

УДК 616.36 – 008.811.6:616.83) – 092.9

ЭНДОГЕННАЯ ИНТОКСИКАЦИЯ В ДИНАМИКЕ ОСТРОГО ПОДПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛЕСТАЗА У КРЫС

С.В. Емельянчик¹, Е.М. Федина¹, Г.К. Рубцов², Н.В. Безручко²

¹Гродненский государственный университет им. Янки Купалы,
Гродно (Беларусь)

²Пензенский государственный университет, Пенза

У 135 белых крыс-самцов массой 200-250 г. проводили перевязку общего желчного протока или ложную операцию (контроль). Спустя 2-10 суток проводили оценку выраженности эндогенной интоксикации по содержанию тирозинсодержащих пептидов (ТСП) в сыворотке крови и головном мозге. Показаны изменения этого показателя эндогенной интоксикации в динамике подпечёночного холестаза: содержание ТСП в плазме крови на протяжении всего эксперимента остается повышенным. Содержание тирозинсодержащих пептидов в мозге крыс во все периоды после перевязки общего желчного протока, за исключением 2 суток, понижено.

Ключевые слова: *эндогенная интоксикация, тирозинсодержащие пептиды, плазма крови, головной мозг, холестаз, крысы.*

Введение. Увеличение заболеваний гепатобилиарной системы заставляет искать новые способы диагностики и лечения. Наиболее часто встречаемой патологией данной системы является желчнокаменная болезнь, от которой страдают 10-15% взрослого населения экономически развитых стран (Калинин, Хазанов, 2007). Это делает данную патологию не только медицинской, но и социальной проблемой (Konikof, 2003; Рекомендации..., 2005) Желчекаменная болезнь часто сопровождается нарушением оттока желчи – холестазом, приводящим к расстройствам функций печени, обмена веществ, полиорганной патологии (Кизюкевич, 2005; Иванченкова, 2006). При этом одним из главных моментов в патогенезе последней отводят эндогенной интоксикации.

Определение эндогенной интоксикации весьма актуально, поскольку дает возможность установить определенные звенья патогенеза данного синдрома. Выбор определения тирозинсодержащих пептидов (ТСП) продиктован соображением, что именно тирозин входит в состав уремического токсина, определяемого при почечной недостаточности (Владыка, 1987), которая может возникнуть при подпеченочном холестазе и стать причиной гибели организма (Кизюкевич, 2005). Исследования ТСП как проявления эндогенной интоксикации в тканях и органах в суточной динамике острого подпеченочного холестаза у крыс ранее не проводилось. В связи с этим

мы задались целью определить содержание тирозинсодержащих пептидов как показателя эндогенной интоксикации в плазме крови и мозге, а также билирубина крови (показатель степени тяжести), в динамике острого полного подпеченочного холестаза у крыс.

Методика. Исследование проведено на 135 беспородных белых крысах-самцах массой 225 ± 25 г. Опытным животным операционным путём перевязывали общий желчный проток на 4-5 мм ниже места слияния долевых протоков с полным пересечением его между двумя шёлковыми лигатурами. Крысам контрольной группы (45 крыс) проводили все те же манипуляции, только проток не перевязывали; в течение всего эксперимента у них имел место физиологический отток желчи. Спустя 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 и 10 суток животных (по 10 крыс в каждой группе) выводили из эксперимента с соблюдением требований международных конвенций о гуманном обращении с животными в условиях лабораторных исследований.

Из гепаринизированной крови получали плазму, определение билирубина проводили общепринятыми методами лабораторной диагностики (в мкмоль/л) (Камышников, 2002). Кусочки печени и мозга после извлечения быстро помещали в жидкий азот, где хранили до момента исследования. В образцах крови и органов по методу Н.Ф. Лобко и соавт. (2003) определяли содержание ТСП. Данный метод является высокочувствительным по сравнению с аналогичными, проводимыми спектрофотометрически (спектрофотометр СФ-2000) по ультрафиолетовому поглощению (методы определяющие: молекулы средней массы; вещества низкой и средней молекулярной массы; олигопептиды; пептиды, содержащие остатки ароматических аминокислот). Кроме того, предложенный упрощенный вариант способа легко исполним: авторами предложена формула расчета концентрации ТСП при значениях максимального поглощения ($D_x = 290$ нм). Полученные данные выражали в единицах оптической плотности на один грамм белка (ед. опт. пл. g^{-1} белка). Количество белка находили микробиуретовым методом (Плехан, 1961). Статистическую обработку полученных результатов проводили методами непараметрической статистики (U-критерий Манна-Уитни, по тексту – медиана и интерквартильный ранг ($Me \pm IQR$) с использованием программы Statistica 6.0). Значимыми считали различия между сравниваемыми группами при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Установлено, что через 2 суток холестаза в сыворотке крови животных появляется прямой билирубин, при этом непрямой билирубин возрастает на 64% и общий – на 156%. Через 3 суток непрямой билирубин возрастает еще более – в 2,2 раза, и соответственно, общий билирубин – в 3,4 раза. Максимальные отличия определены на 5 сутки, когда дальнейший рост фракции прямого билирубина, по сравнению со вторыми сутками увеличивается в 3,2

раза. При этом непрямым билирубин увеличивается по сравнению с контролем в 5,5 раза, а общий – в 8,3 раза. Затем имеет место некоторое снижение всех показателей – на 6 сутки холестаза в сыворотке крови животных непрямым билирубин увеличен в 4,2 раза, а общий билирубин – в 7,4 раза. Через 8 суток от начала эксперимента – непрямым билирубин увеличен в 3,4 раза и общий – в 4,8 раза. Спустя 9 суток холестаза непрямым билирубин составляет 220%, и общий билирубин – 272%. Через 10 суток холестаза имеет место наличие прямого билирубина, повышенное содержание непрямого билирубина в крови животных составляет 160%, и соответственно, общего билирубина – в 204% сравнению с контрольными значениями. Наблюдаемые большие значения IQR в опыте можно объяснить высокими колебаниями сугубо индивидуальных повышений этого показателя у каждой крысы (повышения колеблются от 2,8 до 14,3 мкмоль/л). Таким образом, у крыс в эксперименте имел место холестаз.

Т а б л и ц а

Количество тирозинсодержащих пептидов в плазме крови и тканях крыс в динамике подпеченочного холестаза в ед. опт. пл. г⁻¹ белка, (Me ± IQR)

Сутки	Группа	ТСП		
		плазма крови	мозг	печень
2	контроль	25,7±1,5	169,5±5,1	178,6±4,8
	опыт	21,7±3,4	178,6±4,8*	256,7±9,8*
3	контроль	24,8±1,2	175,3±6,2	170,3±7,8
	опыт	20,1±3,5	173,9±6,9	240,1±9,9*
4	контроль	26,4±1,1	171,5±7,2	174,3±8,9
	опыт	18,5±4,2*	134,6±9,2*	190,7±9,8*
5	контроль	27,6±2,2	168,1±5,2	180,6±10,8
	опыт	15,9±2,9*	125,5±9,4**	178,1±12,2
6	контроль	25,9±1,0	169,5±6,3	175,3±8,9
	опыт	18,8±3,7*	140,8±9,9	156,8±9,0
7	контроль	24,3±1,2	172,7±6,1	177,6±6,8
	опыт	20,2±5,0	135,7±5,7*	140,8±12,9
8	контроль	25,5±1,3	168,7±5,9	182,6±12,8
	опыт	26,5±4,3	130,6±7,0*	150,2±9,3
9	контроль	26,5±1,5	170,8±4,9	178,6±14,1
	опыт	24,8±2,8	140,7±7,8*	135,1±9,9
10	контроль	25,9±1,8	168,8±5,8	183,6±10,8
	опыт	32,4±2,9*	155,8±4,9*	141,8±13,9

Примечание. *– p<0,05; **– p<0,01 – по сравнению с контролем.

Как видно из таблицы, ТСП в плазме крови имеют следующую тенденцию: на вторые сутки их содержание снижается на 15,6% (P<0,035; Z=2,10), так что к 5 суткам отмечен их минимум – снижение

на 42,4% ($P < 0,006$; $Z = 2,75$), затем отмечено постепенное увеличение ТСП; на 10 сутки оно составило 25,1% ($P < 0,025$; $Z = -2,24$).

В ткани мозга только на 2 сутки отмечено увеличение содержания ТСП на 5,4% ($P < 0,035$; $Z = 2,10$), на 3 сутки – примерное равенство, а, далее, постепенное уменьшение до 8 суток, а затем на 9-10 сутки некоторое увеличение, но это только 92,5% от контрольных значений. В ткани печени отмечено увеличение содержания на 2-4 сутки, а затем, с 6 суток – их уменьшение.

Таким образом, уровень ТСП плазмы крови имеет тенденцию к снижению на 2 и более процентов на 5 сутки холестаза, а на 10 сутки достигает максимума. Подобное явление можно объяснить связыванием токсинов эритроцитами, при насыщении которых наблюдается рост ТСП. Всасывание токсических продуктов из кишечника приводит к снижению детоксикационной функции печени, что согласуется с литературными данными (Ведунова и др., 2008), а это непременно отражается на росте ТСП в крови, и как следствие – ткани организма насыщаются продуктами метаболизма. Исключение составляет головной мозг, гематоэнцефалический барьер которого препятствует прохождению пептидов в ткань мозга.

Выводы: 1. Повышенный уровень билирубина (особенно его прямой фракции) сыворотки крови свидетельствует о неблагоприятных последствиях холестаза начиная уже со 2 суток. Максимальное содержание его отмечено на 5 сутки.

2. Содержание ТСП в плазме крови как показателя эндогенной интоксикации после некоторого уменьшения на 2-5 сутки, возрастает к 10 суткам эксперимента.

3. Содержание ТСП в мозге крыс во все периоды после перевязки общего жёлчного протока, за исключением 2 суток, понижено.

Список литературы

- Ведунова М.В., Контрощикова К.Н., Добротина Н.А.* 2008. Уровень эндогенной интоксикации при метаболическом синдроме // Вестн. Нижегородского ун-та им. Н.И. Лобачевского. № 2. С. 87-90.
- Владыка А.С.* 1987. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии// Анестезиология и реаниматология. № 2. С. 37-42.
- Иванченкова Р.Л.* 2006. Хронические заболевания желчевыводящих путей. М.: Атмосфера. 416 с.
- Калинин А.В. Хазанов А.И.* 2007. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение. М.: Миклош. 602 с.
- Камышников В.С.* 2002. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. Минск. Т. 2. 496 с.
- Кизюкевич Л.С.* 2005. Причины развития полиорганной недостаточности при хирургической патологии желчевыводящих путей // Вести НАН Беларуси

Вестник ТвГУ. Серия "Биология и экология". 2015. № 1

(серия медицинских наук). 2005. № 2. С. 118-121.

Лобко Н.Ф., Гаврилов В.Б., Конев С.В. 2003. Тирозинсодержащие пептиды – новый индикатор эндогенной интоксикации организма // Вести НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. наук. № 4. С. 114-119.

Плехан М.И. 1961. Спектрофотометрия биуретовых комплексов как метод исследования полипептидов и белков // Химия белка. М., 1961. С. 191-195.

Рекомендации 5 съезда научного общества гастроэнтерологов России по проблеме желчнокаменной болезни. 2005. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. № 4. С. 3-4.

Konikof F.M. 2003. Gallstones – approach to medical management // Med. Gen. Med. V. 5, № 4. P. 8.

ENDOGENOUS INTOXICATION IN THE DYNAMICS OF ACUTE OBSTRUCTIVE CHOLESTASIS IN RATS

S.V. Emelyanchik¹, E.M. Phedina¹, G.K. Rubsov², N.V. Besruchko²

¹Ya. Kupala Grodno State University, Grodno (Belarus)

²Penza State University, Penza

135 males of white rats of 200-250 gr have undergone the ligation procedure of the bile duct or the procedure of the false operation (control group). The evaluation of the endogenous intoxication according to the content of the tyrosine-containing peptides (TCP) in the blood plasma and the brain has been carried out in 2-5 days after the procedure. In the dynamics of the obstructive cholestasis the content of TCP in the blood plasma stays elevated on the course of the entire experiment. The content of TCP in the brain in all the days after the procedure, except for the second day, is low.

Keywords: *endogenous intoxication, tyrosine peptides, blood plasma, brain, cholestasis, rats.*

Об авторах:

ЕМЕЛЬЯНЧИК Сергей Владимирович – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой зоологии и физиологии человека и животных, Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, 230023, Гродно, ул. Ожешко, д. 22, e-mail: semel@grsu.by

ФЕДИНА Екатерина Михайловна – ассистент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии, Гродненский государственный университет им. Янки Купалы, 230023, Гродно, ул. Ожешко, д. 22, e-mail: semel@grsu.by

РУБЦОВ Георгий Константинович – ассистент кафедры общей биологии и биохимии, ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет», 440026, Пенза, ул. Красная, д. 40, e-mail: gkr1974@rambler.ru

Вестник ТвГУ. Серия "Биология и экология". 2015. № 1

БЕЗРУЧКО Наталья Валериановна – доктор биологических наук, профессор кафедры общей биологии и биохимии, ФГБОУ ВПО «Пензенский государственный университет» 440026, Пенза, ул. Красная, д. 40, e-mail: bnv1976@rambler.ru

Емельянчик С.В. Эндогенная интоксикация в динамике острого подпеченочного холестаза у крыс / С.В. Емельянчик, Е.М. Федина, Г.К. Рубцов, Н.В. Безручко // Вестн. ТвГУ. Сер. Биология и экология. 2015. № 1. С. 51-56.