПОМОГОЮ ОРАЛЬНОГО АНТИДИСБІОТИЧНОГО ГЕЛЮ

Шухтіна І. М.

Мета: визначити гепатопротекторні властивості при АХБТ препарату квертулідон, що містить кверцетин, інулін, имудон і цитрат кальцію.

Матеріали і методи: АХБТ у щурів здійснювали шляхом введення per os омепразолу (1,3 мг / кг), Амоксициліну (50 мг / кг) і кларитроміцину (7,5 мг / кг) протягом 8 днів. Дослідна група додатково отримувала оральні аплікації гелю «Квертулідон» протягом 11 днів. Умертвіння щурів здійснювали на 12-й день. У крові визначали лейкоцитарну формулу, в сироватці щурів - АЛТ, ЩФ, уреазу, лізоцим. У печінці визначали МДА, еластазу, ЩФ, уреазу, лізоцим, каталазу. Розраховували ступінь дисбіозу по Левицькому та індекс АПІ.

Результати: АХБТ знижує рівень неспецифічного імунітету (активність лізоциму та лімфоцитарний індекс), викликає розвиток в печінці дисбіозу і гепатиту. Введення квертулідона підсилює імунітет, має антидисбіотичну та гепатопротекторну дію.

Ключові слова: антихелікобактерна терапія, печінка, квертулідон, дисбіоз.

Summary

PROPHYLAXIS OF HEPATIC COMPLICATIONS AT ANTIHELICOBACTER THERAPY WITH ORAL ANTIDYSBIOTIC GEL

Shukhtina I. N.

Objective: to determine hepatoprotective properties of *cvertulidon* at antihelicobacter therapy (AHBT). The preparation mentioned contains *cverticyn*, *inulin*, *imudon* and *calcium citrate*.

Materials and methods: In rats AHBT was simulated by per os administration of *omeprazol* (1,3 mg/kg), *amoxil* (50 mg/kg) and *clarytromicine* (7,5 mg/kg) during 8 days. Experimental group additionally got oral applications of «*Cvertulidon*» gel during 11 days. Mortification of rats was done at the 12th day. In the blood they determined leukogram, in the serum - PHO, ALT, urease, lysozyme. In liver they determined MDA, elastaza, PHO, urease, lysozyme, catalase. The degree of dysbiosis has been calculated by Levitsky's method, and index of API.

Results: AHBT decrease the level of non-specific immunity (lysozyme' activity and lymphocytic index), causes hepatic dysbiosis development and hepatitis. Injection of *Cvertulidon* intensifies immunity, has antibiotic and hepatoprotective action.

Key words: *antihelicobacter therapy*, *liver*, *cvertulidon*, *dysbiosis*.

Впервые поступила в редакцию 26.08.2015 г.
Рекомендована к печати на заседании
редакционной коллегии после рецензирования