

УДК 616.31

## СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ КИШЕЧНОМ ДИСБИОЗЕ У КРЫС

**Ткачук В. В.**

*Одесский национальный медицинский университет; e-mail: flavan@mail.ru*

При кишечном дисбиозе, который вызывали у крыс с помощью линкомицина, в печени развивался дисбиоз и воспалительно-дистрофический процесс. Вследствие этого повышался уровень триглицеридов в печени (стеатоз) и в сыворотке крови (гиперлипидемия). Аналогичные изменения происходили и при оральных аппликациях геля с липополисахаридом.

**Ключевые слова:** дисбиоз, липополисахарид, печень, стетогепатит, гиперлипидемия.

### Введение

Дисбиоз представляет собой патологический синдром, состоящий в нарушении взаимоотношений макроорганизма с эндогенной микрофлорой [1-3].

Факторы, ведущие к нарушению нормальной микрофлоры многочисленны. Часто причинами дисбиоза могут являться антибиотикотерапия, иммунодефицитные состояния [5-8], алиментарные нарушения [9-11].

Ассоциированные с применением антибиотиков дисбиотические нарушения сопровождаются снижением колонизационной резистентности организма, угнетением иммунобиологической реактивности (не-специфической резистентности) организма [4].

При кишечном дисбиозе в результате размножения условно-патогенных бактерий, синтезирующих факторы патогенности, развивается эндотоксинемия. Особую опасность представляет кишечный эндотоксин или липополисахарид из стенки Грам-отрицательных бактерий [20].

**Целью** настоящего исследования стало определение влияния экспериментального дисбиоза и ЛПС на состояние печени и на липидный обмен.

### Материалы и методы исследования

Экспериментальный кишечный дисбиоз (ЭД) воспроизводили у крыс путем дачи с питьевой водой в течение 5 дней антибиотика линкомицина в дозе 60 мг/

кг. Степень дисбиоза оценивали по соотношению относительных активностей уреазы и лизоцима (метод Левицкого) [12]. В этом случае активность уреазы была показателем микробной обсемененности, поскольку этот фермент не вырабатывается соматическими клетками, однако большое число микробов его вырабатывает [13]. Лизоцим служил индикатором состояния неспецифического иммунитета [13].

Состояние печени оценивали по уровню в печени маркеров воспаления (МДА и эластазы) [14], а также по активности аланинтрансаминазы (АЛТ) в сыворотке крови [15].

Состояние липидного обмена оценивали по характеру изменения содержания в печени и сыворотке крови триглицеридов [16] и холестерина [17].

Для определения роли дисбиоза и ЛПС в патогенезе наблюдаемых нарушений, были исследованы вышеупомянутые показатели и у крыс, получавших липополисахарид. С этой целью в эксперименте было использовано 24 белых крыс линии Вистар (самцы, 8 месяцев, средняя живая масса  $200 \pm 12$  г), распределенных в 3 равных группы: 1-ая – контроль (норма); 2-ая – экспериментальный дисбиоз (ЭД) и 3-я – получала оральные аппликации геля ЛПС в дозе 200 мкг/кг ежедневно в течение 10 дней.

Умерщвление животных 3-й группы осуществляли на 12-й день опыта под

Таблица 1

**Сравнение действия дисбиоза и ЛПС на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в слизистой оболочке тонкой кишки крыс ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	Уреаза, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Контроль	0,85±0,10	220±23	1,00±0,15
2	Дисбиоз	1,50±0,13 $p < 0,01$	153±19 $p < 0,05$	2,56±0,27 $p < 0,01$
3	ЛПС	1,35±0,18 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	122±20 $p < 0,05$ $p_1 > 0,1$	2,89±0,31 $p < 0,01$ $p_1 > 0,3$

Примечание:  $p$  – в сравнении с гр. 1;  $p_1$  – в сравнении с гр. 2.

Таблица 2

**Сравнение действия дисбиоза и ЛПС на активность уреазы, лизоцима и степень дисбиоза в печени крыс ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	Уреаза, мк-кат/кг	Лизоцим, ед/кг	Степень дисбиоза
1	Контроль	0,22±0,04	53±12	1,00±0,15
2	Дисбиоз	0,30±0,02 $p < 0,05$	33±17 $p > 0,3$	2,19±0,20 $p < 0,01$
3	ЛПС	0,29±0,02 $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$	29±14 $p > 0,05$ $p_1 > 0,5$	2,45±0,41 $p < 0,01$ $p_1 > 0,3$

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 3

**Уровень АЛТ в сыворотке и маркеров воспаления (МДА и эластаза) в печени крыс с кишечным дисбиозом и получавших ЛПС ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	АЛТ, мк-кат/л	МДА, ммоль/кг	Эластаза, мк-кат/кг
1	Контроль	0,53±0,04	12,3±1,0	0,25±0,01
2	Дисбиоз	0,68±0,06 $p < 0,05$	21,9±2,3 $p < 0,01$	0,28±0,02 $p > 0,05$
3	ЛПС	0,60±0,05 $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$	13,4±1,0 $p > 0,3$ $p_1 < 0,01$	0,32±0,02 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 4

**Сравнение действия дисбиоза и ЛПС на содержание ТГ и холестерина в печени крыс ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	ТГ, ммоль/кг	Холестерин, ммоль/кг
1	Контроль	7,3±0,3	4,9±0,4
2	Дисбиоз	8,8±0,4 $p < 0,05$	5,5±0,3 $p > 0,05$
3	ЛПС	8,9±0,3 $p < 0,05$ $p_1 > 0,5$	5,8±0,4 $p > 0,05$ $p_1 > 0,3$

Примечание: см. табл. 1.

Таблица 5

**Сравнение действия дисбиоза и ЛПС на содержание ТГ и холестерина в сыворотке крови крыс ( $M \pm m$ ,  $n=8$ )**

№№ пп	Группы	ТГ, ммоль/л	Холестерин, ммоль/л
1	Контроль	0,16±0,01	0,92±0,04
2	Дисбиоз	0,28±0,02 $p < 0,01$	1,00±0,04 $p > 0,05$
3	ЛПС	0,28±0,03 $p < 0,01$ $p_1 = 1,0$	0,96±0,07 $p > 0,3$ $p_1 > 0,3$

Примечание: см. табл. 1.

тиопенталовым наркотиком (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца. Животных 1-й и 2-й групп умерщвляли на 21-й день аналогичным образом.

Результаты опытов подвергали статобработке [18].

### Результаты и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты определения в слизистой тонкой кишки активности уреазы, лизоцима и степени дисбиоза. Эти данные свидетельствуют об увеличении активности уреазы, снижении активности лизоцима и, как следствие, значительном увеличении степени дисбиоза.

В табл. 2 представлены результаты определения в печени активности уреазы, лизоцима и степени дисбиоза. Из этих данных видно, что при кишечном дисбиозе возрастает активность уреазы (показатель микробной обсемененности) и несколько снижается активность лизоцима (показатель неспецифической резистентности организма).

Аналогичные

изменения наблюдаются и в группе крыс, которым делали оральные аппликации липополисахарида (ЛПС), что дает основания считать патологические изменения при дисбиозе результатом действия ЛПС.

В табл. 3 представлены результаты определения в печени уровня биохимических маркеров воспаления: активность эластазы и содержание МДА и в сыворотке – активность АЛТ. Из этих данных следует, что повышение уровня маркеров свидетельствует о развитии воспалительно-дистрофических процессов в печени крыс с дисбиозом. Аналогичные процессы в печени происходят и у крыс, получавших аппликации ЛПС, однако при дисбиозе достоверно возрастает уровень МДА, а при действии ЛПС – уровень эластазы.

Полученные нами данные согласуются с результатами исследований других авторов, показавших развитие метаболических нарушений печени при кишечном дисбиозе [19, 21].

В табл. 4 представлены результаты определения содержания триглицеридов (ТГ) и холестерина в печени крыс с кишечным дисбиозом или получавших аппликации ЛПС. Как видно из этих данных, и при дисбиозе, и при действии ЛПС достоверно возрастает в печени содержание ТГ и мало изменяется содержание холестерина.

Данные по содержанию липидов в сыворотке крови представлены в табл. 5, из которой следует, что и при кишечном дисбиозе, и при действии ЛПС достоверно возрастает в сыворотке крови содержание ТГ (гипертриглицеридемия) и мало изменяется уровень холестерина.

Таким образом, полученные нами результаты указывают на то, что кишечный дисбиоз вызывает развитие воспалительно-дистрофических процессов в печени, результатом которого является гипертриглицеридемия и стеатоз печени. Ведущим патогенетическим фактором в этом процессе является липопо-

лисахарид, образуемый грам-отрицательными бактериями.

На этом основании можно считать целесообразным использовать у лиц с кишечным дисбиозом препараты гепатопротекторов и антидисбиотические средства.

### Выводы

1. У животных с кишечным дисбиозом или получавших ЛПС развиваются воспалительно-дистрофические процессы в печени (гепатит).
2. При кишечном дисбиозе увеличивается содержание триглицеридов в печени (гепатостеатоз) и в сыворотке крови (гипертриглицеридемия).

### Литература

1. Бухарин О.В. Симбиотические взаимоотношения микроорганизмов при инфекции / О. В. Бухарин // ЖМЭИ. – 2013. – № 1. – С. 93-97.
2. Дятлов И. А. Актуальные проблемы медицинской микробиологии / И. А. Дятлов // ЖМЭИ. – 2013. – № 1. – С. 88-93.
3. Микробиом человека и современные методы его оздоровления (обзор литературы) / Д. С. Янковский, В. П. Ширококов, А. П. Волосовец [и др.] // Журнал НАМН України. – 2013. – т. 19, № 4. – С. 411-420.
4. Wang X. Endotoxins: structure, function and recognition / X. Wang, P. Quinn // *Seria; Subcellular Biochemistry*. – 2010. – v. 53. – 415 p.
5. Bengmark S. Gut microbiota, immune development and function / S. Bengmark // *Pharmacol Res*. – 2013. – v. 69, № 1. – P. 87-113.
6. Молекулярные механизмы индукции врожденного иммунитета / С. С. Афанасьев, В. А. Алешкин, А. Л. Байракова [и др.] // Вестник РАМН. – 2009. – № 4. – С. 42-49.
7. Ваврух П. О. Динаміка інтегральних маркерів ендогенної інтоксикації, спричиненої введенням цитостатиків / П. О. Ваврух, Я. Я. Боднар, Г. П. Ваврух // *Медична хімія*. – 2013. – т. 15, № 3 (56). – С. 5-9.
8. Алешина Р. М. Синдром возможной иммунной недостаточности: клинико-лабораторная характеристика / Р. М. Алеши-

- на // Клін. імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2007. – № 2 (107). – С. 17-20.
9. Ткаченко Е. И. Питание, микробиоценоз и интеллект человека / Е. И. Ткаченко, Ю. П. Успенский. – СПб.: Спецлит, 2006. – 590 с.
  10. Biesalski H. K. Nutraceuticals: The link between nutrition and medicine / H. K. Biesalski // J. Toxicol. Cutaneous and Ocul. Tokciol. – 2002. – 21, № 1-2. – P. 9-30.
  11. Max M. Immunonutrition bei kritisch kranken Patienten / M. Max // Arzneimitteltherapie. – 2006. – v. 24, № 10. – P. 356-362.
  12. Патент на корисну модель, Україна 43140, МПК (2009) G01N 33/48. Спосіб оцінки ступеня дисбіозу (дисбактеріозу) органів і тканин / Левицький А.П., Денга О. В., Селіванська І.О. [та ін.]. – Опубл. 10.08.2009, Бюл. № 15.
  13. 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 МЗУ, 2007. – 22 с.
  14. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости: метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. В. Денга, О. А. Макаренко [и др.] – Одесса, 2010. – 16 с.
  15. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А.М. Горячковский - [3-е изд.]. - Одесса: Экология, 2005. - 616 с.
  16. Інструкція до набору реактивів для визначення тригліцеридів у сироватці і плазмі крові ензиматичним колориметричним методом / ТУ У 24.4-24607793-020-2003.
  17. Холестерин. Ферментативно-фотометрический метод с холестерин-оксидазой (пероксидазой) / РТ МД11-15796482-001:2003.
  18. 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.
  19. Яковенко Э. П. Метаболические заболевания печени как системные проявления дисбиоза кишечника / Э. П. Яковенко // Consilium Medicum. – 2005. – № 8. – P. 33-35.
  20. Левицкий. А.П. Антимикробная функция печени / А.П. Левицкий, С.А. Демьяненко, Ю.В. Цисельский – Одесса: КП ОГТ, 2011. – 141 стр. с ил.
  21. Williams R. Review article: Bacterial flora and pathogenesis in hepatic encephalopathy / R. Williams // Alim. Pharmacol. and Ther. – 2007. – v. 25, прил. 1. – P. 17-22.

### References

1. Bukharin O. V. Symbiotic relationships of microorganisms during infection. ZhMEI. 2013; 1: 93-97.
2. Dyatlov I. A. Actual problems of medical microbiology. ZhMEI. 2013; 1: 88-93.
3. Yankovskiy D. S., Shyrobokov V. P., Volosovets A. P.[et al.]. The human microbiome and modern methods of rehabilitation (literature review). Zhurnal NAMN Ukraini. 2013; 19(4): 411-420.
4. Wang X., Quinn P. Endotoxins: structure, function and recognition. Seria; Subcellular Biochemistry. 2010; 53: 415.
5. Bengmark S. Gut microbiota, immune development and function. Pharmacol Res. 2013; 69(1): 87-113.
6. Afanas'ev S. S., Aleshkin V. A., Bayrakova A. L. [et al.]. Molecular mechanisms of induction of innate immunity. Vestnik RAMN. 2009; 4: 42-49.
7. Vavrukh P. O., Bodnar Ya. Ya., Vavrukh G. P. Dynamics of integrated markers of endogenous intoxication caused by the introduction of cytostatic drugs. Medychna himija. 2013; 15(3(56)): 5-9.
8. Alyeshyna R. M. Secondary immune deficiency syndrome: clinical and laboratory characteristics. Klin. imunologiya. Alergologiya. Infektologiya. 2007; 2(107): 17-20.
9. Tkachenko E. I., Uspenskiy Yu. P. Pitanie, mikrobiotsenoz i intellect cheloveka [Nutrition, microbiocenosis and intellect of a human]. S-Peterburg, SretsLit, 2006: 590.
10. Biesalski H. K. Nutraceuticals: The link between nutrition and medicine. J. Toxicol. Cutaneous and Ocul. Tokciol. 2002; 21(1-2): 9-30.
11. Max M. Immunonutrition bei kritisch kranken Patienten. Arzneimitteltherapie. 2006; 24(10): 356-362.
12. Levitsky A. P., Denga O. V., Selivanskaya I. A. [ta in.]. 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. 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.
  14. Levitsky A. P., Denga O. V., Makarenko O. A. [i dr.]. Biokhimicheskie markery vospaleniya tkaney rotovoy polosti: metodicheskie rekomendatsii [Biochemical markers of inflammation of oral cavity tissue: method guidelines]. Odessa, KP OGT, 2010: 16.
  15. Goryachkovskiy A. M. Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics] [3<sup>rd</sup> ed.]. Odessa, Ekologiya, 2005:616 (in Russian).
  16. 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.
  17. Cholesterol. Enzymatic-photometric method with cholesterol-oxidase (peroxidase) / RT MD11-15796482-001:2003 (in Russian).
  18. Lapach S. N., Chubenko A. V., Babich P. N. Statisticheskiye metody v medicobiologicheskikh issledovaniyakh s ispolzovaniem Excel [Statistical methods in medical and biological research by using Excel]. Kiev, Morion, 2000: 320.
  19. Yakovenko E. P. Metabolic liver diseases as systemic manifestations of intestinal dysbiosis. Consilium Medicum. 2005; 8: 33-35.
  20. Levitsky A. P., Demyanenko S. A., Tsiselskiy Yu. V. Antimikrobnaya funktsiya pecheni [The antimicrobial function of liver]. Odessa, KP OGT, 2011:141.
  21. Williams R. Review article: Bacterial flora and pathogenesis in hepatic encephalopathy. Alim. Pharmacol. and Ther. 2007; 25(1): 17-22.

*Впервые поступила в редакцию 20.05.2015 г.  
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

### Резюме

#### СТАН ПЕЧІНКИ ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО КИШКОВОГО ДИСБІОЗУ У ЩУРІВ

*Ткачук В.В.*

За умов кишкового дисбіозу, який викликали у щурів за допомогою лінкоміцину, в печінці розвивався дисбіоз та запально-дистрофічний процес. Як наслідок, підвищувався рівень тригліцеридів в печінці (стеатоз) і в сироватці крові (гіперліпідемія). Аналогічні зміни відбувалися і після оральних аплікацій гелю з ліпополісахаридом.

**Ключові слова:** дисбіоз, ліпополісахарид, печінка, стеатогепатит, гіперліпідемія.

### Summary

#### STATE OF THE LIVER AND LIPID METABOLISM OF INTESTINAL DYSBIOSIS IN EXPERIMENTAL RATS

*Tkachuk V.V.*

**Aim:** To determine the effect of dysbiosis and lipopolysaccharide on the liver condition and the lipid metabolism.

**Materials and Methods:** Intestinal dysbiosis in rats was reproduced using lincomycin. Lipopolysaccharide (LPS) from *E. coli* was used for the oral administration at the dose 200 mg/kg. The degree of dysbiosis was evaluated by the ratio of the relative activities of urease and lysozyme. The liver condition was determined by the level of inflammation markers in the liver (MDA and elastase) and the ALT activity in the blood serum. The lipid metabolism was evaluated by triglycerides and cholesterol in the liver and the blood serum.

**Results:** It was found the development of dysbiosis in the liver, and inflammation both at intestinal dysbiosis and at the exposure to LPS. The triglycerides' level increased in the liver and in the blood serum of rats having dysbiosis and treated with LPS. The cholesterol level did not change.

**Conclusions:** Intestinal dysbiosis causes the development of steatohepatitis by the exposure to LPS.

**Keywords:** dysbiosis, lipopolysaccharide, liver, steatohepatitis, hyperlipidemia.