



# АБ УДЗЕЛЕ АРГІНАЗЫ ПЕЧАЊІ І КЛЕТАК КУПФЕРА Ў ПРАЦЭСАХ ДЭТАКСІКАЦЫІ Ў ПАЦУКОЎ З ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНЫМ ПЕРЫТАЊАМ

Чэлева А.М., Вісонт Ф.І.

Беларускі дзяржаўны медыцынскі ўніверсітэт

Кафедра паталагічнай фізіялогіі

## УВОДЗІНЫ

Перытаніт з'яўляецца хірургічнай, агульнаклінічнай і агульнапаталагічнай праблемай, актуальнасць якой не зніжаецца, нягледзячы на несумненныя поспехі клінічнай медыцыны, узброенай новымі перспектыўнымі тэхналогіямі. Сярэднія паказчыкі смяротнасці ўтрымліваюцца на ўзроўні 20-30%, а пры найбольш цяжкіх формах перытаніту дасягаюць 40-50%. Асноўнай прычынай смерці пры перытаніце з'яўляецца поліарганная недастатковасць, спалучаная з прагрэсаваннем эндатаксінэміі

У сувязі з гэтым пошук шляхоў карэкцыі асноўных жыццёвых функцый і абмену рэчываў пры перытаніце з'яўляецца адной з актуальных задач сучаснай медыцыны. Даследаванні апошніх дзесяцігоддзяў дазволілі па-новаму зірнуць на праблему перытаніту і ацаніць ролю печані ў гэтым працэсе. Вядома, што пячоначная недастатковасць суправаджаецца значнымі парушэннямі абменных працэсаў, асаблівае значэнне сярод якіх займаюць змены абмену ліпапратэінаў (ЛП) сывараткі крыві.

Мяркуюцца, што халестэрын (ХС) ЛП забяспечвае фарміраванне кампенсаторнага адказу арганізма на інфекцыю. Акрамя гэтага, печань удзельнічае ў метабалізме фізіялагічна актыўных рэчываў і гармонаў, у прыватнасці, гармонаў шчытападобнай залозы, забяспечваючы падтрыманне іх аптымальнай канцэнтрацыі ў крыві.

Паказана, што пры перытаніце мае месца выяўленая эндатаксінэмія. Патогенныя эфекты эндатаксінаў на метабалізм гепатацытаў пры перытаніце звязаны з узмоцненай прадукцыяй клеткамі Купфера (КК) шэрагу цытакінаў, а таксама монааксіду азоту (NO), пад уздзеяннем якіх адбываецца змены ў сістэме нейраэндакрыннай рэгуляцыі органаў і сістэм. Нягледзячы на тое, што даследаванні па высвятленні ролі функцыянальнага стану печані ў патогенезе септычных станаў шматлікія, значнасць актыўнасці аргіназы печані і КК у працэсах змены ліпіднага профілю, метабалізму ХС ЛП крыві, узроўню ёдзмяшчальных гармонаў у плазме крыві і тэмпературы цела пры перытаніце застаецца шмат у чым не вывучанай.

## МЭТА РАБОТЫ

Высветліць значнасць актыўнасці аргіназы печані і клетак Купфера ў працэсах дэтаксікацыі ў пацукоў з эксперыментальным перытанітам (CLP-мадэль).

## МАТЭРЫЯЛЫ І МЕТАДЫ

Доследы выкананы на дарослых белых пацуках абодвух полаў масай 180-250 г. Да пастаноўкі эксперыменту жывёл адаптавалі да ўмоў віварыя. Пацукі атрымлівалі паўнацэнны харчовы рацыён у адпаведнасці з правіламі ўтрымання лабараторных жывёл. Пітны рэжым адпавядаў прынцыпу ad libitum. Эксперыменты выконваліся ў адпаведнасці з этычнымі нормама абыходжання з лабараторнымі жывёламі, а таксама з міжнароднымі і нацыянальнымі патрабаваннямі.

Для стварэння эксперыментальнага перытаніту была выкарыстана мадэль лігіравання і наступнага аднаразовага пункціравання сляпой кішкі – CLP (cecal ligation and puncture) [5]. Для гэтага пацукам пад гексеналавым наркозам (100 мг/кг, унутрыбрухавінна) выконвалі двухсантыметровы разрэз пярэдняй брухавіннай сценкі, праз які здабывалі сляпую кішку. Затым ніжэй ілеацэкальнага клапана на кішку накладвалі лігатуру і аднаразова пункціравалі яе іголкай са знешнім дыяметрам 1,3 мм (18 gauge). Пасаж харчовых мас пры гэтым не парушаўся. Па дадзеных лігатуры, праз 18-24 гадз. пасля CLP-аперацыі ў жывёл развіваецца цяжкі полімікробны сепсіс, які суправаджаецца выяўленай поліарганнай недастатковасцю [5]. У якасці кантролю выкарыстоўвалі несапраўднаперыраваных (НА) пацукоў, якім пад наркозам праводзілі разрэз пярэдняй брухавіннай сценкі без здабывання і пункціравання сляпой кішкі. Усім жывёлам ушывалі брухавінную сценку і праз 30 мін пасля аператыўнага ўмяшання падскурна ўводзілі 1,0 мл ізатанічнага раствору хларыду натрыю.

Селектыўную дэпрэсію КК у жывёл выклікалі за 12 гадз. да CLP-аперацыі або несапраўднай аперацыі ўнутрыбрухавінным увядзеннем воднага раствору гадалінію хларыду (GdCl<sub>3</sub>) у дозе 10 мг/кг. Лічыцца, што GdCl<sub>3</sub> з'яўляецца селектыўным інгібітарам КК [3]. Актыўнасць аргіназы печані вызначалі спектрафотаметрычна [6].

Декапітацыю жывёл праводзілі праз 24 гадз. пасля CLP-аперацыі або несапраўднай аперацыі. Узятце для даследавання крыві, тканкі печані ў кантрольных і доследных жывёл праводзілася за максімальна кароткі час пасля декапітацыі. Сумарную фракцыю ліпапратэінаў вельмі нізкай шчыльнасці (ЛПВНШ) і ліпапратэінаў нізкай шчыльнасці (ЛПНШ) з сывараткі крыві вылучалі шляхам асаджэння і па метадазе M. Birstein, J. Samaille (1955). Для вызначэння зместу агульнага ХС, ХС ліпапратэінаў высокай шчыльнасці (ЛПВП) у сываратцы крыві і ХС у тканкавых гамагенагах праводзілі экстракцыю ліпідаў па метадазе М. А. Крэхавай, М. К. Чахранавай (1971). Змест ХС у сухіх ліпідных экстрактах сывараткі крыві ацэньвалі з выкарыстаннем рэакцыі Лібермана-Бурхарда, а змест ХС сумарнай фракцыі ЛПВНШ + ЛПНШ – па формуле ХС ЛПВНШ + ЛПНШ = агульны ХС сывараткі крыві – ХС ЛПВШ. Кэфіцыент атэрагеннасці (Ка) разлічвалі па формуле: Ка = (ХС ЛПВНШ + ЛПНШ) / ХС ЛПВШ.

Прадукцыю NO ацэньвалі па сумарным узроўні ў плазме крыві нітрату/нітрытаў (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) [7], змест агульнага трыётдыраніну (Т<sub>3</sub>) і тэтраётдыраніну (Т<sub>4</sub>) у плазме крыві – радыёімуналагічным метадам з выкарыстаннем набору рэактываў PIA-T<sub>3</sub>-СТ і PIA-T<sub>4</sub>-СТ вытворчасці УП «ГДВ ІБАХ НАН Беларусі». Цяжар пашкоджання печані ацэньвалі па змене суадносін актыўнасці аланінамінатрансферазы (АлАТ) і аспаргатамінатрансферазы (АсАТ) (АлАТ/АсАТ) у сываратцы крыві. Актыўнасць АлАТ і АсАТ у плазме крыві вызначалі каларыметрычна дынітрафенілгідразінавым метадам. У ва ўсіх жывёл з дапамогай электратэрмометра ТПЭМ-1 (НВА «Медфізпрыбор», Расійская Федэрацыя) вымяралі рэктальную тэмпературу.

Атрыманая дадзеныя апрацоўваліся агульнапрынятымі метадамі варыяцыйнай статыстыкі з дапамогай крытэрыю Ст'юдэнта і прадстаўляліся ў выглядзе сярэдняга арыфметычнага і стандартнай памылкі сярэдняга арыфметычнага (X ± S<sub>x</sub>).

Статыстычна дакладнымі лічылі адрозненні пры p < 0,05.

## ВЫНІКІ І ІХ АБМЕРКАВАННЕ

Доследы паказалі, што праз 24 гадз. пасля CLP-аперацыі ва ўсіх пацукоў развіваюцца некратычныя змены ў сляпой кішцы, адзначаецца перытаніт з выпатам у брухавінную поласць і парэз кішэчніка, маюцца выяўленыя прыкметы генералізаванай запаленчай рэакцыі: адынамія, млявасць, у большасці выпадкаў – гемарагічны кан'юнктывіт і дыррэя.

Устаноўлена, што ва ўмовах эксперыментальнага перытаніту праз 24 гадз. пасля CLP-аперацыі, але не ў НА пацукоў, рэктальная тэмпература зніжаецца на 1,1 °С: з 37,9 ± 0,09 да 36,8 ± 0,21 °С (p < 0,05; n = 12). Развіццё перытаніту ў пацукоў (n = 10) суправаджалася павышэннем актыўнасці АлАТ у сываратцы крыві ў параўнанні з дадзеным паказчыкам у НА жывёл (n = 10) на 71,2% (p < 0,01). Актыўнасць АсАТ у плазме крыві пацукоў у гэтых умовах (n = 10) узрасла ў параўнанні з яе актыўнасцю ў НА жывёл (n = 10) на 15,5 % (p < 0,05). Суадносіны актыўнасцей АлАТ/АсАТ складала 0,70 ± 0,04 у НА пацукоў і 1,04 ± 0,08 у жывёл з перытанітам.

Выяўлена, што змест агульнага ХС у печані пацукоў пасля CLP-аперацыі (n = 10) павышалася на 14,1 % (p < 0,05) у параўнанні з НА жывёламі (n = 10). Таксама мелі месца павышэнне ўзроўню агульнага ХС у сываратцы крыві на 23,3% (p < 0,05) і выяўленыя змены ў змесце ХС розных класаў ЛП у сываратцы крыві доследных жывёл (n = 10): змест ХС ЛПВШ у параўнанні з такім у НА жывёл (n = 10) зніжаўся на 37,1 % (p < 0,01), узровень ХС ЛПВНШ + ЛПНШ павышаўся на 82,8 % (p < 0,01). Устаноўлена, што ва ўмовах перытаніту мае месца ўзрастанне Ка на 189,2 % (p < 0,01) у доследных жывёл (n = 10) у параўнанні з НА пацукамі (n = 10). Атрыманая вынікі сведчаць аб тым, што павышэнне Ка абумоўлена як паніжэннем зместу ХС ЛПВШ, так і, галоўным чынам, павелічэннем ўтрымання ХС сумарных фракцый ЛПВНШ + ЛПНШ у крыві, што паказвае на развіццё другаснай атэрагеннай дысліпапратэінеміі.

Выяўлена, што пры перытаніце праз 24 гадз. пасля CLP-аперацыі мае месца зніжэнне ў плазме крыві пацукоў (n = 8) узроўню Т<sub>4</sub> на 69,7 % (p < 0,05) і зместу Т<sub>3</sub> на 24,1 % (p < 0,05) у параўнанні з групай кантролю (n = 8). Выяўлена, што ў гэтых умовах у пацукоў змяняецца актыўнасць аргіназы печані і змест у плазме крыві NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> – канчатковых прадуктаў дэградацыі NO. Развіццё перытаніту ў пацукоў прыводзіла да зніжэння актыўнасці аргіназы печані і павышэнню канцэнтрацыі NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у плазме крыві жывёл (n = 8) на 31,3 % (p < 0,05) і 81,8 % (p < 0,05) адпаведна.

Улічваючы, што КК іграюць важную ролю ва ўтварэнні цэлага шэрагу цытакінаў, а таксама NO, якія ўдзельнічаюць у рэгуляцыі працэсаў жыццядзейнасці, у прыватнасці ў абмене тырэоідных гармонаў і ЛП у крыві, былі падставы меркаваць, што ў выяўленых зменах тырэоіднага статусу арганізма, зместу ХС ЛП і тэмпературы цела ва ўмовах перытаніту, які суправаджаецца пячоначнай дысфункцыяй, могуць мець значэнне і КК. Пацверджанне было атрымана ў доследах на пацуках пры высвятленні асабліваасцей змены тэмпературы цела, зместу ХС ЛП, узроўню NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> і тырэоідных гармонаў у плазме крыві ва ўмовах дзеяння ў арганізме жывёл селектыўнага інгібітару КК– GdCl<sub>3</sub>.

Унутрыбрухавіннае ўвядзенне раствору GdCl<sub>3</sub> у дозе 10 мкг/кг (дозе, якая падаўляе эндатаксінабясшкоджаючую функцыю КК) прыводзіла праз 12 гадз. пасля ўвядзення прэпарата да павышэння тэмпературы цела на 1,1 °С (p < 0,05; n = 12) у параўнанні з кантрольнымі жывёламі (унутрыбрухавіннае ўвядзенне 1,0 мл фізраствору). Праз 12 гадз. пасля ўвядзення GdCl<sub>3</sub> узрасла ўзровень Т<sub>3</sub> у плазме крыві ў пацукоў на 171,4 % (p < 0,05; n = 8), а канцэнтрацыя Т<sub>4</sub> у крыві была на 38,9 % (p < 0,05; n = 8) ніжэйшай за кантрольную групу.

Доследы паказалі, што папярэдняе (за 12 гадз. да CLP-аперацыі) увядзенне пацукам GdCl<sub>3</sub> у дозе 10 мг/кг не прыводзіла да значнага зніжэння зместу агульнага Т<sub>4</sub> у іх крыві ў параўнанні з жывёламі кантрольнай групы. Змест Т<sub>4</sub> у плазме крыві пацукоў доследнай групы (n = 8) павялічваўся на 302,6 % (p < 0,01) у параўнанні з яго ўзроўнем у крыві жывёл кантрольнай групы (n = 8), якія былі падвергнуты CLP-аперацыі і якія атрымалі ўнутрыбрухавінна 1,0 мл фізраствору. Прымяненне GdCl<sub>3</sub> перашкаджала і практычна ліквідавала зніжэнне зместу Т<sub>3</sub> ў жывёл з перытанітам, а таксама прыводзіла да менш значнага зніжэння актыўнасці аргіназы печані і не гэтак выяўленаму павышэнню ўзроўню NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у крыві. Актыўнасць аргіназы печані ў пацукоў з перытанітам, якія атрымалі GdCl<sub>3</sub> (n = 8), у параўнанні з жывёламі з перытанітам, якія атрымалі фізраствор (n = 8), была вышэйшай на 17,8 % (p < 0,05), а ўзровень NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у плазме крыві жывёл быў ніжэйшы на 31,8 % (p < 0,05).

Выяўлена, што ў пацукоў з перытанітам ва ўмовах дэпрэсіі КК (n = 10) адзначаюцца менш выяўленыя змены зместу агульнага ХС у крыві і печані, ХС ЛП у крыві, а таксама менш значнае павышэнне ўзроўню АлАТ і АсАТ у плазме крыві. Так, узровень агульнага ХС у крыві і печані ў гэтых умовах у параўнанні з яго ўзроўнем у жывёл кантрольнай групы (n = 10), якія падвергліся CLP-аперацыі і якія атрымалі ўнутрыбрухавінна 1,0 мл фізраствору, быў ніжэйшы на 22,1% і 17,1 % (p < 0,05) адпаведна. Мела месца зніжэнне ў параўнанні з жывёламі кантрольнай групы зместу ХС ЛПВНШ + ЛПНШ у сываратцы крыві на 39,1 % (p < 0,01; n = 10) і павышэнне зместу ХС ЛПВШ у сываратцы крыві на 22,6 % (p < 0,01; n = 10). Актыўнасць АлАТ і АсАТ у плазме крыві пацукоў доследнай групы (n = 10) (развіццё перытаніту ва ўмовах дэпрэсіі КК) у параўнанні з жывёламі з перытанітам, якія атрымалі фізраствор (n = 10), паніжалася на 25,8% і 28,6 % (p < 0,01) адпаведна.

Тэмпература цела ў пацукоў з перытанітам, якім да CLP-аперацыі папярэдне ўнутрыбрухавінна ўводзілі GdCl<sub>3</sub> (10 мкг/кг), была ніжэйшай на 0,6 °С (p < 0,05; n = 12) у параўнанні з жывёламі з эксперыментальным перытанітам, якія атрымалі 1,0 мл фізраствору.

## ЗАКЛЮЧЭННЕ

Атрыманая дадзеныя сведчаць аб тым, што ва ўмовах эксперыментальнага перытаніту ў пацукоў праз 24 гадз. пасля CLP-аперацыі зніжаецца актыўнасць аргіназы печані, узровень ёдзмяшчальных гармонаў шчытападобнай залозы, павышаецца змест NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у крыві, развіваецца другасная атэрагенная дысліпапратэінемія. У зменах зместу агульнага халестэрыну ў печані і ліпапратэінах крыві, узроўню ёдзмяшчальных гармонаў шчытападобнай залозы ў плазме крыві і тэмпературы цела пры перытаніце (CLP-мадэль) удзельнічаюць аргіназа печані, клеткі Купфера і монааксід азоту. Прыгнятанне клетак Купфера пры перытаніце суправаджаецца менш выяўленым зніжэннем актыўнасці аргіназы печані, узроўню трыётдыраніну ў крыві і паслабленнем развіцця характэрных змяненняў у змесце агульнага халестэрыну ў печані, халестэрыну ліпапратэінаў і NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> у крыві і перашкаджае развіццю другаснай дысліпапратэінеміі. Дэпрэсія аргіназы печані пагаршае змены зместу агульнага халестэрыну ў ліпапратэінах крыві і печані, трыётдыраніну ў крыві і спрыяе развіццю другаснай дысліпапратэінеміі.