

УДК616.36 – 008.811.6:616.83 – 092.9

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ
В ОЦЕНКЕ СТЕПЕНИ ТЯЖЕСТИ СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОДПЕЧЕНОЧНОМ
ХОЛЕСТАЗЕ У КРЫС**

С.В. Емельянчик¹, Г.К. Рубцов², Н.В. Безручко², Г.П. Лапина³

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

²Пензенский государственный университет, Пенза

³Тверской государственный университет, Тверь

Исследованы биохимические показатели крови для выявления их маркерных изменений в оценке степени тяжести состояния организма при подпеченочном холестазах в отдаленные периоды наблюдений (7, 9, 15, 25, 50 с после моделирования), характеризующие степень участия изученных параметров в процессах адаптации на сложившиеся условия в организме крыс. Повышенная активность аланинаминотрансферазы и щелочной фосфатазы в крови с 7 по 25 сут эксперимента могут служить маркерными тестами подпеченочного холестаза на фоне повышенного уровня билирубина (особенно его непрямой фракции) плазмы крови в течение всего эксперимента. Начиная с 25 сут экспериментального подпеченочного холестаза отмечена некоторая компенсация метаболических нарушений, хотя полной нормализации не наблюдалось, что может быть связано с начавшейся реканализацией желчных протоков.

Ключевые слова: подпеченочный холестаз, биохимические показатели, кровь, крысы.

Введение. В работах С.М. Зиматкина и С.В. Емельянчика была найдена связь выявленных морфологических нарушений головного мозга с нарастанием эндотоксикоза в организме в условиях холестаза (Емельянчик, Зиматкин, 2011, 2012; Emel'yanchik, Zimatkin, 2014). Их результаты согласуются с данными других авторов (например, Assimakopoulos et al., 2010). Упомянутыми авторами проведена оценка выраженности эндогенной интоксикации по содержанию тирозинсодержащих пептидов (ТСП) в сыворотке крови и головном мозге у крыс спустя 2-10 сут после моделирования острого полного подпеченочного холестаза. Ими показаны изменения этого показателя эндогенной интоксикации в динамике наблюдений: содержание ТСП в плазме крови на протяжении всего эксперимента оставалось повышенным. Содержание тирозинсодержащих пептидов в мозге крыс

во все периоды после перевязки общего желчного протока, за исключением 2 сут, было понижено (Емельянчик и соавт., 2015).

Была также проанализирована роль нарушений окислительной модификации белков и липидов в мониторинге внутриспеченочного и внепеченочного холестаза, а также обоснованы методологические подходы разработки модельных биологических систем для оценки степени тяжести состояния организма при подпеченочном холестазе (в эксперименте *in vitro*) (Рубцов и др., 2015).

Вместе с тем, остается актуальным исследование биохимических показателей крови для выявления их маркерных изменений в оценке степени тяжести состояния организма при подпеченочном холестазе в отдаленные периоды наблюдений (15, 25, 50 сут после моделирования).

В нашем исследовании мы задались целью определить активность некоторых ферментов в плазме крови, а также содержание в ней холестерина и билирубина – показателей степени тяжести подпеченочного холестаза у крыс в динамике наблюдений.

Методика. Исследование проведено на 70 беспородных белых крысах самцах массой 225 ± 25 г. Опытным животным (35 крысы) операционным путём под эфирным наркозом перевязывали общий желчный проток на 4-5 мм ниже места слияния долевых протоков с полным пересечением его между двумя шёлковыми лигатурами. Крысам контрольной группы (35 крысы) проводили те же манипуляции, только проток не перевязывали, так что оставался физиологический отток желчи в течение всего эксперимента.

Спустя 7, 9, 15, 25 и 50 сут животных (по 14 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, биохимические исследования проводили общепринятыми методами (Камышников, 2002). Определяли количество или активность: холестерина (ммоль/л), билирубина (общего, прямого и непрямого) (мкмоль/л), аспаратаминотрансферазы (АсАТ; L-аспартат: 2-оксоглутарат-аминотрансфераза; КФ 2.6.1.1), аланинаминотрансферазы (АлАТ; L-аланин: 2-оксоглутарат-аминотрансфераза; КФ 2.6.1.2), щелочной фосфатазы (ЩФ; фосфоэстераза I, фосфогидролаза ортофосфорной кислоты; КФ 3.1.3.1), лактатдегидрогеназы (ЛДГ; L-лактат; НАД-оксидоредуктаза, КФ 1.1.1.27). Все показатели в U/L и лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – в E/L. Расчет, произведенный в международных единицах соответствовал для 1 U/L – 16,67 нмоль/(с·л), а для 1 E/L – 16,67 нмоль/л (с·л). Работу проводили в лабораториях УЗ «Гродненская областная детская клиническая больница» и УЗ «Гродненская клиническая больница № 1» используя биохимический

микроанализатор Architect C 8000 (Abbott Laboratories, США) и Biological Alkali Micro-Analyzer, Type: OP-266/1 (Radelkis, США).

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 for Windows. Значимыми считали различия между сравниваемыми группами при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение. Через 7 сут холестаза активность АлАТ увеличилась на 47,8% ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), ЛДГ – на 10,3% ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), ЩФ – на 45,5% ($Z = -3,13$; $p = 0,002$). Количество холестерина возросло на 16,6% ($Z = -2,43$; $p = 0,015$). Общий билирубин вырос в 7,3 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), а непрямой – в 4,7 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$).

На 9 сут активность АлАТ увеличилась на 49,9% ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), АСТ – на 38,5% ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), ЛДГ – на 47,4% ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), ЩФ – в 2,6 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$). Количество холестерина повысилось и составило 133,3% ($Z = -2,68$; $p = 0,007$) от контрольных значений. Общий билирубин вырос в 7,5 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), непрямой – в 4,7 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$).

На 15 сут холестаза активность АлАТ увеличилась в 2,1 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), АСТ – на 64,0% ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), ЛДГ – в 3,0 раза ($Z = 1,98$; $p = 0,048$). Количество холестерина повысилось на 42,7% ($Z = -2,56$; $p = 0,011$). Общий билирубин вырос в 9,1 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$), а непрямой – в 5,1 раза ($Z = -3,13$; $p = 0,002$).

Подпеченочный холестаз вызывает в организме прерывание энтерогепатической циркуляции компонентов желчи, что приводит к изменению практически всех исследованных биохимических показателей в сыворотке крови. Это согласуется с данными Кизюкевич (2005), показавшего подобные сдвиги не только в крови, но и во всех органах и тканях организма.

Как видно из табл. 1, длительный срок после перевязки общего желчного протока приводит к улучшению исследованных показателей. Однако к 50 сут (табл. 2) происходит нормализация практически всех показателей. Это связано с явлениями реканализации желчных протоков – своевременным прорастанием желчных протоков, восстановлением энтерогепатической циркуляции компонентов желчи и сохранением, тем самым, жизни. Отсутствие прорастания обходных желчевыводящих протоков или его позднее завершение привели бы животных к гибели.

Таблица 1
Некоторые биохимические показатели сыворотки крови через 25 сут после перевязки общего желчного протока (Me±IQR)

Показатель	Контроль (n=7)	Опыт (n=7)	Z	p	
Холестерин, ммоль/л	2,01±0,31	2,20±0,9 **	-2,68	0,007	
Билирубин, мкмоль/л	прямой	–	2,9±3,4 **	-3,13	0,002
	непрямой	10,2±0,9	12,1±3,8 *	-2,24	0,025
	общий	10,2±0,9	15,0±7,1 **	-3,13	0,002
АсАТ, U/L	202,1±15,0	281,7±76,3 **	-3,13	0,002	
АлАТ, U/L	82,4±7,8	120,5±33,3 **	-3,13	0,002	
ЩФ, U/L	251,1±32,4	552±130,1**	-3,13	0,002	
ЛДГ, E/L	719,0±51,0	994,0±199,0 **	-3,13	0,002	

Примечание. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ по сравнению с контролем; (–) – прямой билирубин отрицательный.

Таблица 2
Некоторые биохимические показатели сыворотки крови через 50 сут после перевязки общего желчного протока (Me±IQR)

Показатель	Контроль (n=7)	Опыт (n=7)	Z	p	
Холестерин, ммоль/л	2,01±0,05	2,11±0,09	-1,41	0,16	
Билирубин, мкмоль/л	прямой	–	0,4±2,15 *	-2,24	0,025
	непрямой	9,3±1,8	9,2±1,7	-0,89	0,371
	общий	9,3±1,8	9,6±3,3 *	-1,98	0,048
АсАТ, U/L	206,5±19,0	211,9±31,5	-0,57	0,565	
АлАТ, U/L	76,2±9,0	82,9±16,3	-0,57	0,565	
ЩФ, U/L	240,8±23,1	254,2±34,8	-1,41	0,16	
ЛДГ, E/L	833,4±38,6	844,2±47,6	-0,57	0,565	

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

Таким образом, все выявленные изменения могут характеризовать степень участие изученных параметров в процессах адаптации на сложившиеся условия в организме крыс. Это свидетельствует о существенной роли желчи в деятельности всего организма, в поддержании метаболического гомеостаза при дефиците компонентов желчи в организме.

Выводы: 1. Повышенный уровень билирубина (особенно его непрямой фракции) плазмы крови указывает на наличие подпеченочного холестаза в течение эксперимента. 2. Повышенная активность АлАТ и ЩФ в крови, с 7 по 25 сут эксперимента, может служить маркерным тестом подпеченочного холестаза. 3. Некоторая компенсация метаболических нарушений происходит с 25 сут, хотя

полной нормализации изученных тестов не наблюдается из-за реканализации желчных протоков.

Список литературы

- Емельянчик С.В., Зиматкин С.М.* 2011. Мозг при холестазе: монография. Гродно: ГрГУ. 265 с.
- Емельянчик С.В., Зиматкин С.М.* 2012. Мозг при отведении желчи: монография. Гродно: ГрГУ. 303 с.
- Емельянчик С.В., Федина Е.М., Рубцов Г.К., Безручко Н.В.* 2015. Эндогенная интоксикация в динамике острого подпеченочного холестаза у крыс // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. № 1. С. 51-56.
- Рубцов Г.К., Безручко Н.В., Емельянчик С.В., Зиматкин С.М., Лапина Г.П., Гамзин С.С., Федина Е.М.* 2015. О нарушениях окислительной модификации белков и липидов в мониторинге внутрипеченочного и внепеченочного холестаза // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. № 2. С. 36-47.
- Рубцов Г.К., Безручко Н.В., Емельянчик С.В., Зиматкин С.М., Гамзин С.С.* 2015. Разработка модельных биологических систем для оценки степени тяжести состояния организма при подпеченочном холестазе (в эксперименте *in vitro*) // Вестн. Томского гос. пед. ун-та. № 2. С. 229-236.
- Камышников В.С.* 2002. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. Минск: Беларусь, 2002.
- Кизюкевич Л.С.* 2005. Причины развития полиорганной недостаточности при хирургической патологии желчевыводящих путей // Вести НАН Беларуси (серия медицинских наук). № 2. С. 118-121.
- Assimakopoulos S.F., Konstantinou D., Georgiou C., Chroni E.* 2010. Metabolism of polyamines and oxidative stress in the brain of cholestatic rats // *Amino Acids*. V. 38. № 3. P. 973-974.
- Emel'yanchik S.V., Zimatkin S.M.* 2014. Structural and histochemical changes in Purcinje cells in the rat cerebellum in cholestasis // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. V. 44. №. 4. P. 467-471.

BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS IN THE ASSESMENT OF THE BODY CONDITIONS UNDER THE INDUCED SUBHEPATIC CHOLESTASIS IN RATS

S.V. Emelyanchik¹, G.K. Rubtsov², N.V. Besruchko², G.P. Lapina³

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

²Penza State University, Penza

³Tver State University, Tver

Blood biochemical parameters as possible markers of the body conditions under the subhepatic holestasis have been studied. The parameters have been recorded at 7th, 9th, 15th, 25th and 50th sec. of the experiment to reveal their role in the tuning of the rat's organism. The elevated activity of alanine

aminotransferase and the acidic phosphatase in the blood from 7th till 25th days of experiments can serve as markers of the subhepatic cholestasis under the elevated level of the bilirubin (especially, its indirect fraction). Certain compensation of the metabolic disorders is recorded starting from 25th day of experiment. Although the complete remission was been observed, the partial one can be explained by the recanalization of the choledochus ducts.

Keywords: *induced cholestasis, biochemical parameters, blood, rats.*

Об авторах:

ЕМЕЛЬЯНЧИК Сергей Владимирович – кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой зоологии и физиологии человека и животных, Учреждение образования «Гродненский государственный университет им. Янки Купалы», 230023, Республика Беларусь, г. 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, г. Пенза, ул. Красная, д. 40, e-mail: gkr1974@rambler.ru

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

ЛАПИНА Галина Петровна – доктор химических наук, профессор, заведующая кафедрой физико-химической экспертизы биоорганических соединений, ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», 170100, Тверь, ул. Желябова, д. 33, e-mail: Galina.Lapina@tversu.ru

Емельянчик С.В. Биохимические показатели крови в оценке степени тяжести состояния организма при экспериментальном подпочечном холестазе у крыс / С.В. Емельянчик, Г.К. Рубцов, Н.В. Безручко, Г.П. Лапина // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. 2015. № 4. С. 27-32.