

УДК 616-092+616.24+616.37-002+616-08

## РОЛЬ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ L-АРГІНІН ІНДУКОВАНОМУ ПАНКРЕАТИТІ ТА ПРИ КОРЕКЦІЇ ДЕКСАМЕТАЗОНОМ

**Черкасова В.В.**

*ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”*

*e-mail: kaliostrovik85@gmail.com*

У статті представлені результати дослідження проведеного на 82 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, яким було змодельовано гострий панкреатит (ГП) та проведено дексаметазонову корекцію. У крові тварин через 12, 24 та 48 годин визначали вміст молекул середньої маси (МСМ) для оцінки стану ендогенної інтоксикації (ЕІ).

Встановлено, що розвиток ГП супроводжує масове виділення трипсину, яке призводить до руйнування протеїнового компоненту мембран клітин різних органів, на що вказує елевація рівня МСМ<sub>2</sub> при довжині хвилі 280 нм. У свою чергу це сприяє масовому вивільненню нуклеопротеїнового компоненту (МСМ<sub>1</sub> при довжині хвилі 254 нм), що супроводжує розвиток резорбційно-некротичних змін у підшлунковій залозі та інших органах.

Окрім того доведено, що при введенні дексаметазону на початкових етапах розвитку ГП відбувається сповільнення процесів ЕІ, тоді як відтерміноване введення препарату не супроводжується вірогідним зниженням ендотоксемії.

**Ключові слова:** гострий панкреатит, ендогенна інтоксикація, молекули середньої маси, щурі.

### Актуальність дослідження

Аналіз літературних джерел свідчить, що незважаючи на значний прогрес у вивченні гострого панкреатиту (ГП), він залишається одним з найважчих критичних станів, про що свідчить рівень смертності, який сягає 60% і не має тенденції до зниження. Однією із головних причин високої летальності є те, що це захворювання з великою мінливістю тяжкості перебігу. Важка форма ГП характеризується панкреонекрозом, який супроводжується запальними реакціями, ферментемією, активацією цитокінів та синдромом загальної інтоксикації. Всі ці патогенетичні ланки можуть призводити до поліорганної недостатності, яка часто розвивається в перші 12-48 години від початку дії ушкоджуючого фактора [1].

Так, В.С. Савельєв та співавтори запропонували окремо виділити токсемічні ускладнення ГП, до яких відно-

сять [2]: панкреатогенний шок; ускладнення з боку дихальної системи (панкреатогенний пневмоніт, плеврит, гострий респіраторний дистресс синдром); ускладнення з боку печінки, нирок та травного тракту (панкреатогенна токсична дистрофія печінки та нирок, панкреатогенний ерозивно-геморагічний гастроентерит); ускладнення з боку ЦНС (панкреатогенний деліріозний синдром, панкреатогенна кома); панкреатогенна деструкція кістково-суглобового апарату [3].

При патологічних процесах, які супроводжуються ендогенною інтоксикацією (ЕІ), у біологічних рідинах організму накопичується значна кількість продуктів метаболізму, більшість з яких входить до молекул середньої маси (МСМ), тобто речовин середньої молекулярної маси від 300 до 5000 Д. Більшу частину МСМ складають пептиди, глікопептиди, ендорфіни, аміноцукри, поліаміни, інсулін, глюкагон, адренкортикотропний гормон,

вазопресин, окситоцин, ангіотензин, ліпофусцин, атерогенно окислені ліпопротеїди, нуклеотиди, продукти деградації фібриногену, альбуміну, тромбіну, фрагменти колагену, а також похідні ліпідів, фосфоліпідів та ін. Даний показник використовується як маркер ендотоксемії різного генезу для визначення ступеня тяжкості патологічного процесу та можливих ускладнень [4]. Відповідно до вище зазначеного, уніфікованими маркерами інтоксикаційного синдрому можна запропонувати МСМ.

Ефективними речовинами, які зменшують активність запальних процесів та можуть попереджувати токсичне ушкодження багатьох органів при ГП є препарати глюкокортикоїдів, зокрема дексаметазон.

**Метою роботи** було встановити закономірності розвитку ендогенної інтоксикації при гострому L-аргінін індукованому панкреатиті та за умов дексаметазонавої корекції.

#### Матеріали та методи

Дослідження проводилися на 82 білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-220 г, що утримувались на стандартному раціоні з вільним доступом до води. Тварини були розділені на 4 групи: I – інтактна група тварин ( $n = 10$ ); II – контрольна ( $n = 10$ ), внутрішньоочеревинно вводили фізіологічний розчин, з розрахунку 1 мл на 100 г маси щура; III – з моделлю гострого панкреатиту ( $n = 32$ ), IV – з експериментальним ГП та корекцією препаратом «Дексаметазон», («Дарниця», Київ, Україна) ( $n = 30$ ). Всі дослідження проводили під загальним знечуженням, з використанням кетаміну (40 мг/кг). Утримання тварин та маніпуляції проводилися у відповідності до положень Закону України «Про захист тварин від жорстокого відношення» (N 1759-VI від 15.12.2009). Після закінчення експерименту всі тварини піддавалися евтаназії.

Експериментальний панкреатит відтворювали двома внутрішньоочеревинними ін'єкціями 20% розчину L-аргі-

ніну в сумарній дозі 5 г/кг з одногодинним інтервалом. Розчин дексаметазону вводили внутрішньом'язево з розрахунку 1мл на 100 г. Препарат вводили тваринам із модельованим ГП за 1 годину до забору матеріалу (на 11, 23 та 47 год). Забір крові для біохімічного дослідження проводили через 12, 24 та 48 годин від початку експерименту.

Оцінку стану ендогенної інтоксикації проводили за визначенням вмісту МСМ у крові щурів за модифікованим методом Н.І. Габріелян і співавторів (1981 р.) [5]. Метод базується на осадженні високомолекулярних пептидів і білків біологічних рідин з використанням трихлороцтової кислоти і кількісним визначенням в отриманому центрифугуванням супернатанті середньомолекулярних пептидів за поглинанням в монохромному потоці світла при довжині хвилі 254 нм та 280 нм. Відповідно, МСМ<sub>1</sub> (254 нм – ідентифікується нуклеопротеїновий компонент) та МСМ<sub>2</sub> (280 нм – продукти протеолізу білків).

Отримані дані обробляли із застосуванням непараметричних критеріїв на персональному комп'ютері за допомогою програми «Statistica 7» («Statsoft, Inc.» – США). Достовірність оцінювали за критерієм Вілкоксона. Відмінності вважались достовірними, якщо величина P складала 95% і більше ( $p < 0,05$ ).

#### Результати дослідження та їх обговорення

Проведені біохімічні дослідження свідчать про інтенсифікацію процесів EI вже протягом перших 12-ти годин, на що вказують збільшення рівня МСМ в сироватці крові ( $p < 0,05$ ) у порівнянні з контролем в обох дослідних групах. Так, у III групі тварин МСМ<sub>1</sub> та МСМ<sub>2</sub> достовірно зростали в 1,7 рази (рис. 1 та рис. 2). Тоді як за умов корекції дексаметазоном відзначався значно нижчий приріст: МСМ<sub>1</sub> – всього на 9,5% ( $p > 0,05$ ), що на 44,25% ( $p < 0,05$ ) нижче як у щурів з ГП (рис. 3). При цьому елевація МСМ<sub>2</sub> – 16,61% ( $p > 0,05$ ), а це на 31,6% ( $p < 0,05$ ) менше як у III групі (рис. 4), що вказує

на доцільність раннього застосування дексаметазону, і є вагомим профілактичним фактором щодо ушкодження дезінтоксикаційних систем організму [5].

Найбільш виражені зміни щодо вмісту обох фракцій середньомолекулярних пептидів спостерігали через 24 год від початку дослідження у тварин з експериментальним ГП. Встановлено достовірний їх приріст, при цьому  $MCM_1$  – у 2,4 рази, а  $MCM_2$  – у 2,2 рази. З продовженням терміну дослідження у IV групі також відзначалось інтенсифікація процесів EI – у 2,4 ( $p < 0,05$ ) та 2,3 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно. Так, оскільки MCM “ маркери

ендотоксикозу, то різке зростання їх вмісту вказує на пік розвитку та генералізації синдрому EI. Інтоксикаційний синдром спричинений вивільненням панкреатичних ферментів, таких як трипсин, амілаза, фосфоліпази та інші, стимулює підвищений розпад тканин, посилення катаболічних процесів, внаслідок накопичення надлишкової кількості біологічно активних речовин, деформованих білкових метаболітів та інших токсичних речовин ендогенного походження [6].

Наступний етап експерименту супроводжувався зниженням інтенсивності розвитку ендотоксемії, про що свідчать наступні значення MCM на 48 год: у III групі  $MCM_1$  зростили всього на 7,5% ( $p > 0,05$ ), а  $MCM_2$  – на 8,6% ( $p > 0,05$ ) порівняно з даними на 24 год. Подібна тенденція недостовірного зростання MCM відзначалась і за умов дексаметазонової корекції у тварин з ГП, хоча показники  $MCM_1$  і  $MCM_2$  зростили відносно контролю у 2,6 та 2,3 рази ( $p < 0,05$ ) відповідно, що може вказувати на активацію компенсаторних механізмів.

Варто зазначити, що розпад білкових молекул, внаслідок якого утворюються MCM, відбувається при дії протеїназ. У результаті проведених досліджень відмічено їх превалювання при довжині хвилі 254 нм, які свідчать про деструктивно-некротичні зміни за рахунок елевації нуклеопротейнового компоненту, що також відповідає літературними даними [7]. Тоді як показники  $MCM_2$ , при довжині хвилі 280 нм, що відображають продукти протеолізу білків, зростили з менш вираженою інтенсивністю, що переважає з даними ряду науковців [8].

Оскільки рівень MCM за-

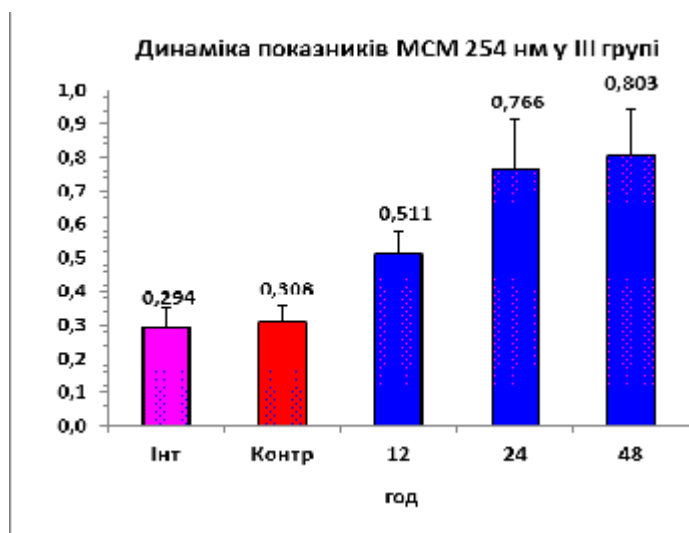


Рис. 1. Графічний аналіз рівня середньомолекулярних пептидів ( $MCM_1$ ) у щурів при експериментальному гострому панкреатиті

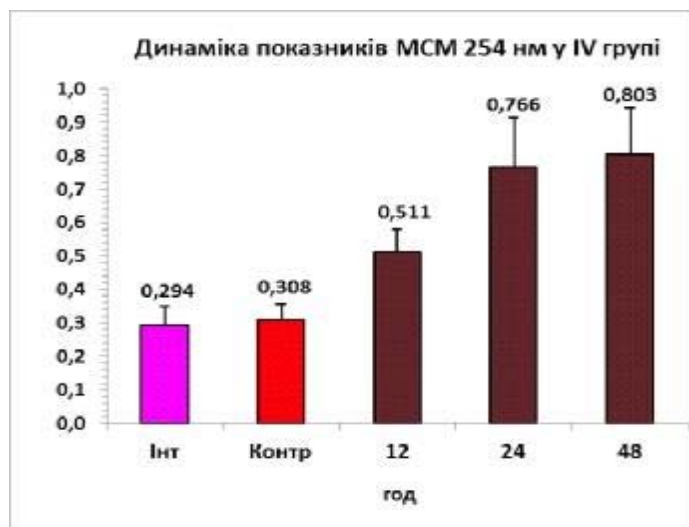


Рис. 2. Графічний аналіз рівня середньомолекулярних пептидів ( $MCM_1$ ) у щурів при експериментальному гострому панкреатиті та за умов корекції дексаметазоном

лежить, з одного боку, від інтенсивності розпаду біополімерів, а з іншого – від зменшення швидкості їх виведення через органи дезінтоксикації, такі як нирки та печінка, можна припустити порушення обох складових цього процесу. Таким чином, отримані дані підтверджують залежність ступеня EI від тривалості та активності патологічного процесу і співпадають з типовою динамікою відносно інших патологічних станів [9, 10].

### Висновки

Отримані результати дослідження показали, що гострий L-аргінін індукований панкреатит супроводжується інтенсивною ендogenous інтоксикацією, яка може приводити до ушкодження різних органів та систем.

Оскільки при ГП значно виражена ферментемія, масове виділення трипсину, що призводить до руйнування протеїнового компоненту мембран клітин різних органів, внаслідок цього відбувається масове вивільнення нуклеопротеїнового компоненту, що супроводжує розвиток резорбційно-некротичних змін у підшлунковій залозі та в паренхіматозних органах таких як легені, печінка, нирки.

Доведено, що при введенні дексаметазону на початкових етапах розвитку ГП відбувається сповільнення процесів EI, тоді як відтерміноване введення препарату не супроводжується вірогідним зниженням ендотоксемії.

### Література

1. Down-regulation of tumor necrosis factor-associated factor 6 is associated with progression of acute pancreatitis complicating lung injury in mice / Xiangyu Zhou, Yuan Li, Junli Ding [at al.] // Exp.

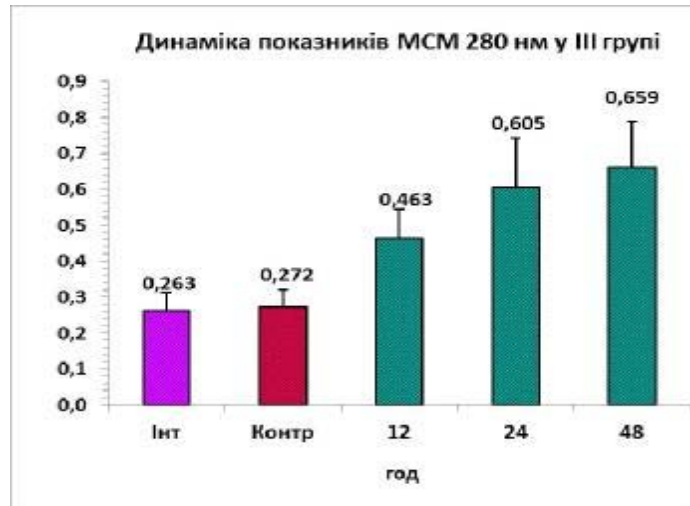


Рис. 3. Графічний аналіз рівня середньомолекулярних пептидів (MCM<sub>2</sub>) у щурів при експериментальному гострому панкреатиті

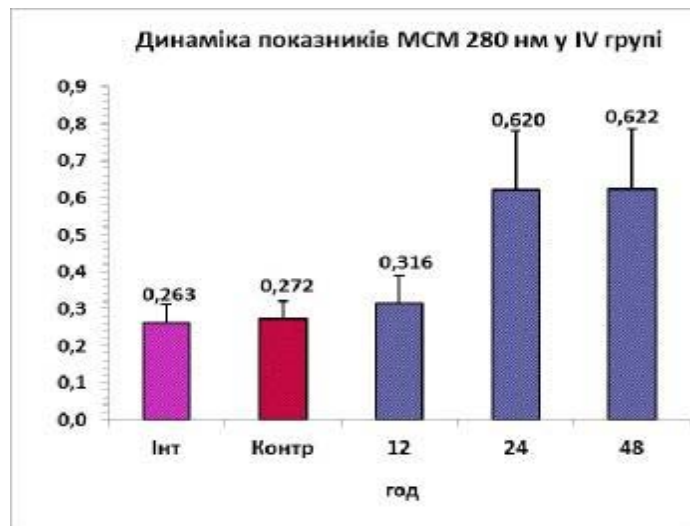


Рис. 4. Графічний аналіз рівня середньомолекулярних пептидів (MCM<sub>2</sub>) у щурів при експериментальному гострому панкреатиті та за умов корекції дексаметазоном

Med. – 2009. – №217. – Р. 279–285.

2. Савельєв В.С. Острый панкреатит. – Медицина, Москва, 1983. – 240с.
3. Орел В.В. Прогнозування розвитку ускладнень гострого панкреатиту в ранній післяопераційний період / В.В. Орел // Український медичний часопис. – 2003. – №6 (38). – С. 120–122.
4. Андрейчин М.А. Методи дослідження ендogenous інтоксикації організму. Методичні рекомендації МОЗ України. / М.А. Андрейчин, М.Д. Бех, В.В. Дем'яненко, А.З. Ничик, Н.А. Ничик // — Київ, 1998. — С. 1–31
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. – 3-е изд. – М.

- : МЕДпресс-информ, 2009. – 896с.
6. Кузьмак І.П. Динаміка показників ендогенної інтоксикації у щурів різного віку за умов гострого отруєння токсинами білої поганки. / І.П. Кузьмак, І.М. Кліщ, О.З. Яремчук // Науковий вісник Ужгородського університету. – 2012. – № 33. – С. 154–157.
  7. Попадинець О.Г. Взаємозв'язок структурних змін у стінці сечового міхура під впливом різноманітних факторів із біохімічними процесами. / О.Г. Попадинець, А.М. Ерстенюк // Архів клінічної медицини. – 2012. – № 1 (18). – С. 72–77.
  8. Вміст молекул середньої маси та олигопептидів у крові та тканинах щурів за умов розвитку кислотного опіку стравоходу. / Т.В. Коваль, Т.В. Іщук, Я.Б. Раєцька [ та ін. ] // Біологічні системи. – 2015. – Т. 7., № 2. – С. 143–148.
  9. Харченко О. Вміст трипсиноподібних ферментів і молекул середньої маси плазми крові як потенційні маркери хронічної алкогольної інтоксикації. / Харченко О. // Біологія. – 2014. – № 3 (68). – С. 61–64.
  10. Gerasymchuk M.R., Klishch I.P., Varnava N.Ya. Place of endogenous intoxication at an early stage of development of the critical states of various etiologies. *Inter-Medical*; 2015, 3(9). – P. 21 – 24.
  - intoxication in rats of different ages under conditions of acute poisoning by toadstool. / I.P. Kuzmak, I.M. Klishch, O.Z. Yaremchuk // *Scientific bulletin of the Uzhgorod university*. – 2012. – №33. – С. 154–157. (in Ukrainian)
  7. Popadynets O.G. The relationship of structural changes in the bladder wall under the influence of various factors of biochemical processes. / O.G. Popadynets, A.M. Ersteniuk // *Archives of clinical medicine*. – 2012. – №1 (18). – P. 72–77. (in Ukrainian)
  8. The content of the middle mass molecules and oligopeptides in blood and tissues of rats under conditions of acid burn of the esophagus. / T.V. Koval, T.V. Ishchuk, Y.B. Rayetska [at all.] // *Biological systems*. – 2015. – V. 7., № 2. – P. 143–148. (in Ukrainian)
  9. Harchenko O. Content of trypsin-like enzymes and middle mass molecules in plasma as potential markers for chronic alcohol intoxication. / O. Harchenko // *Biology*. – 2014. – №3(68). – P. 61–64. (in Ukrainian)
  10. Gerasymchuk M.R. Place of endogenous intoxication at an early stage of development of the critical states of various etiologies. / M.R. Gerasymchuk, I.P. Klishch, N.Y Varnava // *Inter-Medical*. – 2015. – №3 (9). – P. 21 – 24.

### References

1. Down-regulation of tumor necrosis factor-associated factor 6 is associated with progression of acute pancreatitis complicating lung injury in mice / Xiangyu Zhou, Yuan Li, Junli Ding [at al.] // *Exp. Med*. – 2009. – №217. – P. 279–285.
2. Savelyev V.C. *Acute pancreatitis*. – Medicine, Moscow, 1983. – P. 240. (in Russian)
3. Orel V.V. Prediction of complications of acute pancreatitis in the early postoperative period. / V.V. Orel // *Ukrainian Medical Journal*. – 2003. – №6 (38). – P. 120–122. (in Ukrainian)
4. Andreychyn M.A. *Methods of endogenous intoxication. Guidelines Ministry of Health of Ukraine*. / M.A. Andreychyn, M.D. Beh, V.V. Demyanenko, A.Z. Nychyk, N.A. Nychyk // — Kiev, 1998. — P. 1–31. (in Ukrainian)
5. Kamyshnikov V.S. *Handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnostics*. – 3-rd edition. – M. : MEDpress-inform, 2009. – P. 896. (in Russian)
6. Kuzmak I.P. The dynamics of endogenous

### Резюме

РОЛЬ МОЛЕКУЛ СРЕДНЕЙ МАССЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ L-АРГИНИН ИНДУЦИРОВАННОМ ПАНКРЕАТИТЕ И ПРИ КОРРЕКЦИИ ДЕКСАМЕТАЗОНОМ

*Черкасова В.В.*

В статье представлены результаты исследования, проведенного на 82 белых крысах-самцах линии Вистар массой 180-220 г, которым был смоделирован острый панкреатит (ОП) и проведена коррекция дексаметазоном. В крови животных через 12, 24 и 48 часов определяли содержание молекул средней массы (МСМ) для оценки состояния эндогенной интоксикации (ЭИ).

Установлено, что развитие ОП сопровождается массовым выделением трипсина, которое приводит к разрушению протеинового компонента мембран клеток различных органов, на что указывает элевация уровня МСМ<sub>2</sub> при длине

волны 280 нм. В свою очередь это способствует массовому высвобождению нуклеопротеинового компонента (МММ<sub>1</sub> при длине волны 254 нм), сопровождает развитие резорбционно-некротических изменений в поджелудочной железе и других органах.

Кроме того доказано, что при введении дексаметазона на начальных этапах развития ОП происходит замедление процессов ЭИ, тогда как отсроченное введение препарата не сопровождается вероятным снижением эндотоксемии.

**Ключевые слова:** острый панкреатит, эндогенная интоксикация, молекулы средней массы, крысы.

#### Summary

ROLE OF MIDDLE MASS MOLECULES IN EXPERIMENTAL L-ARGININE INDUCED PANCREATITIS AND THE CORRECTION BY DEXAMETHASONE

*Cherkasova V.V.*

The article presenting the results of research on 82 white male rats of Wistar line weight 180-220 g, on which was modeled acute pancreatitis (AP) and correction by dexamethasone. Animal blood samples were taken on 12, 24 and 48 hours of AP

to determine the content of middle mass molecules (MMM) for the assessment of endogenous intoxication (EI).

It was established that the development of AP accompanies massive release of trypsin, which leads to the destruction of protein components of cell membranes in various organs, as indicated by the elevation of MMM<sub>2</sub> at a wavelength of 280 nm. In turn, this contributes to the massive release nucleoprotein component (MMM<sub>1</sub> at a wavelength of 254 nm) that accompanies the development of resorptive-necrotic changes in the pancreas and other organs.

Also demonstrated, that after administered dexamethasone in the early stages of the AP, is slowing EI process, while the postponed introduction of the drug is not accompanied by a probable decrease of endotoxemia.

**Key words:** acute pancreatitis, endogenous intoxication, middle mass molecules, rats.

*Впервые поступила в редакцию 20.04.2017 г.  
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*

УДК 616.33: 342.092

## ДИСБИОТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО НЕАЛКОГОЛЬНОГО СТЕАТОГЕПАТИТА

**Левицкий А.П.<sup>1</sup>, Гоженко А.И.<sup>2</sup>, Левченко Е.М.<sup>3</sup>, Васюк В.Л.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины» (г. Одесса); flavan@mail.ru

<sup>2</sup>ГУ «Украинский НИИ медицины транспорта МЗУ» (г. Одесса)

<sup>3</sup>КУ «Одесская областная клиническая больница»

<sup>4</sup>Буковинский государственный медицинский университет (г. Черновцы)

Высокожировой рацион в сочетании с кишечным дисбиозом вызывает развитие стеатогепатита, что указывает на целесообразность использования для его профилактики антидисбиотических средств.

**Ключевые слова:** высокожировой рацион, кишечный дисбиоз, неалкогольный стеатогепатит.