

УДК 616.33:342.092

**И.Н. Шухтина<sup>1</sup>,****В.Л. Васюк<sup>2</sup>,****Л.М. Бобрик<sup>3</sup>**

1ГУ "Украинский НИИ медицины  
транспорта МЗУ (г.Одесса),  
2Буковинский государственный  
медицинский университет (г.Черновцы),  
3 КУ "Одесский областной медицинский  
центр" (г.Одесса)

## ВЛИЯНИЕ АНТИХЕЛИКОБАКТЕРНОЙ ТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ У КРЫС

**Ключевые слова:**

антихеликобактерная терапия,  
печень, сыворотка, дис-биоз,  
воспаление.

*Цель: определить состояние печени после АХБТ.*

*Методы исследования: крысы, получали в течение 8 дней ежедневно per os омепразол (1,3 мг/кг), амоксил (50 мг/кг) и кларитромицин (7,5 мг/кг). Эвтаназия на 12-й день. В крови определяли лейкоциты, в сыворотке АЛТ, ЩФ, МДА, эластазу, лизоцим и каталазу, в печени МДА, эластазу, ЩФ, каталазу, лизоцим и уреазу. По соотношению каталазы и МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ, а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима - степень дисбиоза.*

*Результаты: после АХБТ развивается дисбиоз в печени, в крови, гепатит, снижается уровень неспецифического иммунитета и повышается уровень специфического.*

*Заключение: АХБТ требует проведения антидисбиотической и гепатопротекторной терапии.*

**Вступление**

Антихеликобактерная терапия (АХБТ) в настоящее время является стандартом лечения хронического гастрита и язвенной болезни, ассоциированных с *Helicobacter pylori* [1-4].

АХБТ предусматривает использование ингибиторов протонной формы (ИПП) для подавления кислотной секреции желудочными железами [5, 6], а также 2-3 antimicrobных средства (антибиотики, метронидазол, соли висмута) [6, 7].

Негативными последствиями такого лечения является значительное снижение бактерицидной активности желудочного сока, зависящей от его кислотности [8], и развитие кишечного дисбиоза, обусловленного подавлением нормальной (пробиотической) микрофлоры antimicrobными средствами [9]. В результате чего может возникнуть дисбиоз, от которого, в первую очередь, страдает печень [10].

**Цель исследования**

Определить состояния печени у крыс, получавших стандартный АХБТ.

**Материалы и методы**

Эксперименты были проведены на 20 крысах линии Вистар (самки, 10 месяцев, средняя живая

масса 300 г), распределенных в 2 группы: 1-ая - контроль (норма), интактные животные, получавшие стандартный рацион вивария (полнорационный комбикорм), и 2-ая (опытная), получавшая per os ежедневно смесь из следующих препаратов: омепразола ("Фармак", Киев) в дозе 1,3 мг/кг, амоксила ("Киевмедпрепарат", Киев) в дозе 50 мг/кг и кларитромицина ("Киевмедпрепарат") в дозе 7,5 мг/кг в течение 8 дней.

Эвтаназию животных осуществляли на 12-й день опыта под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца.

В цельной крови определяли содержание лейкоцитов, долю нейтрофилов и лимфоцитов [11] и рассчитывали показатель иммунодефицита по соотношению лимфоциты/нейтрофилы.

В сыворотке крови определяли уровень "печеночных" маркеров (активность аланин-трансаминазы (АЛТ) [12] и щелочной фосфатазы (ЩФ) [13]), уровень маркеров воспаления [13]: содержание малонового диальдегида (МДА) [14] и активность эластазы [15], а также активность двух защитных ферментов: лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) [16] и каталазы (антиоксидантный фермент) [17].

В гомогенате печени (50 мг/мл 0,05 М трис-НСI буфера) определяли содержание МДА, активность эластазы, ЩФ, каталазы, лизоцима и

уреазы (показатель микробного обсеменения) [18].

По соотношению активности каталазы и содержания МДА рассчитывали антиоксидантно-прооксидантный индекс АПИ [13], а по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима - степень дисбиоза по Левицкому [19].

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли в соответствии с рекомендациями [20] и представляли в виде средней величины (M) и ошибки средней величины ( $\pm m$ ). Достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Обсуждение результатов исследования

В таблице 1 представлены результаты определения содержания лейкоцитов, нейтрофилов и лимфоцитов в крови крыс, получавших АХБТ. Из этих данных видно, что АХБТ в 2 раза снижает долю нейтрофилов (определяющих степень воспалительной реакции) и в 1,5 раза увеличивает долю лимфоцитов (отражающих степень специфического иммунного ответа). В результате этого соотношение лимфоциты/нейтрофилы увеличивается более чем в 3 раза, что свидетельствует о повышенном уровне иммунного ответа в

результате АХБТ.

В таблице 2 представлены результаты определения биохимических показателей сыворотки крови. Как видно из этих данных, у крыс, получавших АХБТ, достоверно повышается активность АЛТ и ЩФ, что свидетельствует о гепатоллизе и холестазае. Повышается достоверно и уровень маркеров воспаления эластазы и МДА, однако активность лизоцима (показатель неспецифического иммунитета) снижается на 18,3 %.

В таблице 3 представлены результаты определения биохимических показателей печени крыс, получавших АХБТ. Из этих данных видно, что АХБТ повышает в печени уровень маркеров воспаления: МДА на 63,8 % и эластазы на 24 %. Достоверно возрастает и активность ЩФ (показатель холестаза) - на 27,1 %. Активность уреазы, отражающей степень микробной обсемененности, увеличивается после АХБТ на 52,4 %, тогда как активность лизоцима снижается на 60,6 %.

Как следствие этого, степень дисбиоза после АХБТ в печени возрастает в 3,9 раза, а в сыворотке крови - в 8 раз (рис. 1). Напротив, индекс

Таблица 1

Влияние антихеликобактерной терапии (АХБТ) на уровень лейкоцитов в крови крыс ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

| Показатели           | Контроль (норма) | АХБТ                          |
|----------------------|------------------|-------------------------------|
| Лейкоциты, г/л       | 13,3 $\pm$ 0,3   | 14,0 $\pm$ 0,3<br>$p > 0,05$  |
| Нейтрофилы, %        | 42,4 $\pm$ 1,0   | 21,0 $\pm$ 0,9<br>$p < 0,001$ |
| Лимфоциты, %         | 45,2 $\pm$ 1,6   | 66,0 $\pm$ 2,8<br>$p < 0,01$  |
| Лимфоциты/Нейтрофилы | 1,07 $\pm$ 0,05  | 3,14 $\pm$ 0,09<br>$p < 0,01$ |

Примечание: в этой и следующих таблицах:  $p$  – в сравнении с нормой

Таблица 2

Влияние АХБТ на биохимические показатели сыворотки крови крыс ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )

| Показатели         | Контроль (норма) | АХБТ                          |
|--------------------|------------------|-------------------------------|
| АЛТ, мк-кат/л      | 0,38 $\pm$ 0,03  | 0,57 $\pm$ 0,04<br>$p < 0,05$ |
| ЩФ, мк-кат/л       | 0,91 $\pm$ 0,08  | 1,45 $\pm$ 0,12<br>$p < 0,05$ |
| МДА, ммоль/л       | 0,56 $\pm$ 0,03  | 0,69 $\pm$ 0,03<br>$p < 0,05$ |
| Эластаза, мк-кат/л | 141,5 $\pm$ 8,8  | 177,2 $\pm$ 5,6<br>$p < 0,05$ |
| Лизоцим, ед/л      | 131 $\pm$ 8      | 107 $\pm$ 4<br>$p < 0,05$     |
| Каталаза, мкат/л   | 0,27 $\pm$ 0,01  | 0,25 $\pm$ 0,01<br>$p > 0,05$ |

Таблица 3

## Влияние АХБТ на биохимические показатели печени крыс (M±m, n=10)

| Показатели        | Контроль (норма) | АХБТ                |
|-------------------|------------------|---------------------|
| МДА, ммоль/кг     | 20,7±3,0         | 33,9±3,1<br>p<0,05  |
| Эластаза, мкат/кг | 0,25±0,01        | 0,31±0,02<br>p<0,05 |
| ЩФ, мк-кат/кг     | 5,16±0,42        | 6,56±0,50<br>p<0,05 |
| Уреаза, мк-кат/кг | 0,21±0,02        | 0,32±0,02<br>p<0,01 |
| Лизоцим, ед/кг    | 104±12           | 41±8<br>p<0,01      |
| Каталаза, мкат/кг | 6,33±0,08        | 6,26±0,06<br>p>0,3  |

АПИ, отражающий баланс антиоксидантных и прооксидантных систем, снизился в печени на 39,3 %, а в сыворотке - на 23,2 % (рис. 2).

Таким образом, АХБТ вызывает у крыс развитие дисбиоза, на фоне которого развивается

воспаление в печени и системное воспаление. Возможной причиной развития дисбиоза может быть существенное снижение уровня неспецифического иммунитета, показателем которого является активность лизоцима [16].

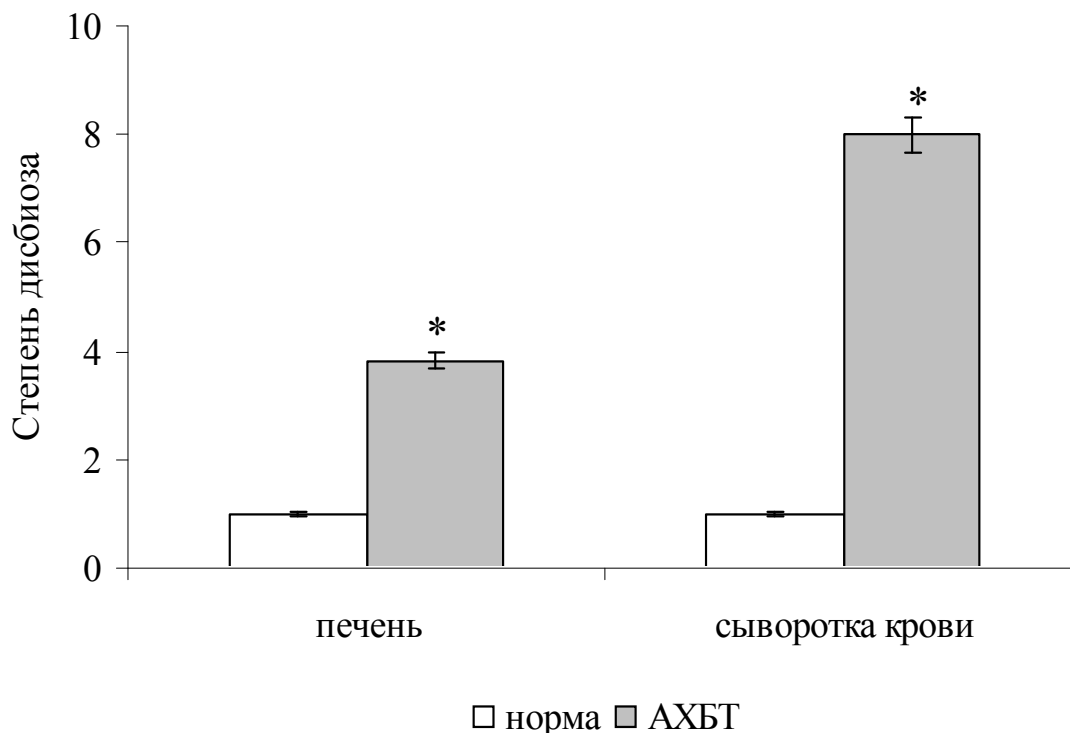
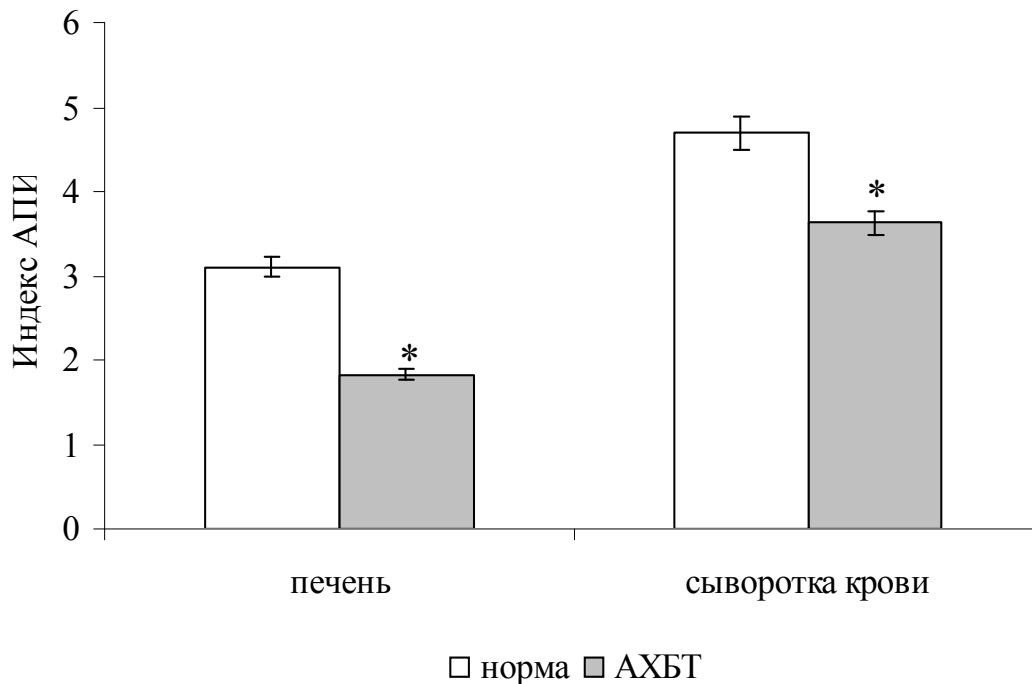


Рис. 1. Влияние АХБТ на степень дисбиоза в печени и в сыворотке крови крыс \*- p<0,05 в сравнении с нормой

В то же время уровень специфического иммунитета, показателем которого является содержание лимфоцитов, после АХБТ возрастает, что необходимо учитывать при назначении иммуномодулирующих средств пациентам с

язвенной болезнью, получающих АХБТ.

Наличие дисбиотических явлений у больных, получающих АХБТ, требует проведения антидисбиотической терапии с использованием препаратов про- и пребиотиков, а также стимуляторов неспецифического иммунитета [9].



**Рис. 2. Влияние АХБТ на индекс АПИ в печени и в сыворотке крови крыс \* -  $p < 0,05$  в сравнении с нормой**

#### Выводы

1. АХБТ вызывает развитие дисбиоза и, как следствие, системного воспаления и гепатита.
2. АХБТ стимулирует специфический иммунитет, однако угнетает неспецифический.
3. Пациенты, получающие АХБТ, нуждаются в проведении антидисбиотической терапии.

#### Перспективы дальнейших исследований

Будут продолжены поиски в разрабатываемом научном направлении.

**Литература.** 1. Pattison C. Ph. Helicobacter pylori and peptic ulcer disease: Evolution to revolution to resolution / C. Ph. Pattison, M. J. Combs, B. J. Marshall // Amer. J. Roentgenol. - 1997. - 168, № 6. - P. 1415-1420. 2. Гоженко А. I. Виразкова хвороба: етіологія і патогенез / А. I. Гоженко, А. О. Авраменко // Досягнення біології та медицини. - 2004. - № 1 (3). - С. 108-111. 3. Циммерман Я. С. Helicobacter рулогі-інфекція: внежелудочные эффекты и заболевания (критический анализ) / Я. С. Циммерман // Клиническая медицина. - 2006. - № 4. - С. 63-67. 4. Цодиков Г. В. Достижения и перспективы изучения Helicobacter pylori-инфекции / Г. В. Цодиков, А. М. Зякун, Е. В. Климова // Эпидемиология и инфекционные болезни. - 2011. - № 2. - С. 46-49. 5. Харченко Н. В. Сучасний підхід до проведення протигелікобактерної терапії у хворих на виразкову хворобу / Н. В. Харченко, М. А. Барчук // Журн. практ. лікаря. - 2001. - № 3. - С. 24-27. 6. Преимущества и недостатки современных стратегий лечения язвенной болезни / В. Г. Передерий, С. М. Ткач, О. В. Швец [и др.] / Фармакологический вестник. - 1999. - № 5. - С. 38-43. 7. Скрыпник И. Н. Обоснование комплексной терапии для лечения больных с пептической язвой и сопутствующими заболеваниями органов пищеварения / И. Н. Скрыпник // Укр. мед. часопис. - 2001. - № 5 (25). - С. 111-115. 8. Якименко Д. М. Кислотообразующая функция желудка при старении человека / Д. М. Якименко // Пробл. старения и долголетия. - 2000. - т. 9, № 2. - С. 105-112. 9. Левицкий

А. П. Пребиотики и проблема дисбактериоза / А. П. Левицкий, Ю. Л. Волянский, К. В. Скидан. - Харьков: ЭДЭНА, 2008. - 100 с. 10. 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. 11. Базарнова М. А. (ред.). Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч. 1 / М. А. Базарнова. - К.: Вища школа, 1981. - С. 55. 12. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский - изд. 3-ье. - Одесса: Экология, 2005. - 616 с. 13. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Деньга, О. А. Макаренко [и др.] - Одесса, 2010. - 16 с. 14. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. В кн.: Современные методы в биохимии / И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили. - М.: Медицина, 1977. - С. 66-68. 15. Левицкий А. П. Методы определения активности эластазы и ее ингибиторов: методические рекомендации / А. П. Левицкий, А. В. Стефанов. - К.: ГФЦ, 2002. - 15 с. 16. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. - Одесса: КП ОГТ, 2005. - 74 с. 17. Гири С. В. Модификация метода определения активности каталазы в биологических субстратах / С. В. Гири // Лабор. диагностика. - 1999. - № 4. - С. 45-46. 18. Гаврикова Л. М. Уреазная активность ротовой жидкости у больных с острой и хронической инфекцией челюстно-лицевой области / Л. М. Гаврикова, И. Т. Сегень // Стоматология. - 1996. - Спецвыпуск. - С. 49-50. 19. Патент на корисну модель Україна 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.]. - Опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15. 20. Лапач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - К.: Морион, 2000. - 320 с.

#### ВПЛИВ АНТИГЕЛІКОБАКТЕРНОЇ ТЕРАПІЇ НА СТАН ПЕЧІНКИ У ЩУРІВ

*І.М. Шухтіна, В.Л. Васюк, Л.М. Бобрік*

Мета: визначити стан печінки після АГБТ.

Методи дослідження: щурі, які отримували протягом 8

днів щодня per os омепразол (1,3 мг / кг), амоксил (50 мг / кг) і кларитроміцин (7,5 мг / кг). Евтаназія на 12-й день. У крові визначали лейкоцити, в сироватці АЛТ, ЛФ, МДА, еластазу, лізоцим і каталазу, у печінці МДА, еластазу, ЛФ, каталазу, лізоцим і уреазу. За співвідношенням каталази і МДА розраховували антиоксидантно-прооксидантний індекс АПІ, а за співвідношенням відносних активностей уреазу і лізоциму - ступінь дисбіозу.

Результати: після АГБТ розвивається дисбіоз у печінці, в крові, гепатит, знижується рівень неспецифічного імунітету і підвищується рівень специфічного.

Висновок: АГБТ вимагає проведення антидисбіотичної і гепатопротекторної терапії.

**Ключові слова:** антигелікобактерна терапії, печінка, сироватка, дисбіоз, запалення.

#### INFLUENCE OF ANTIHELICOBACTER THERAPY ON THE HEPATIC STATE IN RATS

*I.N.Shukhtina, V.L.Vasyuk, L.M.Bobrik*

Objective: To determine the state of liver after anti-helicobacter therapy.

Methods: rats were treated with Omeprazole (1.3 mg / kg)

Amoxil (50 mg / kg) and Clarithromycin (7.5 mg / kg) for 8 days per os daily. Euthanasia was effected on the 12th day. Leukocytes were determined in blood; ALT, alkaline phosphatase in serum, MDA, elastase, lysozyme, catalase; catalase, urease and lysozyme in liver - MDA, elastase, alkaline phosphatase. By the ratio of catalase and MDA antioxidant-prooxidant index IPA was calculated and by the ratio of the relative activities of urease and lysozyme - the degree of dysbiosis was determined.

Results: After antihelicobacter therapy dysbiosis develops in the liver, blood, hepatitis, the level of nonspecific immunity decreases and the level of specific immunity increases.

Conclusion: antihelicobacter therapy requires antidisbiotic and hepatoprotective therapy.

**Key words:** antihelicobacter therapy, liver, serum, dysbiosis, inflammation.

GU "Ukrainian SRI of Transport Medicine (Odessa)

Bukovyna State Medical University (Chernivtsi)

Odessa Regional Medical Center

*Clin. and experim. pathol. - 2015. - Vol.14, №1 (51). - P.200-204.*

*Надійшла до редакції 20.02.2015*

*Рецензент – проф. О.І. Федів*

*© И.Н. Шухтина, В.Л. Васюк, Л.М. Бобрик, 2015*