

<sup>1</sup>А. П. Левицкий, <sup>2</sup>Е. М. Левченко, <sup>1</sup>О. А. Макаренко

## СРАВНИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ КВЕРЦЕТИНА, ИНУЛИНА И КВЕРТУЛИНА НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ОРАЛЬНОЙ АППЛИКАЦИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА

<sup>1</sup>ГУ «Институт стоматологии НАМН», г. Одесса,

<sup>2</sup>КУ «Одесская областная клиническая больница»

**Реферат** А. П. Левицкий, Е. М. Левченко, О. А. Макаренко **СРАВНИТЕЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ КВЕРЦЕТИНА, ИНУЛИНА И КВЕРТУЛИНА НА СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ КРЫС ПОСЛЕ ОРАЛЬНОЙ АППЛИКАЦИИ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА.** В эксперименте на крысах исследовали влияние квертулина и его компонентов кверцетина и инулина на печень и сыворотку крови после оральных аппликаций липополисахарида. Установлено, что липополисахарид вызывает повышение уровня глюкозы, интенсификацию перекисного окисления липидов, развитие воспаления, размножение условно-патогенной микрофлоры на фоне снижения неспецифической антимикробной и антиоксидантной защиты как в ткани печени, так и в сыворотке крови. Оральные аппликации квертулина оказывают выраженное позитивное действие на исследованные показатели. Квертулин обеспечивает суммацию эффектов каждого компонента препарата.

**Ключевые слова:** крысы, липополисахарид, печень, кровь, кверцетин, инулин, квертулин.

**Реферат** А. П. Левицкий, О. М. Левченко, О. А. Макаренко **ПОРІВНЯЛЬНА ДІЯ КВЕРЦЕТИНУ, ІНУЛІНУ ТА КВЕРТУЛІНУ НА СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПІСЛЯ ОРАЛЬНОЇ АППЛІКАЦІЇ ЛІПОПОЛІСАХАРИДУ.** В експерименті на щурах досліджували вплив квертуліну і його компонентів кверцетину та інуліну на печінку і сироватку крові після оральних аплікацій липополісахариду. Встановлено, що ліпополісахарид спричиняє підвищення рівня глюкози, інтенсифікацію перекисного окиснення ліпідів, розвиток запалення, розмноження умовно-патогенної мікрофлори на тлі зниження неспецифічного антимікробного та антиоксидантного захисту як в тканини печінки, так і в сироватці крові. Оральні аплікації квертуліну надають виражену позитивну дію на досліджуванні показники. Квертулін забезпечує сумачію ефектів кожного з компонентів препарату.

**Ключові слова:** щури, ліпополісахарид, кров, кверцетин, інулін, квертулін

**Summary.** A. P. Levitsky, Ye. M. Levchenko, O. A. Makarenko **COMPARATIVE EFFECTS OF QUERCETIN, INULIN AND QUERTULIN ON THE STATE OF RAT LIVER AFTER LIPOPOLYSACCHARIDE ORAL APPLICATION** In the experiment, the influences of quertulin and its components quercetin and inulin on the liver and on the blood serum after lipopolysaccharide oral application were studied. It was established that lipopolysaccharide induced: an increase of blood glucose level, an intensification of lipid peroxidation, the development of inflammation, proliferation of conditionally pathogenic microorganisms against decrease non-specific antimicrobial and antioxidant protection both in liver tissue and in blood serum. Quertulin oral application had positive effects on the studied parameters. Quertulin provided a summation of the effects of each component of its drug.

**Key word:** rats, lipopolysaccharide, liver, blood, quercetin, inulin, quertulin.

**Введение.** Липополисахарид (ЛПС), или кишечный эндотоксин, находится в оболочке клеток грамотрицательных бактерий и высвобождается из них после отмирания микробов [1, 2]. Патогенное действие ЛПС осуществляется через влияние на лейкоциты, особенно на макрофаги, которые в ответ продуцируют провоспалительные факторы, такие как цитокины (ФНО<sub>2</sub>, ИЛ-1α) [3, 4].

Хотя основным источником ЛПС в организме является толстая кишка [5], существенное количество этого эндотоксина образуется и в ротовой полости при наличии орального дисбиоза, который имеет место при многих стоматологических заболеваниях, в частности при генерализованном пародонтите [6].

В условиях нормального функционирования печени почти весь (95%) кишечный эндотоксин обезвреживается печенью [7, 8, 9]. В то же время оральный эндотоксин, минуя печеночный барьер, может без препятствий поступать в системное кровообращение и оказывать влияние на ткани и органы [6]. В этой связи представляется актуальным поиск эффективных средств, предупреждающих негативное действие эндотоксина орального происхождения. Перспективными препаратами являются биофлавоноиды, обладающие широким спектром действия, и пребиотики, устраняющие явления дисбиоза. К наиболее активным биофлавоноидам относится кверцетин из плодов софоры, а к пребиотикам – инулин из корней цикория. Квертулин – комплексный препарат, содержащий кверцетин, инулин и цитрат кальция [10].

**Целью** данной работы стало экспериментальное исследование влияния кверцетина, инулина и квертулина на состояние печени после аппликаций липополисахарида на слизистые оболочки полости рта.

### Материалы и методы

Эксперимент проведен на 35 белых крысах линии Вистар (самцы, 340-360 г, возраст 12 месяцев), распределенных в 5 групп: 1-ая – интактная, 2 ая, 3-ья, 4-ая и 5-ая – получали аппликации на десну 0,5 мл геля на основе КМЦ, содержащего ЛПС 50 мкг/мл. Крысы 3-ей группы с первого дня опыта получали аппликации на десну 0,5 мл геля с кверцетином (2 мг/мл); крысы 4-ой группы получали аппликации 0,5 мл геля с инулином (5 мг/мл); крысы 5-ой группы получали аппликации 0,5 мл геля с квертулином (20 мг/кг).

В работе использован препарат ЛПС из *Salmonella typhi* «Пирогенал» («Медгамал», Россия), кверцетин («Merck», Германия), инулин из корней цикория «Fibruline» (Consucra Groupe Warcoing S. A., Бельгия), цитрат кальция и квертулин (НПА «Одесская биотехнология», Украина).

На 2-й день опыта крыс умерщвляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг), собирали кровь для отделения сыворотки и выделяли печень. Гомогенаты печени готовили из расчёта 50 мг/мл 0,05 М трис-НСI pH 7,5. В сыворотке крови и гомогенатах печени определяли содержание малонового диальдегида (МДА) [11] и активность ферментов эластазы [11], уреазы [12], лизоцима [12] и каталазы [11]. В сыворотке крови дополнительно проводили определение уровня глюкозы [13]. Статистическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с оценкой достоверности по t-критерию Стьюдента.

### Результаты исследования и обсуждение

Результаты биохимического исследования сыворотки крови экспериментальных животных представлены в табл. 1. Как видно из данных этой таблицы локальное нанесение ЛПС вызывает достоверное повышение уровня глюкозы и МДА, активности эластазы и уреазы на фоне достоверного снижения активности лизоцима и каталазы в крови крыс.

Применение кверцетина или инулина привело к позитивным изменениям всех исследованных показателей в сыворотке крови крыс, в подавляющем большинстве случаев достоверным ( $p_1 < 0,05$ ). Необходимо подчеркнуть, что кверцетин и в большей степени инулин проявили антиоксидантное действие, повысив активность каталазы и снизив уровень МДА, а инулин – антигликемическое, антимикробное и противовоспалительное, уменьшив уровень глюкозы, активность уреазы и эластазы (табл. 1).

Таблица 1

Влияние кверцетина, инулина и квертулина на биохимические показатели сыворотки крови крыс после оральных аппликаций ЛПС (n=7)

Показатели	1 группа Интактная	2 группа апл. ЛПС	3 группа апл. ЛПС + кверцетин	4 группа апл. ЛПС + инулин	5 группа апл. ЛПС + квертулин
Содержание глюкозы, ммоль/л	6,15 ± 0,28	7,15 ± 0,31 $p < 0,05$	6,62 ± 0,17 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	6,53 ± 0,29 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	6,30 ± 0,25 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$
Содержание МДА, ммоль/л	0,42 ± 0,02	0,62 ± 0,02 $p < 0,01$	0,53 ± 0,02 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,50 ± 0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,49 ± 0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$
Активность эластазы, мк-кат/л	195,0 ± 16,5	293,3 ± 24,2 $p < 0,01$	263,1 ± 18,2 $p < 0,05$ $p_1 > 0,3$	202,4 ± 13,1 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$	217,6 ± 21,3 $p > 0,1$ $p_1 < 0,05$
Активность уреазы, мк-кат/л	0,17 ± 0,01	0,26 ± 0,01 $p < 0,001$	0,22 ± 0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,21 ± 0,02 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,18 ± 0,02 $p > 0,3$ $p_1 < 0,01$
Активность лизоцима, од/л	96 ± 7	73 ± 3 $p < 0,05$	85 ± 3 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	84 ± 4 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	86 ± 2 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
Активность каталазы, мкат/л	0,22 ± 0,01	0,11 ± 0,01 $p < 0,001$	0,20 ± 0,01 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$	0,13 ± 0,01 $p < 0,001$ $p_1 > 0,05$	0,18 ± 0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$

Примечание.  $p$  – достоверность отличий в сравнении с показателем в 1 группе;  
 $p_1$  – достоверность отличий в сравнении с показателем во 2 группе.

Сочетанное назначение кверцетина и инулина в составе препарата квертулин крысам 5 группы способствовало более выраженному уменьшению уровня глюкозы, снизившемуся до нормальных значений ( $p > 0,3$  и  $p_1 < 0,05$ ). Активность эластазы, уреазы и лизоцима в сыворотке крови крыс, которым наносили аппликации с квертулином, также были на уровне соответствующих значений в интактной группе животных ( $p > 0,1-0,05$  и  $p_1 < 0,01-0,05$ ). Содержание МДА и активность каталазы, несмотря на достоверные изменения по сравнению с показателями во 2 группе (аппликации ЛПС), в сыворотке животных, получавших локально квертулин, не достигли нормального уровня (табл. 1).

Результаты, обобщённые в табл. 2, свидетельствуют о негативном влиянии ЛПС при локальном нанесении на десну на активность эластазы, уреазы и лизоцима в гомогенатах печени экспериментальных животных. Повышение активности эластазы рассматривается нами как воспалительная реакция, связанное с увеличением числа активных нейтрофилов, а подъём активности уреазы – как результат размножения условно-патогенной микрофлоры, выделяющих этот фермент. Падение активности лизоцима на этом фоне говорит о снижении неспецифической антимикробной защиты ткани печени. Содержание МДА и активность каталазы в гомогенатах печени существенно не изменялась ни после аппликаций ЛПС, ни вследствие применения препаратов (табл.2).

Нанесение аппликаций гелей со всеми исследуемыми препаратами способствовали достоверному снижению активности эластазы в печени крыс ( $p_1 < 0,05$ ). При этом самые низкие значения активности этого фермента, характеризующего уровень воспаления, зарегистрированы в печени животных 5 группы, которым назначали комплексный препарат квертулин. Несмотря на положительные сдвиги в активности уреазы и лизоцима под влиянием кверцетина, уровень этих показателей достоверно не изменился ( $p_1 > 0,05$ ). А вот применение инулина у крыс 4 группы привело к достоверному снижению активности уреазы ( $p_1 < 0,05$ ) и повышению активности лизоцима ( $p_1 < 0,05$ ) в печени животных. Но наиболее выраженные изменения этих показателей отмечены в печени крыс 5 группы, которым наносили аппликации геля с квертулином (табл. 2).

Таблица 2

Влияние кверцетина, инулина и квертулина на биохимические показатели крыс после оральных аппликаций ЛПС ( $n=7$ )

Показатели	1 группа интактная	2 группа апл. ЛПС	3 группа апл. ЛПС + кверцетин	4 группа апл. ЛПС + инулин	5 группа апл. ЛПС + квертулин
Содержание МДА, ммоль/кг	28,1 ± 1,1	29,3 ± 2,1 $p > 0,3$	28,5 ± 2,4 $p > 0,5$ $p_1 > 0,5$	25,3 ± 2,3 $p > 0,1$ $p_1 > 0,1$	26,8 ± 0,5 $p > 0,3$ $p_1 > 0,1$
Активность эластазы, мк-кат/кг	371 ± 15	439 ± 15 $p < 0,01$	391 ± 14 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$	388 ± 22 $p > 0,3$ $p_1 < 0,05$	380 ± 25 $p > 0,5$ $p_1 < 0,05$
Активность уреазы, мк-кат/кг	2,74 ± 0,21	3,56 ± 0,24 $p < 0,05$	3,01 ± 0,20 $p > 0,3$ $p_1 > 0,05$	2,83 ± 0,14 $p > 0,5$ $p_1 < 0,05$	2,51 ± 0,17 $p > 0,3$ $p < 0,05$
Активность лизоцима, од/кг	191 ± 16	87 ± 12 $p < 0,001$	118 ± 14 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	130 ± 15 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	137 ± 12 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$
Активность каталазы, мкат/кг	5,50 ± 0,14	5,52 ± 0,14 $p > 0,6$	5,48 ± 0,13 $p > 0,6$ $p_1 > 0,5$	5,45 ± 0,13 $p > 0,5$ $p_1 > 0,5$	5,14 ± 0,10 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$

*Примечание.*  $p$  – достоверность отличий в сравнении с показателем в 1 группе;  
 $p_1$  – достоверность отличий в сравнении с показателем во 2 группе.

#### **Выводы:**

1. Липополисахарид орального происхождения приводит к негативным системным последствиям: повышению уровня глюкозы, интенсификации перекисного окисления липидов, развитию воспаления, размножению условно-патогенной микрофлоры на фоне снижения неспецифической антимикробной и антиоксидантной защиты.

2. Локальное нанесение липополисахарида на слизистые оболочки полости рта индуцирует в ткани печени процессы воспаления и рост условно-патогенной микрофлоры при снижении антимикробной защиты.

3. Оральные аппликации квертулина оказывают выраженное позитивное действие на подавляющее большинство биохимических показателей в сыворотке крови и ткани печени крыс. Использование квертулина обеспечивает суммацию эффектов каждого из компонентов препарата.

#### **Литература**

1. Яковлев М. Ю. Элементы эндотоксиновой теории физиологии и патологии человека / М. Ю. Яковлев // Физиология человека. – 2003. – Т. 29, № 4. – С. 98-109.
2. A direct role for secretory phospholipase A<sub>2</sub> and lysophosphatidylcholine in the mediation of LPS-induced gastric injury / E.J. Dial, D.M. Tran, J.J. Romero et al. // Shock. – 2010. – V.33, N 6. – P. 634-638.
3. Ziegler-Heitbrock H.W.Z. Molecular mechanism in tolerance to lipopolysaccharide / H.W.Z. Ziegler-Heitbrock // J. of Inflammation. – 1995. – V/45, N 1. – P. 13-36.

4. Новак В.Л. Синдром ендогенної інтоксикації, сепсис і поліорганна недостатність: патофізіологічні та клінічні аспекти проблеми (огляд літератури) / В.Л. Новак, О.М. Оборін // Журн. АМН України. – 2009. – т. 15, № 2. – С. 263-275.
5. Рябиченко Е.В. Роль кишечной бактериальной аутофлоры и её эндотоксина в патологии человека / Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко // Журн. микробиол. – 2007. – № 3. – С. 105-111.
6. Lypopolysaccharides of *Bacteroides intermedius* (*Prerotella intermedia*) and *Bacteroides* (*Porphyromonas gingivalis*) induce interleukine-8 gene expression in human gingival fibroblast culture / V.Tamura, M. Tocado, S. Nagaoka et al. // *Infect immunol.* – 1992. – V.60, N 11. – P. 4932-4937.
7. Яковлев М. Ю. Роль кишечной микрофлоры и недостаточности барьерной функции печени в развитии эндотоксинемии и воспаления / М. Ю. Яковлев // Казанский медицинский журнал. – 1988. – Т. 69, № 5. – С. 353-358.
8. Dynamic changes and mechanism of intestinal endotoxemia in partially hepatic-tomized rats / С.Р. Ху, J. Liu, J-С. Liu et al. // *World J.Gastroenterol.* – 2007. – V. 13, N 26. – P. 3592-3597.
9. Механизмы антиэндотоксиновой защиты печени / Л.Ф. Панченко, С.В. Пирожков, Н.Н. Терехина и др. // Пат. физиол. и exper. терапия. – 2012. – № 2. – С. 62-69.
10. Квертулин / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Селиванская И.А. и др. – Одесса: КП «Одеська міська друкарня», 2012. – 20 с.
11. Биохимические маркеры воспаления тканей ротовой полости. Методические рекомендации / Левицкий А.П., Деньга О.В., Макаренко О.А. и др. – Одесса: КП «Одеська міська друкарня», 2010. – 16 с.
12. Ферментативный метод определения дисбиоза полости рта для скрининга про- и пребиотиков. Методические рекомендации / Левицкий А.П., Макаренко О.А., Селиванская И.А. и др. – Киев: ГФЦ МЗ Украины, 2007. – 23 с.
13. Горячковский А.М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике: Справочное пособие / Горячковский А.М. – Изд. 3-е вып. и доп. – Одесса: Екологія, 2005. – С. 326-328.

Работа поступила в редакцию 27.05.2013 года.

Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования