

## ИЗМЕНЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА И МЕТАБОЛИЗМА ХОЛЕСТЕРИНА ЛИПОПРОТЕИНОВ КРОВИ У КРЫС ПРИ ПЕРИТОНИТЕ

Чепелева Е.Н., Висмонт Ф.И.

*Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра патологической физиологии, г. Минск*

**Ключевые слова:** перитонит, холестерин, липопротеины, температура тела, коэффициент атерогенности.

**Резюме:** целью исследования явилось выяснение особенности метаболизма холестерина липопротеинов крови у крыс при экспериментальном (CLP) перитоните. Установлено, что в условиях перитонита у крыс происходит снижение температуры тела и выраженные изменения содержания холестерина липопротеинов крови: снижение содержания холестерина ЛПВП крови и повышение уровня холестерина суммарной фракции ЛПОНП + ЛПНП и коэффициента атерогенности, что свидетельствует о развитии вторичной атерогенной дислипопroteinемии.

**Resume:** the aim of the study was to elucidate the features of the metabolism of blood lipoprotein cholesterol in rats with experimental (CLP) peritonitis. It was found that under the conditions of peritonitis in rats, there is a decrease in body temperature and pronounced changes in the content of blood lipoprotein cholesterol: a decrease in the content of HDL cholesterol in the blood and an increase in the level of cholesterol in the total fraction of VLDL + LDL and an atherogenic coefficient, which indicates the development of secondary atherogenic dyslipoproteinemia.

**Актуальность.** В настоящий момент остро стоит проблема лечения сепсиса. Перитонит, будучи самым частым и наиболее опасным осложнением острых хирургических, гинекологических заболеваний и повреждений органов брюшной полости и оперативных вмешательств на них, является широко распространенной патологией, представляющей серьезную как медицинскую, так и социальную проблему [1, 2]. Летальность в терминальных стадиях данного заболевания может достигать 50-70% [1, 3]. Перитонит рассматривается как воспаление брюшины, представленное комплексом тяжелых патофизиологических реакций с нарушением деятельности всех органов и систем организма [4].

В развитии перитонита имеют значение множество факторов и механизмов, обуславливающих перестройку регуляторных процессов основных физиологических и метаболических составляющих жизнедеятельности организма [5]. Такое многообразие патогенетических механизмов перитонита обуславливает многообразие его форм, степеней тяжести, особенностей воспалительных реакций [6].

По современным представлениям сепсис является острой полиорганной недостаточностью, вызванной неадекватным ответом иммунной системы. Пусковым механизмом развития генерализованного воспаления является продолжение продукции медиаторов воспаления после элиминации первичного антигена, инициировавшего воспаление [1].

Поиск путей коррекции основных жизненных функций и обмена веществ при септических состояниях является одной из актуальных задач современной медицины. Исследования последних лет позволили установить, что течение и исход инфекционно-септических заболеваний во многом зависят от состояния обмена

липопротеинов плазмы крови [7, 8, 9]. Так, показано, что ЛП различных классов, связывая поступающие в кровоток токсины, участвуют в процессах детоксикации и их последующей элиминации из организма [5, 8]. Холестерин (ХС) ЛП, являясь важнейшим фактором поддержания физико-химических свойств и функций клеточных мембран, основным субстратом для стероидогенеза, обеспечивает формирование компенсаторного ответа организма на инфекцию [8]. Однако особенности нарушений метаболизма ХС ЛП крови и температуры тела при CLP-перитоните остаются во многом не изученными.

**Цель:** выявить особенности метаболизма холестерина липопротеинов крови у крыс при экспериментальном (CLP) перитоните.

**Материал и методы.** Опыты выполнены на базе вивария учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет» на взрослых белых крысах обоих полов массой 180-250 г. с соблюдением всех правил проведения работ при использовании экспериментальных животных.

Животные до постановки эксперимента в течение 2-3 недель адаптировались к условиям вивария. Температура воздуха в виварии поддерживалась на уровне 20-22°C, что находится в пределах термонейтральной зоны для крыс. При выполнении работы особое внимание было уделено содержанию животных. Соблюдались адекватные световой и шумовой режимы. В связи с тем, что в литературе имеются данные о значительных колебаниях уровней гормонов и биогенных аминов в крови животных в течение суток, которые сопровождаются изменениями в энергетическом и пластическом обмене, опыты проводили в строго определенное время (8-12 часов утра). Оценивали общее состояние, внешний вид и поведение экспериментальных животных. Эксперименты на крысах проводились в соответствии с этическими нормами обращения с животными, а также требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей».

Животные поступали в опыты после 10-12 часового ночного голодания. Голодание, являясь важным фактором стандартизации условий эксперимента, обеспечивало нивелирование индивидуальных особенностей обмена веществ, связанных с всасыванием жиров и углеводов в кишечнике и способствовало выявлению сдвигов в энергетическом и пластическом обмене в условиях истощения резервов питательных веществ.

Для создания экспериментального перитонита использована модель лигирования и последующего однократного пунктирования слепой кишки – *cecal ligation and puncture (CLP)* [10]. Для этого крыс наркотезировали гексеналовым наркозом (100 мг/кг, внутривенно). После бритья брюшка проводили антисептическую обработку операционного поля спиртовым раствором хлоргексидина 0,5%. В асептических условиях выполняли двухсантиметровый разрез передней брюшной стенки, через который извлекали слепую кишку. Затем ниже илеоцекального клапана на кишку накладывали лигатуру и однократно пунктировали ее иглой диаметром 1,3 мм (18 gauge). Пассаж пищевых масс при этом не нарушался. По данным литературы, через 18-24 часа после (CLP) операции у животных развивается тяжелый полимикробный сепсис, который сопровождается выраженной полиорганной недостаточностью [10]. В качестве контроля

использовали ложнопериорированных крыс, которым под наркозом проводили разрез передней брюшной стенки без извлечения и пунктирования слепой кишки. Всем животным через 30 мин после оперативного вмешательства подкожно вводили 2,5 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Ректальную температуру крыс (в прямой кишке на глубине 3,0 см) измеряли электротермометром «Microlife» (Швейцария) непосредственно перед декапитацией. Электротермометр «Microlife» предназначен для измерения температуры тела в диапазоне от 32,0°С до 43,9°С. Измерение основано на уравнивании температур в прямой кишке и измерительного датчика электротермометра в течение определенного времени, которое устанавливается автоматически и заканчивается после появления звукового сигнала.

Декапитацию животных проводили через 20 часов после лигирования и пунктирования слепой кишки или ложной операции. Взятие для исследования крови, ткани печени у контрольных и опытных животных проводилось за максимально возможно короткое время после декапитации.

Кровь собирали в охлажденные центрифужные пробирки и через 20 мин после образования сгустка центрифугировали при 3000 об/мин в течение 20 мин. Полученная сыворотка в дальнейшем использовалась для выделения липопротеинов.

Суммарную фракцию ЛПОНП и ЛПНП выделяли из сыворотки крови осаждением по методу M. Burstein, J. Samaille (1955 г.). Принцип метода основан на способности апоВ-содержащих липопротеинов (ЛПОНП и ЛПНП) образовывать нерастворимые комплексы с гепарином в присутствии солей марганца, которые осаждаются центрифугированием; в надосадочной жидкости остаются ЛПВП.

Для определения содержания общего холестерина, холестерина ЛПВП в сыворотке крови и холестерина в тканевых гомогенатах проводили экстракцию липидов по методу М. А. Креховой, М. К. Чехрановой. Метод обеспечивает полную экстракцию холестерина и его эфиров из крови и тканей. Принцип метода основан на способности общих липидов, в том числе свободного холестерина и его эфиров, переходить из водных растворов в состав органических растворителей (гексана).

Содержание холестерина в сухих липидных экстрактах сыворотки крови определяли с использованием реакции Либермана-Бурхарда. Принцип метода заключается в том, что холестерин, взаимодействуя с уксусным ангидридом, уксусной и концентрированной серной кислотами, дает изумрудно-зеленое окрашивание раствора, интенсивность которого пропорциональна содержанию холестерина.

Расчет содержания холестерина суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП проводили по формуле: холестерин ЛПОНП+ЛПНП = общий холестерин сыворотки крови – холестерин ЛПВП.

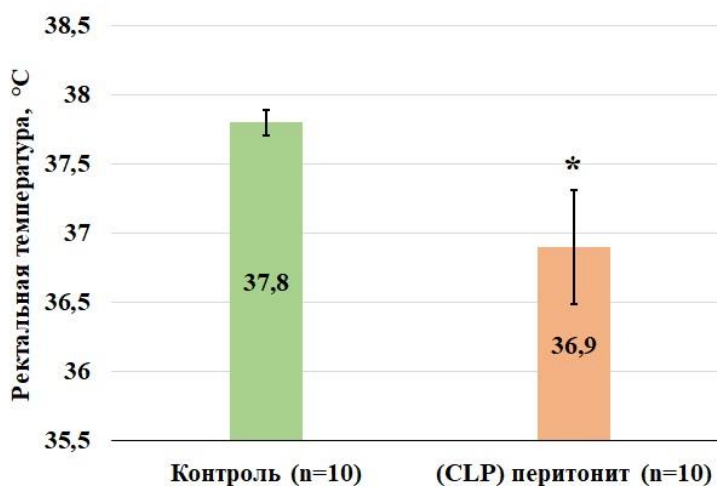
Расчет коэффициента атерогенности проводили по формуле: коэффициент атерогенности = ХС ЛПОНП+ЛПНП / ХС ЛПВП. Полученное значение выражали в условных единицах.

Достоверность различий между двумя группами показателей оценивали по критерию Стьюдента для независимых выборок. Данные представлялись в виде

среднего арифметического и ошибки среднего арифметического ( $X \pm S_x$ ). Результаты считали статистически значимыми при значениях  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Опыты показали, что через 20 часов после (CLP) операции у всех крыс развиваются некроз слепой кишки, перитонит с выпотом в брюшную полость, парез кишечника; выраженные признаки генерализованной воспалительной реакции: адинамия, вялость, в большинстве случаев – геморрагический конъюнктивит и диарея.

Установлено, что в условиях экспериментального (CLP) перитонита ректальная температура крыс снижается на  $0,9^\circ\text{C}$ : с  $37,8 \pm 0,09^\circ\text{C}$  до  $36,9 \pm 0,41^\circ\text{C}$  ( $p < 0,05$ ;  $n=10$ ) (рисунок 1).

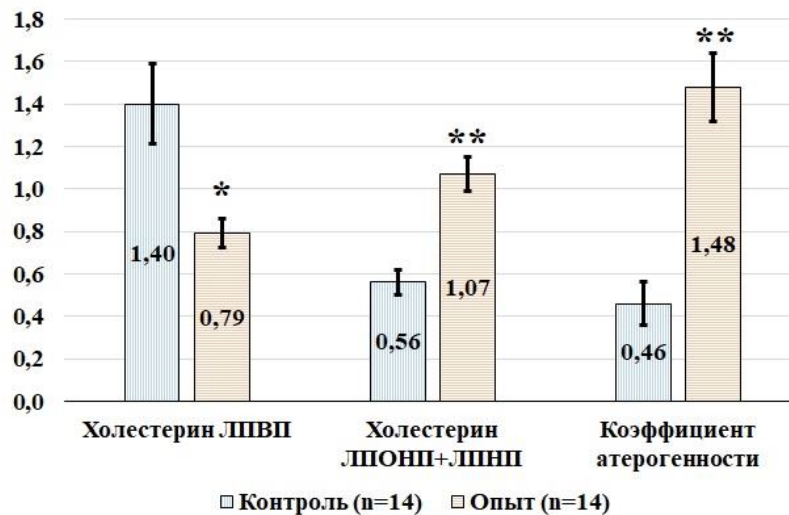


**Рис. 1**– Изменение температуры тела у крыс в условиях экспериментального (CLP) перитонита:  
\* –  $p < 0,05$

Гипотермию в условиях CLP (перитонита) можно рассматривать как проявление синдрома системного воспаления, развивающегося в условиях бактериальной эндотоксинемии.

Содержание общего холестерина в печени крыс увеличивается на 11,4%: с  $0,290 \pm 0,007$  до  $0,323 \pm 0,014$  мг/100 мг ткани ( $p < 0,05$ ;  $n=14$ ).

Выявлено, что в условиях экспериментального (CLP) перитонита, происходят выраженные изменения содержания холестерина различных классов липопротеинов сыворотки крови крыс: снижается содержание холестерина ЛПВП на 43,6%: с  $1,40 \pm 0,19$  до  $0,79 \pm 0,07$  ммоль/л ( $p < 0,01$ ;  $n=14$ ), повышается уровень холестерина ЛПОНП+ЛПНП на 91,1%: с  $0,56 \pm 0,06$  до  $1,07 \pm 0,08$  ммоль/л ( $p < 0,001$ ;  $n=14$ ) и коэффициент атерогенности на 221,7%: с  $0,46 \pm 0,10$  до  $1,48 \pm 0,16$  ед. ( $p < 0,001$ ;  $n=14$ ), что свидетельствует о развитии вторичной атерогенной дислипидемии (рисунок 2).



**Рис. 2.** – Изменения содержания холестерина различных фракций липопротеинов сыворотки крови и коэффициента атерогенности у крыс в условиях экспериментального (CLP) перитонита:  
\* –  $p < 0,01$ ; \*\* –  $p < 0,001$

Снижение уровня холестерина ЛПВП крови и увеличение содержания холестерина в печени при (CLP) перитоните, по-видимому, связано с угнетением синтеза насцентных ЛПВП в поврежденной печени, в результате чего, возможно, нарушается включение холестерина в формирующиеся ЛПВП-частицы, и одновременно происходит его накопление в гепатоцитах.

**Выводы:** полученные данные позволяют сделать вывод, что в условиях экспериментального (CLP) перитонита у крыс происходит снижение температуры тела и выраженные изменения содержания холестерина липопротеинов крови: снижение содержания холестерина ЛПВП крови и повышение уровня холестерина суммарной фракции ЛПОНП+ЛПНП и коэффициента атерогенности, что свидетельствует о развитии вторичной атерогенной дислипидемии.

### Литература

1. Абдуллаев, Э. Г. Перитонит : учеб.-практ. пособие / Э. Г. Абдуллаев, В. В. Бабышин, Ю. А. Новиков, А. В. Гусев, Н. Б. Малахов ; Иван. гос. мед. акад ; Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2014. – 144 с.
2. Гоженко, А. И. Особенности течения экспериментального перитонита у крыс при промывании брюшной полости / А. И. Гоженко, А. А. Васильев, Б. А. Насибуллин // Мир медицины и биологии. – 2014. – № 2 (44). – С. 111-114.
3. Finfer, S. The global epidemiology of sepsis does it matter that we know so little? / S. Finfer, F. R. Machado // Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2016. – Vol. 193. – P. 228-230. DOI: 10.1164/rccm.201510-1976ED.
4. Deutschman, C. S. Sepsis: current dogma and new perspectives / C. S. Deutschman, K. J. Tracey // Immunity. – 2014. – Vol. 40. – P. 463-475. DOI: 10.1016/j.immuni.2014.04.001.
5. Висмонт, Ф. И. Эндотоксинемия, дисрегуляция и формирование предболезни / Ф. И. Висмонт // Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. – 2018. – Т. 15, № 1. – С. 7-16. DOI: 10.29235/1814-6023-2018-15-1-7-16.
6. Angus, D. C. Severe sepsis and septic shock / D. C. Angus, T. Van Der Poll // N. Engl. J. Med. – 2013. – Vol. 369. – P. 840-851. DOI: 10.1056/NEJMr1208623.
7. Чепелева, Е. Н. Значение функционального состояния печени в развитии дислипидемии и изменении терморегуляции при бактериальной эндотоксинемии / Е. Н. Чепелева, Ф. И. Висмонт //

Актуальные вопросы современной медицины: материалы II Дальневосточного медицинского молодежного форума / под ред. Е.Н. Сазоновой. – Хабаровск: Изд-во ДВГМУ, 2018. – С. 36-38.

8. Zhang, C. Lipid metabolism in inflammation-related diseases / C. Zhang, K. Wang, L. Yang, R. Liu, Y. Chu, X. Qin, P. Yang, H. Yu // *Analyst*. – 2018. – Vol. 143. – P. 4526-4536. DOI: 10.1039/c8an01046c.

9. Hotchkiss, R. S. The pathophysiology and treatment of sepsis / R. S. Hotchkiss, I. E. Karl // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348. – P. 138-150. DOI: 10.1056/NEJMra021333.

10. Шаповалова, Е. Ю. Моделирование экспериментального сепсиса путем выполнения лигирования и пункции слепой кишки (CLP-процедура) / Е. Ю. Шаповалова, Г. А. Демяшкин, М. Ю. Маланичев, Д. А. Погосян, И. А. Зорин, В. И. Щекин // *Ульяновский медико-биологический журнал*. – 2020. – № 3. – С. 150-158.