

Е.Н. Чепелева, Ф.И. Висмонт

О ЗНАЧИМОСТИ АКТИВНОСТИ АРГИНАЗЫ ПЕЧЕНИ В ПРОЦЕССАХ ДЕТОКСИКАЦИИ У КРЫС С CLP-ПЕРИТОНИТОМ

Кафедра патологической физиологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

E.N. Chepeleva, F.I. Vismont

ON THE SIGNIFICANCE OF LIVER ARGINASE ACTIVITY IN DETOXIFICATION PROCESSES IN RATS WITH CLP-PERITONITIS

Department of Pathological Physiology

Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Установлено, что у крыс с CLP-перитонитом в условиях действия в их организме ингибитора аргиназы печени N^ω-гидрокси-нор-L-аргинина (nor-NOHA) в дозе 10 мг/кг (внутрибрюшинное введение ежедневно в течение недели до моделирования CLP-перитонита) отмечается существенное нарушение детоксикационной функции печени: повышение степени токсичности крови на 26,0 % ($p < 0,05$), содержания «средних молекул» в плазме крови на 17,7 % ($p < 0,001$) и увеличение продолжительности наркотического сна на 28,3 % ($p < 0,05$).

Ключевые слова: перитонит, аргиназа печени, детоксикация.

Resume. It was found that in rats with CLP-peritonitis, under the influence of the liver arginase inhibitor N^ω-hydroxy-nor-L-arginine (nor-NOHA) in their body at a dose of 10 mg/kg (intraperitoneal administration daily for a week before modeling CLP-peritonitis) there is a significant violation of the detoxification function of the liver: an increase in the degree of blood toxicity by 26.0% ($p < 0,05$), the content of «medium molecules» in the blood plasma by 17.7% ($p < 0,001$) and an increase in the duration of narcotic sleep by 28,3% ($p < 0.05$)

Keywords: peritonitis, liver arginase, detoxification.

Актуальность. Актуальность проблемы перитонита обусловлена достаточно высокой частотой встречаемости данного осложнения и его летальностью. Перитонит – локальная, регионарная или системная воспалительная реакция организма на развитие деструктивного и инфекционного процесса в органах брюшной полости, сопровождающаяся развитием абдоминального сепсиса с полиорганной дисфункцией. Перитонит представляет собой системный ответ организма на вовлечение брюшины в патологический процесс, в основе которого лежит комплекс патологических реакций, проявляющийся тяжелой общей интоксикацией, нарушением водно-электролитного баланса и нарушением функций жизненно важных органов. Брюшина неизбежно реагирует на воспалительные или травматические изменения органов брюшной полости, что наряду с обширной площадью брюшины, исключительной важностью выполняемых ею функций, стремительным прогрессированием патологического процесса в замкнутой брюшной полости и тяжелым течением, не оставляют сомнений в опасности перитонита для жизнедеятельности организма [1].

Перитонит является хирургической, общеклинической и общепатологической проблемой. Несмотря на прогресс современной хирургии и реаниматологии, обширные возможности антибактериальной, инфузионной и детоксикационной терапии, летальность при распространенном перитоните составляет порядка 30 %,

резко возрастают среди больных с терминальной стадией перитонита и достигая 50-70 % [2, 3].

В связи с этим поиск путей коррекции основных жизненных функций и обмена веществ при септических состояниях и перитоните в частности является одной из актуальных задач современной медицины.

Проведенные за последние десятилетия исследования позволили по-новому взглянуть на проблему перитонита и оценить роль печени в этом процессе [4, 5].

К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении аргиназы печени в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии, в процессах детоксикации и элиминации эндотоксинов в печени [6].

Однако, несмотря на то что исследования по выяснению роли функционального состояния печени в патогенезе септических состояний многочисленны, значимость активности аргиназы печени в процессах детоксикации при перитоните остается во многом не изученной.

Цель: выяснить значимость активности аргиназы печени в процессах детоксикации у крыс с экспериментальным перитонитом.

Материалы и методы. Исследование проведено на 180 взрослых белых крысах-самцах массой 180–220 г. До постановки эксперимента животных адаптировали к условиям вивария. Они получали полноценный пищевой рацион в соответствии с правилами содержания лабораторных животных. Питьевой режим соответствовал принципу *ad libitum*.

Для создания экспериментального перитонита использована модель лигирования и последующего однократного пунктирования слепой кишки – CLP (*cecal ligation and puncture*) [7]. Для этого крысам под гексеналовым наркозом (100 мг/кг, внутривенно) производили двухсантиметровый разрез передней брюшной стенки, через который извлекали слепую кишку. Затем ниже илеоцекального клапана на кишку накладывали лигатуру и однократно пунктировали ее иглой с внешним диаметром 1,3 мм (18 gauge). Пассаж пищевых масс при этом не нарушался. По данным литературы, через 18–24 ч после CLP-операции у животных развивается тяжелый полимикробный сепсис, который сопровождается выраженной полиорганной недостаточностью [7]. В качестве контроля использовали ложнооперированных (ЛО) крыс, которым под наркозом проводили разрез передней брюшной стенки без извлечения и пунктирования слепой кишки. Всем животным ушивали брюшную стенку и через 30 мин после оперативного вмешательства подкожно вводили 2,5 мл изотонического раствора хлорида натрия.

Депрессию аргиназы печени вызывали внутривенным введением в течение недели до CLP-операции ингибитора аргиназы N^ω-гидрокси-нор-L-аргинина (*nor-NOHA*) фирмы BACHEM (Германия) в дозе 10 мг/кг. Контрольным группам крыс внутривенно вводили 1,0 мл физиологического раствора (ФР) ежедневно в течение 7 дней. Активность аргиназы в печени определяли спектрофотометрически [8].

О детоксикационной функции печени, степени эндогенной интоксикации судили по продолжительности наркотического сна (ПНС), степени токсичности крови (СТК) и содержанию в плазме крови «средних молекул» (СМ). ПНС (гексенал

100 мг/кг, внутривенно) оценивали по времени нахождения животных в положении на боку (Д. В. Парк, 1973). Содержание в крови СМ определяли методом кислотно-этанольного осаждения, разработанным В. М. Моиным с соавт. [9], СТК – способом, предложенным О. А. Радьковой с соавт. [10].

Полученные цифровые данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($\bar{X} \pm S_{\bar{x}}$). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что в условиях действия в организме крыс ингибитора аргиназы печени N^ω-гидрокси-нор-L-аргинин (nor-NOHA), который в дозе 10 мг/кг вводили крысам внутривенно ежедневно в течение недели, активность аргиназы печени в группе Контроль + nor-NOHA ($n = 10$) понижалась на 81,0 % ($p < 0,001$) в сравнении с группой Контроль + ФР ($n = 10$) и составляла $1,08 \pm 0,06$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·ч.

Применение nor-NOHA (внутривенное введение ежедневно на протяжении недели с последующим выполнением CLP-операции после последнего введения препарата) приводило через 24 ч после CLP-операции к более значимому снижению активности аргиназы. В группе CLP-перитонит + nor-NOHA ($n = 10$) в сравнении с группой CLP-перитонит + ФР ($n = 10$) активность аргиназы печени понижалась на 77,2 % ($p < 0,001$) и составляла $0,86 \pm 0,04$ мкмоль мочевины/г сырой ткани·ч.

Установлено, что действие в организме крыс ингибитора аргиназы печени nor-NOHA в группе Контроль + nor-NOHA в сравнении с группой Контроль + ФР сопровождалось угнетением детоксикационной функции печени, что проявлялось повышением СТК на 33,8 % ($p < 0,05$; $n = 10$), содержания СМ в плазме крови на 32,1 % ($p < 0,001$; $n = 10$) и увеличением ПНС на 36,2 % ($p < 0,05$; $n = 10$). Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в группе Контроль + ФР составили $0,744 \pm 0,015$ г/л ($n = 10$), $1,30 \pm 0,10$ ед. ($n = 10$) и $29,09 \pm 2,89$ мин ($n = 10$) соответственно, а в группе Контроль + nor-NOHA – $0,983 \pm 0,018$ г/л ($n = 10$), $1,74 \pm 0,10$ ед. ($n = 10$) и $39,63 \pm 3,23$ мин ($n = 10$) соответственно.

Применение ингибитора аргиназы печени nor-NOHA у крыс с CLP-перитонитом (в группе CLP-перитонит + nor-NOHA) приводило к более выраженному нарушению детоксикационной функции печени. Через 24 ч после CLP-операции в данных условиях были получены следующие значения показателей детоксикационной функции печени: повышение СТК на 26,0 % ($p < 0,05$; $n = 10$), содержания СМ в плазме крови на 17,7 % ($p < 0,001$; $n = 10$) и увеличение ПНС на 28,3 % ($p < 0,05$; $n = 10$) в сравнении с группой CLP-перитонит + ФР. Содержание СМ в плазме крови, СТК и ПНС в группе CLP-перитонит + ФР составили $1,288 \pm 0,027$ г/л ($n = 10$), $2,77 \pm 0,19$ ед. ($n = 10$) и $42,13 \pm 3,76$ мин ($n = 10$) соответственно, а в группе CLP-перитонит + nor-NOHA – $1,516 \pm 0,031$ г/л ($n = 10$), $3,49 \pm 0,13$ ед. ($n = 10$) и $54,04 \pm 2,47$ мин ($n = 10$) соответственно.

Изменение СМ в плазме крови, СТК и ПНС у крыс после CLP-перитонита в условиях действия в организме животных в условиях депрессии аргиназы печени с помощью nor-NOHA представлено в таблице 1.

Табл. 1. Изменение СМ в плазме крови, СТК и ПНС у крыс после CLP-перитонита в условиях действия в организме животных в условиях депрессии аргиназы печени с помощью *por*-NOHA

Группа животных	СМ, г/л	СТК, ед.	ПНС, мин
1. Интактные	0,726 ± 0,016 (n = 10)	1,28 ± 0,12 (n = 10)	28,28 ± 3,21 (n = 10)
2. ЛО	0,734 ± 0,018 $p_{2-1} > 0,05$ (n = 10)	1,31 ± 0,13 $p_{2-1} > 0,05$ (n = 10)	29,62 ± 3,37 $p_{2-1} > 0,05$ (n = 10)
3. CLP-перитонит	1,248 ± 0,028 $p_{3-1} < 0,001$ $p_{3-2} < 0,001$ (n = 10)	2,95 ± 0,19 $p_{3-1} < 0,001$ $p_{3-2} < 0,001$ (n = 10)	42,47 ± 4,26 $p_{3-1} < 0,05$ $p_{3-2} < 0,05$ (n = 10)
4. Контроль + ФР	0,744 ± 0,015 $p_{4-1} > 0,05$ (n = 10)	1,30 ± 0,10 $p_{4-1} > 0,05$ (n = 10)	29,09 ± 2,89 $p_{4-1} > 0,05$ (n = 10)
5. Контроль + <i>por</i> -NOHA	0,983 ± 0,018 $p_{5-1} < 0,001$ $p_{5-4} < 0,001$ (n = 10)	1,74 ± 0,10 $p_{5-1} < 0,05$ $p_{5-4} < 0,05$ (n = 10)	39,63 ± 3,23 $p_{5-1} < 0,05$ $p_{5-4} < 0,05$ (n = 10)
6. ЛО + ФР	0,731 ± 0,017 $p_{6-2} > 0,05$ $p_{6-4} > 0,05$ (n = 10)	1,34 ± 0,11 $p_{6-2} > 0,05$ $p_{6-4} > 0,05$ (n = 10)	29,27 ± 3,03 $p_{6-2} > 0,05$ $p_{6-4} > 0,05$ (n = 10)
7. ЛО + <i>por</i> -NOHA	1,003 ± 0,016 $p_{7-2} < 0,001$ $p_{7-5} > 0,05$ $p_{7-6} < 0,001$ (n = 10)	1,78 ± 0,11 $p_{7-2} < 0,05$ $p_{7-5} > 0,05$ $p_{7-6} < 0,05$ (n = 10)	40,05 ± 2,87 $p_{7-2} < 0,05$ $p_{7-5} > 0,05$ $p_{7-6} < 0,05$ (n = 10)
8. CLP-перитонит + ФР	1,288 ± 0,027 $p_{8-3} > 0,05$ $p_{8-6} < 0,001$ (n = 10)	2,77 ± 0,19 $p_{8-3} > 0,05$ $p_{8-6} < 0,001$ (n = 10)	42,13 ± 3,76 $p_{8-3} > 0,05$ $p_{8-6} < 0,05$ (n = 10)
9. CLP-перитонит + <i>por</i> -NOHA	1,516 ± 0,031 $p_{9-3} < 0,001$ $p_{9-6} < 0,001$ $p_{9-7} < 0,001$ $p_{9-8} < 0,001$ (n = 10)	3,49 ± 0,13 $p_{9-3} < 0,05$ $p_{9-6} < 0,001$ $p_{9-7} < 0,001$ $p_{9-8} < 0,05$ (n = 10)	54,04 ± 2,47 $p_{9-3} < 0,05$ $p_{9-6} < 0,001$ $p_{9-7} < 0,01$ $p_{9-8} < 0,05$ (n = 10)

Таким образом, в условиях действия в организме крыс с CLP-перитонитом ингибитора аргиназы печени *por*-NOHA отмечается существенное нарушение детоксикационной функции печени.

Выводы. В условиях действия в организме крыс с CLP-перитонитом ингибитора аргиназы печени *por*-NOHA в дозе 10 мг/кг (внутрибрюшинное введение ежедневно в течение недели) отмечается существенное нарушение детоксикационной функции печени: повышение СТК на 26,0 % ($p < 0,05$), содержания СМ в плазме крови на 17,7 % ($p < 0,001$) и увеличение ПНС на 28,3 % ($p < 0,05$) в сравнении с контрольной группой крыс, которой моделировали CLP-перитонит и внутрибрюшинно ежедневно вводили 1,0 мл физиологического раствора в течение недели.

Литература

1. Hotchkiss, R. S. The pathophysiology and treatment of sepsis / R. S. Hotchkiss, I. E. Karl // *N. Engl. J. Med.* – 2003. – Vol. 348, N 2. – P. 138–150.
2. Перитонит как одна из основных причин летальных исходов / Н. Д. Томнюк [и др.] // *Современные наукоемкие технологии.* – 2010. – № 10. – С. 81–84.
3. Перитонит : учеб.-практ. пособие / Э. Г. Абдуллаев [и др.] ; Иван. гос. мед. акад ; Владим. гос. ун-т им. А. Г. и Н. Г. Столетовых. – Владимир : Изд-во ВлГУ, 2014. – 144 с.
4. Гоженко, А. И. Особенности течения экспериментального перитонита у крыс при промывании брюшной полости / А. И. Гоженко, А. А. Васильев, Б. А. Насибуллин // *Світ медицини та біології.* – 2014. – № 2 (44). – С. 111–114.
5. Мишнев, О. Д. Патология печени при сепсисе / О. Д. Мишнев, У. Н. Туманова, А. И. Щеголев // *Международ. журн. приклад. и фундамент. исслед.* – 2017. – № 8-2. – С. 267–271.
6. Arginase as a Potential Biomarker of Disease Progression: A Molecular Imaging Perspective / G. S. Clemente [et al.] // *International journal of molecular sciences.* – 2020. – Vol. 21, № 15. – P. 5291.
7. Моделирование экспериментального сепсиса путем выполнения лигирования и пункции слепой кишки (CLP-процедура) / Е. Ю. Шаповалова [и др.] // *Ульянов. мед.-биол. журн.* – 2020. – № 3. – С. 150–158.
8. Geyer J. W., Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Analytical Biochemistry.* – 1971. – Vol. 39, № 2. – P. 412–417.
9. Способ определения веществ группы средних молекул в биологических жидкостях: а. с. 1520445 СССР, VRB F 01 No 33/50 / В. М. Моин, В. В. Николайчик, В. В. Кирковский // *Открытия. Изобретения. Промышленные образцы. Товарные знаки.* – 1987. – № 41. – С. 415.
10. Способ определения токсичности биологических жидкостей: а. с. 1146570 СССР, МКИ б О1 No 1/28 / О. А. Радькова, Г. А. Бояринов, И. Н. Балишина // *Открытия. Изобретения. Промышленные образцы. Товарные знаки.* – 1985. – № 11. – С. 616.