

2485

УДК: 616.36 – 008.811.6:616.83) – 092.9

В.В. Авер, С.В. Емельянчик, К.А. Мандрик, С.М. Зиматкин

## ПОКАЗАТЕЛИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В КРОВИ, ПЕЧЕНИ И МОЗГЕ КРЫС В ДИНАМИКЕ ПОДПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛЕСТАЗА

У 150 белых крыс-самцов массой 200–250 г. проводили перевязку общего желчного протока или ложную операцию (контроль). Спустя 2, 5, 10, 20, 45 и 90 суток определяли количество билирубина в плазме крови, а так же выраженность эндогенной интоксикации по количеству тирозинсодержащих пептидов (ТСП) в плазме, печени и головном мозге. Установлено, что содержание ТСП в плазме крови, начиная с 10 суток и до конца эксперимента, остается повышенным. Уровень ТСП в печени на 2 сутки холестаза значительно возрастает, а затем постепенно снижается и нормализуется. Содержание ТСП в мозге крыс во все периоды после перевязки общего желчного протока, за исключением 2 суток, понижено. Применение урсодезоксихолевой кислоты в течение первых 20 суток после перевязки общего желчного протока нормализует содержание билирубина и ТСП в организме крыс при холестазе. Полученные результаты указывают на важную роль эндогенной интоксикации в патогенезе подпеченочного холестаза.

**Введение.** Начиная с 40-х годов прошлого века, происходит неуклонный рост заболеваний гепатобилиарной системы. Наиболее распространенным из них является желчнокаменная болезнь, от которой страдают 10–15 % взрослого населения экономически развитых стран [1]. Хирургические операции при этом заболевании занимают второе место после аппендэктомий. Это делает данную патологию не только медицинской, но и социальной проблемой [2; 3]. Желчекаменная болезнь часто сопровождается нарушением оттока желчи – холестазом, приводящим к расстройствам функций печени, обмена веществ, полиорганной патологии [4; 5]. При этом ключевую роль в патогенезе последней отводят эндогенной интоксикации [5].

Эндогенная интоксикация – повышенное накопление продуктов метаболизма в результате активизации катаболических процессов при одновременном снижении процессов детоксикации в организме [6]. Ее считают одним из важнейших механизмов патогенеза различных заболеваний, а в ряде случаев эндогенная интоксикация становится главной причиной смертельного исхода [7]. Эндогенная интоксикация при холестазе в значительной степени связана с повреждением гепатоцитов [8; 9]. Вместе с тем можно полагать, что при холестазе печень постепенно теряет свои детоксикационные свойства, что приводит к вторичной интоксикации продуктами бактериального распада в кишечнике и дальнейшему повреждению клеток печени.

В связи с этим исследование эндогенной интоксикации в динамике экспериментального подпеченочного холестаза представляет значительный интерес для выяснения его патогенеза. Выбор определения тирозинсодержащих пептидов (ТСП) продиктован тем, что именно тирозин входит в состав так называемого уремического токсина, определяемого при почечной недостаточности [10], а, как известно, она может возникнуть при подпеченочном холестазе и служить одной из причин гибели организма [5]. Исследований ТСП как проявления эндогенной интоксикации в тканях и органах в динамике подпеченочного холестаза у крыс не проводили.

**Цель работы** – установить содержание тирозинсодержащих пептидов как показателя эндогенной интоксикации в плазме крови, печени и мозге, а также билирубина крови (показатель степени тяжести), в динамике подпеченочного холестаза у крыс.

**Материалы и методы.** Исследование проведено на 150 беспородных белых крысах-самцах массой  $225 \pm 25$  г. Опытным животным операционным путем перевязывали общий желчный проток на 4–5 мм ниже места слияния долевых протоков с полным пересечением его между двумя шелковыми лигатурами. Крысам контрольной группы (52 крысы) проводили все те же манипуляции, только проток не перевязывали, то есть имел место физиологический отток желчи в течение всего эксперимента. Спустя 2 (20 крыс), 5 (20 крыс), 10 (20 крыс), 20 (2 опытные группы – 20 крыс), 45 (20 крыс) и 90 (20 крыс) суток животных выводили из эксперимента с соблюдением требований международных конвенций о гуманном обращении с животными в условиях лабораторных исследований. Кроме того, в группе с 20-суточным холестазом животным второй опытной группы вместе с пищей давали препарат «Урсофальк», содержащий урсодезоксихолевую кислоту в количестве 10–15 мг/кг/сутки. Из гепаринизированной крови получали плазму, определение билирубина проводили общепринятыми методами лабораторной диагностики [11, т. 2, с. 222–224]. Кусочки печени и мозга после извлечения быстро помещали в жидкий азот, где хранили до момента исследования. В образцах крови и органов определяли содержание ТСП.

Причина использования нами метода Н.Ф. Лобко и соавт. [7] оценки эндогенной интоксикации объясняется его высокой чувствительностью (в 2,5 раза), по сравнению с аналогичными методами определения эндогенной интоксикации, проводимых спектрофотометрически 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 ( $\lambda = 290$  нм). Полученные данные выражали в единицах оптической плотности на один грамм белка (ед. оп. пл.  $g^{-1}$  белка). Количество белка находили микробиуретовым методом [12]. 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 их обсуждение.** Результаты исследования показали, что через 2 суток холестаза в сыворотке крови животных появляется прямой билирубин, при этом непрямой билирубин возрастает на 64 %, и соответственно, общий билирубин – на 72 % (таблица 1). Через 5 суток холестаза происходит дальнейший рост фракции прямого билирубина, по сравнению со вторыми сутками – в 2,8 раза. При этом непрямой билирубин увеличивается по сравнению с контролем в 5,3 раза, а общий – в 7,4 раза. Через 10 суток холестаза имеет место наличие прямого билирубина, возрастание непрямого – на 69 % и общего – на 104,1 %, по сравнению с контрольными значениями.

Через 20 суток холестаза у крыс в сыворотке крови прямой билирубин составляет  $8,7 \pm 4,55$  мкмоль/л. Большие значения IQR в опыте объясняются высокими колебаниями индивидуальных повышений этого показателя при холестазе у крыс (повышения колеблются от 2,6 до 10,1 мкмоль/л). Применение УДХК снижает этот показатель в 1,9 раза. Уровень непрямого билирубина снижен на 13,1 %, дача препарата уменьшает этот показатель на 25,2 %. Общий билирубин при холестазе повышен на 58,7 %, а коррекция повышает его только на 36,9 %. Таким образом, применение урсофалька вызывает некоторое улучшение исследуемых показателей сыворотки крови у холестатических животных.

Через 45 суток после перевязки общего желчного протока у выживших крыс происходит частичная нормализация данных показателей сыворотки крови. По всей видимости, имеет место неполная компенсация последствий холестаза, проявляющаяся в виде присутствия прямого билирубина в сыворотке (от 0,12 до 2,30 мкмоль/л). Хотя у отдельных животных (2 крысы) он не определяется вовсе, то есть имеет место, на наш взгляд, полная компенсация деструктивных процессов в печени, а такое возможно только при восстановлении тока желчи в 12-перстную кишку при реканализации общего желчного протока (что и показано в нашей лаборатории). Причем процесс реканализации протекает сугубо индивидуально у каждого животного. При этом непрямой билирубин остается увеличенным на 12 %, а общий – на 21 %. Через 90 суток после перевязки общего желчного протока исследованные показатели билирубина сыворотки крови полностью нормализуются. Подобная картина может говорить о восстановлении энтерогепатической циркуляции компонентов желчи в организме.

Таким образом, показатели билирубина сыворотки крови у крыс свидетельствуют о наличии холестаза с максимумом проявлений на 5 сутки, его существенным уменьшением у выживших животных на 45 сутки и полном отсутствии этих признаков на 90 сутки эксперимента.

Таблица 1. Показатели билирубина сыворотки крови в динамике подпеченочного холестаза у крыс ( $Me \pm IQR$ )

Сутки	Группа	Билирубин		
		прямой	непрямой	общий
2	контроль	–	$9,5 \pm 1,4$	$9,5 \pm 1,4$
	опыт	$8,8 \pm 4,4$	$15,6 \pm 5,2^{**}$	$25,9 \pm 4,6^{**}$
5	контроль	–	$9,2 \pm 0,41$	$9,2 \pm 0,41$
	опыт	$24,6 \pm 7,79$	$48,6 \pm 20,61^{**}$	$68,3 \pm 16,4^{**}$
10	контроль	–	$9,7 \pm 1,4$	$9,7 \pm 1,4$
	опыт	$3,4 \pm 5,9$	$16,4 \pm 3,4^*$	$19,8 \pm 7,1^{**}$
20	контроль	–	$10,3 \pm 2,4$	$10,3 \pm 2,4$
	опыт	$8,7 \pm 4,55$	$8,95 \pm 3,9$	$16,35 \pm 3,5^{**}$
	опыт+ УДХК	$4,65 \pm 4,3$	$7,7 \pm 3,7^*$	$14,1 \pm 7,1$
45	контроль	–	$9,2 \pm 2,4$	$9,2 \pm 2,4$
	опыт	$0,4 \pm 2,15$	$10,3 \pm 1,9$	$11,1 \pm 3,3^*$
90	контроль	–	$9,8 \pm 2,7$	$9,8 \pm 2,7$
	опыт	–	$9,15 \pm 1,8$	$9,15 \pm 1,8$

Примечание – \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ;

(–) – прямой билирубин отрицательный

Содержа  
ется от контр  
1–3). Через 5  
изменено, а  
лит увеличе  
соответствен  
плазме крови  
снижает уро  
блюдается н  
такое сниже  
общего жел  
уровень ТСП  
чем в контр  
печени и мо

Рисун

Рисун

Таким о  
сутки холе  
В группе с  
показателя  
первые пя



Содержание ТСП в плазме крови через 2 суток подпеченочного холестаза существенно не отличается от контроля, в печени достоверно увеличено на 37 %, а в мозге существенно не изменено (рисунки 1-3). Через 5 суток в плазме крови содержание ТСП снижено (на 43 %), в ткани печени существенно не изменено, а в ткани мозга достоверно снижено (на 17 %). Через 10 суток холестаза в плазме происходит увеличение ТСП на 14 %, а в ткани печени и мозга их содержание снижается на 10 % и 11 % соответственно. Через 20 суток перевязка общего жёлчного протока приводит к увеличению ТСП в плазме крови на 25 %, а одновременное применение УДХК предупреждает такое повышение и даже снижает уровень ТСП ниже контрольного, причем статистически достоверно. В печени при этом наблюдается незначительное уменьшение уровня ТСП (на 13 %), а применение УДХК предупреждает такое снижение. В ткани мозга также наблюдается незначительное снижение ТСП после перевязки общего жёлчного протока и предупреждение этих изменений УДХК. Через 45 суток в плазме крови уровень ТСП на 38 % выше, в ткани печени на 15 % выше (тенденция), а в ткани мозга на 22 % ниже, чем в контроле. Через 90 суток в плазме уровень ТСП остаётся повышенным (на 44 %). В ткани печени и мозга обнаружено их незначительное снижение на 10 % и 8 % соответственно.

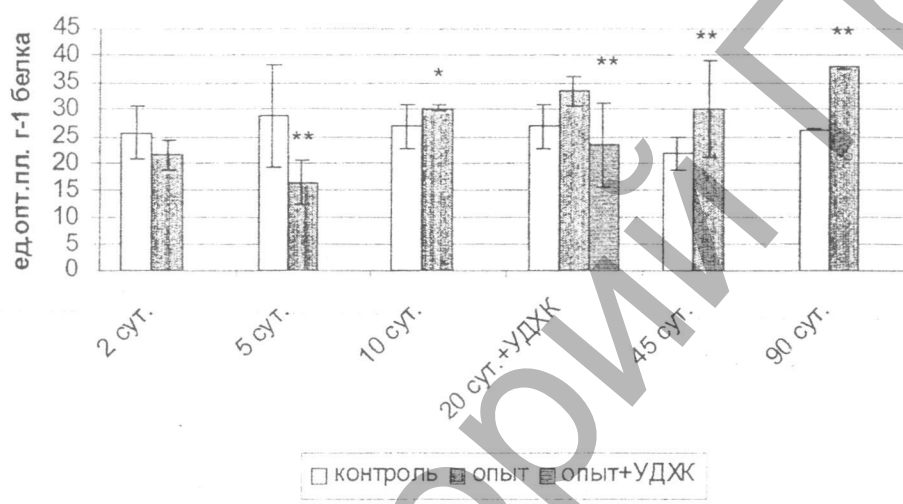


Рисунок 1 – Количество тирозинсодержащих пептидов в плазме крови крыс в динамике подпеченочного холестаза (Me±IQR). \* – p < 0,05; \*\* – p < 0,01 – по сравнению с контролем

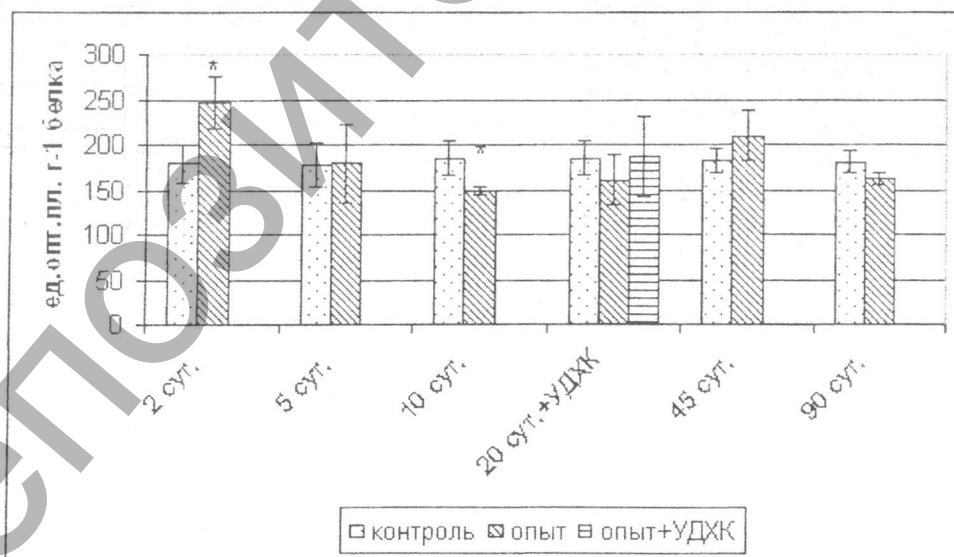


Рисунок 2 – Количество тирозинсодержащих пептидов в печени крыс в динамике подпеченочного холестаза (Me±IQR). \* – p < 0,05 – по сравнению с контролем

Таким образом, уровень ТСП плазмы крови имеет тенденцию к снижению на 2 и еще более на 5 сутки холестаза, а, начиная с 10 суток, он прогрессивно нарастает, достигая максимума на 90-е сутки. В группе с применением УДХК в течение 20 суток отмечен положительный эффект в виде снижения показателя эндогенной интоксикации. Это, возможно, связано с поглощением токсинов эритроцитами в первые пять суток. Затем происходит насыщение эритроцитов и содержание ТСП нарастает в плазме

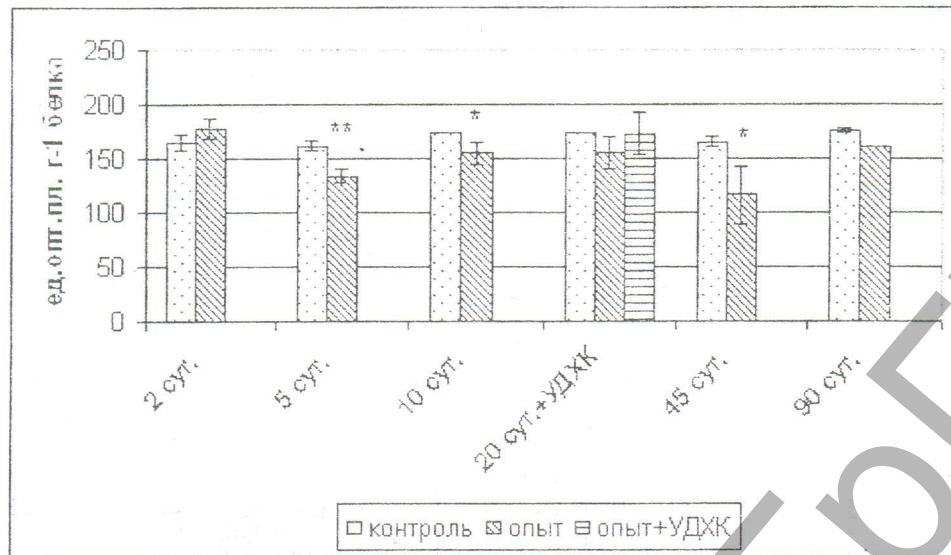


Рисунок 3 – Количество тирозинсодержащих пептидов в головном мозге крыс в динамике подпеченочного холестаза (Me±IQR). \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$  – по сравнению с контролем

крови, что мы видим на 10 сутки. Дальнейшее поступление в кровь токсических продуктов из печени и кишечника приводит к подъему их содержания в крови, но поскольку показатели билирубина к 90 суткам приходят к контрольным значениям, то, следовательно, имеют место остаточные явления вследствие перехода токсинов из эритроцитов и возрастающее накопление их в плазме при одновременном снижении детоксикационной функции печени у таких крыс, что согласуется с данными [13].

Эндогенные токсины в крови вызывают различные патологические конформации белковых молекул, усугубляя и без того тяжелые нарушения в организме при холестазах [14]. Такой метаболический «удар» берет на себя печень, что видно на 2 сутки нашего эксперимента резким повышением ТСП. Затем наступает некоторое волнообразное улучшение состояния органа. Подобная картина возможна в том случае, если у выживших крыс произошла мобилизация защитных сил печени и токсины относительно успешно в ней инактивируются.

В ткани головного мозга содержание ТСП незначительно возрастает на 2 сутки после перевязки общего желчного протока, а с 5 суток и далее, до конца эксперимента, их содержание понижено. Подобное явление можно объяснить наличием гематоэнцефалического барьера, который препятствует проникновению пептидов из крови в мозг.

Можно полагать, что при подпеченочном холестазах на первое место как повреждающий фактор выходит токсический агент. Он представлен веществами различного генеза и химической природы: это, прежде всего, компоненты желчи – желчные кислоты, холестерин, билирубин; продукты жизнедеятельности микроорганизмов кишечника (эндотоксин кишечной палочки вызывающий расстройства микроциркуляции); продукты обмена аминокислот (индол, скатол, фенол, крезол и другие) и жирового обмена (ацетон, ацетоуксусная кислота,  $\beta$ -оксимасляная кислота); биологически активные соединения, выделяющиеся при повреждении гепатоцитов – гистамин, серотонин, аденилнуклеотиды, кинины и другие. При этом подавляется моноцитарно-макрофагическая система, поскольку до 80 % макрофагов находится в печени; происходит возрастание перекисного окисления липидов клеточных мембран, с накоплением токсических продуктов, что приводит к изменению их проницаемости. Все выше перечисленные токсические агенты действуют не только прямо на все органы и системы, но оказывают рефлекторное и нейрогуморальное влияние [6; 8; 9].

**Выводы.** 1. Возрастающий уровень билирубина (особенно его прямой фракции) сыворотки крови указывает на появление неблагоприятных последствий холестаза со 2 суток после перевязки общего желчного протока. Содержание билирубина достигает максимума на 5 сутки, сохраняется повышенным до 45 суток, а к 90 суткам у выживших животных возвращается к контрольным значениям.

2. Содержание ТСП как показателя эндогенной интоксикации в плазме крови после некоторого уменьшения на 2 и 5 сутки, начиная с 10 суток и до конца эксперимента остается повышенным.

3. Уровень ТСП в печени на 2 сутки холестаза значительно возрастает, а затем постепенно снижается и нормализуется.

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

5. УДЖК оказывает положительный эффект на содержание билирубина и ТСП в организме крыс при холестазах.

1. Калн  
2007. – 602.  
2. Копи  
3. Реко  
ментальная  
4. Иваи  
5. Кизи  
путей / Л.С.  
6. Корп  
том / Е.В. К  
7. Лоби  
рилов. С.В.  
8. Rolc  
[et al.] // Res  
9. Мес  
10. Вла  
логии / А.С  
11. Кам  
Минск: Бел  
12. Плс  
Плехан // X  
13. Вед  
ва. Н.А Доб  
14. Мо  
городского

Авер Е  
Научные ру  
Я. Купалы  
ГрГМУ С.1

Емель.  
животных

Мандр  
и животны

Зиман  
гин ГрГМУ

In 150  
90 days fol  
serum, live  
cholestasis  
bilirubin an

УДК 581

Флора  
образна, ч  
В результа  
из 68 семе  
лее значи  
лекарстве  
флористи  
к семейств

К нас  
природо  
в усл  
структур



## Література

1. Калинин, А.В. Гастроэнтерология и гепатология: диагностика и лечение / А.В. Калинин, А.И. Хазанов. – М.: Миклош, 2007. – 602 с.
2. Konikof, F.M. Gallstones – approach to medical management / F.M. Konikof // *Med. Gen. Med.* – 2003. – V. 5, № 4. – P. 8.
3. Рекомендации 5 съезда научного общества гастроэнтерологов России по проблеме желчнокаменной болезни // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* – 2005. – № 4. – С. 3–4.
4. Иванченкова, Р.Л. Хронические заболевания желчевыводящих путей / Р.Л. Иванченкова. – М.: Атмосфера, 2006. – 416 с.
5. Кизюкевич, Л.С. Причины развития полиорганной недостаточности при хирургической патологии желчевыводящих путей / Л.С. Кизюкевич // *Вести НАН Беларуси (серия медицинских наук).* – 2005. – № 2. – С. 118–121.
6. Корякина, Е.В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом / Е.В. Корякина, С.В. Белова // *Научно-практическая ревматология.* – 2001. – № 1. – С. 1–10.
7. Лобко, Н.Ф. Тирозинсодержащие пептиды – новый индикатор эндогенной интоксикации организма / Н.Ф. Лобко, В.Б. Гаврилов, С.В. Конев // *Вести НАН Беларуси. Сер. мед.-биол. наук.* – 2003. – № 4. – С. 114–119.
8. Role of oxidant stress in the permeability transition induced in rat hepatic mitochondria by hydrophobic bile acids / R.J. Sokol [et al.] // *Pediatr. Res.* – 2001. – Vol. 49. – P. 519–531.
9. Mechanisms of hepatotoxicity / H. Jaeschke [et al.] // *Toxicol. Sci.* – 2002. – Vol. 65. – P. 166–176.
10. Владыка, А.С. Средние молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии / А.С. Владыка [и др.] // *Анестезиология и реаниматология.* – 1987. – № 2. – С. 37–42.
11. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т. / В.С. Камышников. – Минск: Беларусь, 2002.
12. Плехан, М.И. Спектрофотометрия биуретовых комплексов как метод исследования полипептидов и белков / М.И. Плехан // *Химия белка.* – М., 1961. – С. 191–195.
13. Ведунова, М.В. Уровень эндогенной интоксикации при метаболическом синдроме / М.В. Ведунова, К.Н. Конторщикова, Н.А. Добротина // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского.* – 2008. – № 2. – С. 87–90.
14. Морфологический анализ плазмы крови при эндогенной интоксикации / Л.М. Обухова [и др.] // *Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского.* – 2007. – № 6. – С. 104–107.

Поступила в редакцию 12.01.2009.

**Авер Валерия Витольдовна**, аспирант кафедры зоологии и физиологии человека и животных ГрГУ им. Я. Купалы. Научные руководители – кандидат медицинских наук, доцент кафедры зоологии и физиологии человека и животных ГрГУ им. Я. Купалы С.В. Емельянич; доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ С.М. Зиматкин.

**Емельянич Сергей Владимирович**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры зоологии и физиологии человека и животных ГрГУ им. Я. Купалы.

**Мандрик Константин Александрович**, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии и физиологии человека и животных ГрГУ им. Я. Купалы.

**Зиматкин Сергей Михайлович**, доктор биологических наук, профессор, зав. кафедрой гистологии, цитологии и эмбриологии ГрГМУ.

In 150 albino rats mails of 200–250 g the ligation of the main bile duct or false operations has been carried out. 2, 5, 10, 20, 45 and 90 days following the operations the estimation of endogenous intoxication on the content of tyrosine containing peptides in blood serum, liver and brain has been performed. The changes of this parameter of endogenous intoxication in dynamics of subhepatic cholestasis have been shown. The administration of ursodisoxicholic acid tended to promote normalization of the content of blood bilirubin and tyrosine containing peptides in cholestasis.

УДК 581.9

**О.В. Созинов, Р.В. Цвирко, А.В. Пучило**

## ФЛОРИСТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ ЗАКАЗНИКА РЕСПУБЛИКАНСКОГО ЗНАЧЕНИЯ «ОМГОВИЧСКИЙ»

Флора республиканского заказника «Омговичский» (Минская область Беларуси) весьма представительна, богата и разнообразна, что обусловлено многообразием биотопов и растительных сообществ (лесных, болотных, водных и околотовных). В результате флористических исследований, проведенных на территории заказника, выявлено 303 вида сосудистых растений из 68 семейств. Отмечен один охраняемый вид – *Huperzia selago* и 6 таксонов, требующих профилактической охраны. Наиболее значимые площади по лекарственному сырью формируют *Ledum palusire* и *Vaccinium myrtillus*. Выявлено 45 видов лекарственных сосудистых растений, применяемых в научной медицине Республики Беларусь, что составляет около 15 % всего флористического состава растительного покрова заказника. Наибольшее количество лекарственных растений относится к семействам Asteraceae, Ericaceae, Rosaceae и Salicaceae.

К настоящему времени в Беларуси существует достаточно большое количество функционирующих природоохранных территорий и объектов различных категорий, одной из важнейших задач которых [4] в условиях нарастающих антропогенных воздействий на природные экосистемы, влекущих за собой структурные преобразования и деградацию наиболее ценных природных комплексов с редкими и исче-