

В. І. Коржов, Б. О. Осипенко, М. П. Будьонна, М. Г. Палівода ОСОБЛИВОСТІ БІОХІМІЧНИХ ПОРУШЕНЬ У КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЕМФІЗЕМІ ЛЕГЕНЬ

ДУ «Національний інститут фізіології і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»

ОСОБЕННОСТИ БИОХИМИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ В КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭМФИЗЕМЕ ЛЕГКИХ

В. И. Коржов, Б. О. Осипенко, М. П. Буденная, М. Г. Паливода

Резюме

Одним из важных и перспективных подходов в изучении патогенеза эмфиземы легких (ЭЛ) являются экспериментальные исследования. Они дают возможность проследить и понять последовательность метаболических нарушений, возникающих при этом заболевании.

Цель исследования — изучение характера биохимических изменений в плазме крови в динамике развития экспериментальной ЭЛ.

Материалы и методы. Исследование проведено на 36 половозрелых, беспородных, белых крысах обоего пола, массой 180–200 г, которые содержались на стандартной диете вивария. Экспериментальную папиновую ЭЛ у белых крыс воспроизводили путем однократного под легким эфирным наркозом интратрахеального введения 0,5 мл раствора папаина («Merck KGaA», Германия) в дозе 100 мг/кг массы тела. Крыс выводили из эксперимента путем декапитации под легким эфирным наркозом через 10, 20, 30, 50 и 60 суток после начала заболевания.

Биохимические исследования плазмы крови — содержание аланинаминотрансферазы (ALT), аспартатаминотрансферазы (AST), белка, мочевины, креатинина, общего билирубина, глюкозы проводили на автоматическом биохимическом анализаторе Selectra Pro-M (Нидерланды).

Результаты. Выявлено, что через 10 суток после начала заболевания активность ALT и AST достоверно снижаются на 37 %. Тенденция к снижению активности ALT сохраняется и через 20, 30 и 60 суток, а AST сохраняется через 20, 30, 50 и 60 суток. Установлено, что содержание белка в плазме крови достоверно снижается через 10 и 20 суток после начала заболевания на 33% и 38% соответственно. При этом снижается также и содержание мочевины через 10 суток на 36 % и на 32 % через 20 суток. Подобная направленность изменений обнаружена и при изучении содержания креатинина в плазме крови. Через 10 и 20 суток на 36 % и 37 % соответственно снижен этот показатель. Что касается общего билирубина, то его содержание в плазме крови через 10 суток выросло на 68 %, а через 20 суток — на 38 %.

Не выявлено изменений в содержании глюкозы в плазме крови через 10, 20, 30, 50 и 60 суток после начала заболевания.

Выводы. Экспериментальная ЭЛ характеризуется наиболее выраженными изменениями биохимических показателей плазмы крови через 10 и 20 суток после начала заболевания, что проявляется снижением функции аминотрансфераз — АЛТ и АСТ, снижением содержания общего белка, мочевины, креатинина и увеличением содержания общего билирубина.

Ключевые слова: экспериментальная эмфизема легких, аланинаминотрансфераза, аспартатаминотрансфераза, белок, мочевина, креатинин, билирубин, глюкоза.

Укр. пульмонол. журнал. 2020, № 1. С. 69–71.

Коржов Виталий Иванович,
ГУ «Національний інститут фізіології і пульмонології
ім. Ф. Г. Яновського НАМН України»
Лабораторія мікробіології і біохімії
Ведучий науковий співробітник, доктор мед. наук, професор
10, ул. Н. Амосова, Киев, 03038, Украина
Тел.: +380506423139, korzhov@ifp.kiev.ua

Вступ

На сучасному етапі багато питань патології органів дихання, в тому числі і при емфіземі легень (ЕЛ), роз-

PECULIARITIES OF BLOOD BIOCHEMICAL DISORDERS IN EXPERIMENTAL PULMONARY EMPHYSEMA

V. I. Korzhov, B. O. Osipenko, M. P. Budennaya, M. G. Palivoda

Abstract

Experimental studies are among the important and promising approaches in the studying of the pathogenesis of pulmonary emphysema (PE). They make it possible to trace and understand the sequence of metabolic disorders which occur in this condition.

The *aim* of the trial was to study the nature of biochemical changes in blood plasma during the course of experimental PE.

Materials and methods. The study was carried out on 36 sexually mature, outbred, white rats of both sexes, weighing 180–200 g, which were kept on a standard vivarium diet. Experimental papain PE in white rats was induced by a single intratracheal administration of 0.5 ml of papain solution (Merck KGaA, Germany) at a dose of 100 mg / kg body weight under light ether anesthesia. The rats were withdrawn from the experiment by decapitation under light ether anesthesia 10, 20, 30, 50 and 60 days after the onset of the disease.

Biochemical studies of blood plasma - the content of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), protein, urea, creatinine, total bilirubin, glucose were carried out using automatic biochemical analyzer Selectra Pro-M (Netherlands).

Results. It was found that 10 days after the onset of the disease, the levels of ALT and AST significantly decreased by 37%. The trend towards a decrease in ALT persisted after 20, 30 and 60 days; AST — after 20, 30, 50 and 60 days. It was found that the blood plasma protein significantly decreased 10 and 20 days after the onset of the disease by 33% and 38%, respectively. At the same time, the urea also decreased after 10 days by 36% and by 32% after 20 days. A similar trend of changes was found when studying the level of creatinine in blood plasma. After 10 and 20 days, creatinine decreased by 36% and 37%, respectively. As for total bilirubin, its blood plasma concentration increased by 68% after 10 days, and by 38% after 20 days. There were no changes in plasma glucose levels 10, 20, 30, 50 and 60 days after the onset of the disease.

Conclusions. Experimental PE is characterized by the most pronounced changes in blood plasma biochemical parameters 10 and 20 days after the onset of the disease, which is manifested by a decrease of aminotransferases — ALT and AST, a decrease in total protein, urea, creatinine, and an increase of total bilirubin.

Key words: experimental pulmonary emphysema, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, protein, urea, creatinine, bilirubin, glucose.

Ukr. Pulmonol. J. 2021; 2: 69–71.

Vitaly I. Korzhov
National institute of physiology and pulmonology
named after F. G. Yanovsky NAMS of Ukraine
Laboratory of Microbiology and Biochemistry
Leading research associate doctor of medicine, professor
10, M. Amosova str., Kyiv, 03038, Ukraine
Tel.: +380506423139, korzhov@ifp.kiev.ua

глядаються в аспекті мембранних порушень, механізм яких нерозривно пов'язаний з гіпоксією, активацією або пригніченням ферментних систем, які у кінцевому результаті призводять до накопичення в надлишковій кількості токсичних продуктів, до зриву адаптаційних можливостей організму, збільшенню ймовірності настання смерті [1, 2].

Патогенез ЕЛ складний і не до кінця зрозумілий [3, 4].

Одним з важливих і перспективних підходів у вивченні патогенезу ЕЛ є експериментальні дослідження. Вони дають можливість простежити і зрозуміти послідовність метаболічних порушень, що виникають при цьому [5]. Перевага експериментального підходу до дослідження полягає в можливості отримувати об'єктивні дані, які вільні від різних суб'єктивних інтерпретацій, і встановлювати причинно-наслідкові зв'язки.

Мета дослідження – вивчення характеру біохімічних змін у плазмі крові в динаміці розвитку експериментальної ЕЛ.

Матеріали і методи досліджень

Експериментальні дослідження проведено на 36 статевозрілих, безпородних білих щурах обох статей масою 180–200 г, які утримувались на стандартній дієті віварію. Усі роботи, що проводились з тваринами, здійснювались згідно європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних і інших наукових цілей [6, 7].

Експериментальну папаїнову ЕЛ у білих щурів відтворювали шляхом одноразового під легким ефірним наркозом інтратрахеального введення 0,5 мл розчину папаїну («Merck KGaA», Німеччина) – ферменту, який належить до цистеїнових протеаз та каталізує гідроліз білків і пептидів, спричиняючи руйнування легеневої тканини, в дозі 100 мг/кг маси тіла [2].

Щурів виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом через 10, 20, 30, 50 і 60 діб після початку захворювання [8].

Об'єктом дослідження була плазма крові. Біохімічні дослідження вмісту аланінамінотрансферази (ALT), аспартатамінотрансферази (AST), білку, сечовини, креатиніну, загального білірубину, глюкози проводили на автоматичному біохімічному аналізаторі Selectra Pro-M (Нідерланди).

Математична обробка отриманих даних проводилася за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входили до пакету Microsoft Office Professional 2000, ліцензія Russian Academic OPEN No Level № 17016297.

Результати дослідження та їх обговорення

У результаті проведених досліджень виявили, що через 10 діб після початку захворювання активність ALT і AST достовірно знижуються на 37 %. Тенденція до зниження активності ALT зберігається і через 20, 30 і 60 діб, а AST зберігається через 20, 30, 50 і 60 діб (табл. 1).

ALT і AST є маркерами пошкодження печінки і міокарда. В оцінці ступеня вираженості патологічного процесу в печінці основне значення надається активності цих двох ферментів. Одночасне визначення їх в крові більш інформативно, ніж дослідження окремо, так як дозволяє точніше судити про локалізацію місця порушення і активності процесу.

Для діагностики гепатоцелюлярних ушкоджень ALT вважається більш специфічною, ніж AST, оскільки вона переважно знаходиться в печінці і лише в малих кількостях представлена в інших тканинах. При цьому рівні

активності цих ферментів варіюють в залежності від стадії і тяжкості перебігу захворювання [9].

Таблиця 1

Активність аланінамінотрансферази і аспартатамінотрансферази в плазмі крові при експериментальній емфіземі легень у динаміці розвитку захворювання ($M \pm m$, $n = 6$)

Термін дослідження	Показники	
	ALT, ум. од./л	AST, ум. од./л
Інтактні тварини	59,08 $\pm$ 6, 28	189,09 $\pm$ 29,73
ч/з 10 діб	37,53 $\pm$ 5,29*	119,85 $\pm$ 8,15*
ч/з 20 діб	48,90 $\pm$ 3,54	138,00 $\pm$ 14,43
ч/з 30 діб	47,95 $\pm$ 6,54	149,65 $\pm$ 21,43
ч/з 50 діб і	58,93 $\pm$ 8,63	151,30 $\pm$ 27,20
ч/з 60 діб	47,95 $\pm$ 4,63	150,98 $\pm$ 45,37

Примітка. * – різниця відносно показників інтактних тварин вірогідна ($p < 0,05$).

Зниження рівня цих ферментів на 10 добу захворювання ЕЛ цілком можливо пов'язано із зменшенням кількості функціонуючих гепатоцитів, зниженням кровотоку в печінці, дефіциту піридоксину.

Крім ферментів важливу роль в оцінці ступеня метаболічних порушень при захворюваннях грає ряд органічних сполук в крові.

Проведені дослідження показали, що вміст білку в плазмі крові достовірно знижується через 10 і 20 діб після початку захворювання на 33 % і 38 % відповідно (табл. 2). При цьому знижується також і вміст сечовини через 10 діб на 36 % і на 32 % через 20 діб.

Подібна спрямованість змін виявлена і при вивченні вмісту креатиніну в плазмі крові — через 10 і 20 діб на 36 % і 37 % відповідно знижений цей показник.

Що стосується загального білірубину, то його вміст в плазмі крові через 10 діб зріс на 68 %, а через 20 діб — на 38 %. Не було виявлено змін у вмісті глюкози в плазмі крові через 10, 20, 30, 50 і 60 діб після початку захворювання.

Відомо, що загальний білок є маркером білкового обміну. Зниження загального білка в крові спостерігається частіше всього при захворюваннях печінки, нирок, крововтратах, захворюваннях запального характеру.

Сечовина є основним кінцевим продуктом катаболізму білку. Вона синтезується в печінці при з'єднанні вуглекислого газу з аміаком, що утворюється в реакціях дезамінування амінокислот. Рівень вмісту сечовини в плазмі є показником синтетичної функції печінки і гломерулярної фільтрації в нирках [10].

Креатинін є низькомолекулярною азотистою речовиною, що утворюється з креатину. Він є маркером насамперед функції нирок. Його показник може бути використаний для визначення швидкості клубочкової фільтрації в нирках.

Білірубін є кінцевим продуктом біотрансформації гемоглобіну еритроцитарної природи. Цей процес в першу чергу відбувається в макрофагах селезінки, печінці і кістковому мозку. Частина білірубину утворюється в результаті руйнування негемоглобінових гемопротеїнов печінки і набагато менше у позапечінкової тканини.

Таблиця 2

Біохімічні показники плазми крові при експериментальній емфіземі легенів у динаміці розвитку захворювання
($M \pm m, n = 6$)

Термін дослідження	Показники				
	Білок, г/л	Сечовина, ммоль/л	Креатинін, мкмоль/л	Білірубін загальний, мкмоль/л	Глюкоза, ммоль/л
Інтактні	62,12 $\pm$ 3,49	5,92 $\pm$ 0,50	40,29 $\pm$ 1,95	5,51 $\pm$ 0,52	5,08 $\pm$ 0,52
10 діб	40,88 $\pm$ 2,29*	3,78 $\pm$ 0,18*	29,70 $\pm$ 1,29*	9,25 $\pm$ 0,91*	4,15 $\pm$ 0,22
20 діб	38,28 $\pm$ 1,89*	4,63 $\pm$ 0,10*	29,40 $\pm$ 1,21*	7,60 $\pm$ 0,25*	5,78 $\pm$ 0,21
30 діб	48,43 $\pm$ 1,89*	5,35 $\pm$ 0,39	47,40 $\pm$ 4,5	7,08 $\pm$ 0,13*	5,43 $\pm$ 0,13
50 діб	71,63 $\pm$ 5,64	5,90 $\pm$ 0,35	42,17 $\pm$ 6,18	4,73 $\pm$ 0,43	5,73 $\pm$ 0,32
60 діб	59,80 $\pm$ 1,42	4,98 $\pm$ 0,19	39,68 $\pm$ 2,00	4,38 $\pm$ 0,09	4,80 $\pm$ 0,26

Примітка. * — різниця відносно показників інтактних тварин вірогідна ($p < 0,05$).

Білірубін є перш за все маркером функціонального стану печінки [11].

Глюкоза є органічною сполукою, при аеробному окисленні якого вивільняється в середньому до 70% хімічної енергії, необхідної для енергозабезпечення процесів життєдіяльності організму.

Одним з провідних чинників формування емфіземи легень є активація вільнорадикального окиснення, зі збільшенням у крові продуктів ендогенної інтоксикації [12]. Накопичення ендотоксинів призводить до розбалансування біохімічного гомеостазу, й порушенню функцій ферментативних систем біологічних мембран [13].

Таким чином, результати проведених експериментальних досліджень дають підставу вважати, що розви-

ток ЕЛ супроводжується зниженням функцій ALT і AST, зменшенням вмісту білка, сечовини, креатиніну і збільшенням кількості білірубину в плазмі крові, що свідчить про серйозні порушення метаболічних процесів в організмі, перш за все, в печінці та нирках.

Висновки

Експериментальна ЕЛ характеризується найбільш вираженими змінами біохімічних показників плазми крові через 10 і 20 діб після початку захворювання, що проявляється зниженням функції амінотрансфераз — АЛТ і АСТ, зниженням вмісту загального білку, сечовини, креатиніну та збільшенням вмісту загального білірубину.

ЛІТЕРАТУРА

1. Аверьянов АВ, Самсонова МВ, Черняев АЛ. Аспекты патогенеза эмфиземы легких у больных ХОБЛ. Пульмонология. 2008;(3):35–41.
2. Серебровская МТ, Шишканов ВВ, Айтукоев МТ. Surfactantная система легких при экспериментальной папиносовой эмфиземе. Патол. физиология и эксперим. терапия. 1982;(5):63–64.
3. Zhen G, Liu H, Gu N, et al. Mesenchymalstem cells transplantation protects against rat pulmonary emphysema. Front. Biosci. 2008;(13):3415–3422.
4. Чучалин АГ. Хроническая обструктивная болезнь легких - новые успехи в лечении. Пульмонология. 2009;(4):107–108.
5. Черешнев ВА, Шилов ЮИ, Черешнева МВ, и др. Экспериментальные модели в патологии. Пермь: Перм. Гос. Ун-т. 2011;267 с.
6. Корбо І. Міжнародно-правові стандарти захисту домашніх тварин від жорстокого поводження. Український часопис міжнародного права. 2013;(1):70–74.
7. Mayer J. The Expression of the Emotions in Man and Laboratory Animals. Victorian Studies. 2008;(3):399–417.
8. Червонская ГП, Панкратова ГП, Миронова ЛА. Этика медико-биологического эксперимента в доклинических исследованиях. Токсикологический вестник. 1998;(3):2–8.
9. Ніщенко МП, Саморай ММ, Порошинська ОА, та ін. Особливості змін показників обміну білків у перепелів при застосуванні лізину, метіоніну та треоніну. Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій ім. Гжицького. 2014;(2):251–257.
10. Пономарева ЕИ, Лукина СИ, Одинцова АВ. Исследование влияния ахлоридного хлеба «Завет» на медико-клинические показатели крови крыс. Успехи современного естествознания. 2015;(9):331–335.
11. Ветшев ПС. Механическая желтуха: причины и диагностические подходы. Анналы хирургической гепатологии. 2011;(3):50–57.
12. Zenkov NK, Menshikova EB, Volsky HH, et al. Внутриклеточный окислительный стресс и апоптоз. Успехи соврем. биологии. 1999;(5):439–449.
13. Vucević D, Radosavljević T, Zunić S, et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of pulmonary emphysema. Med. Pregl. 2005;(9–10):472–477.

REFERENCES

1. Averyanov AV, Samsonova MV, Chernyaev AL. Aspekty patogeneza emfizemy legkikh u bolnykh KHOBL (1. Averyanov AV, Samsonova MV, Chernyaev AL. Aspects of the pathogenesis of pulmonary emphysema in patients with COPD). Pulmonologiya. 2008;(3):35–41.
2. Serebrovskaya MT, Shishkanov VV, Aytukov MT. Surfactantnaya sistema legkikh pri eksperimentalnoy papainovoy emfizeme (Surfactant lung system in experimental papain emphysema). Patol. fiziologiya i eksperim. terapiya. 1982;(5):63–64.
3. Zhen G, Liu H, Gu N, et al. Mesenchymalstem cells transplantation protects against rat pulmonary emphysema. Front. Biosci. 2008;(13):3415–3422.
4. Chuchalyn AH. Khronicheskaya obstruktyvnaya bolezнь legkikh – novyye uspekhi v lechenii (Chronic obstructive pulmonary disease – new advances in treatment). Pulmonologiya. 2009;(4):107–108.
5. Chereshev VA, Shilov YuY, Cheresheva MV, et al. Eksperimentalnyye modeli v patologii (Experimental models in pathology). Perm: Perm. Gos. Un-t. 2011;267 p.
6. Korbo I. Mizhnarodno-pravovi standarty zakhystu domashnikh tvaryn vid zhorstokoho povodzhennya (International legal standards for the protection of domestic animals from cruelty). Ukrainyysky chasopys mizhnarodnogo prava. 2013;(1):70–74.
7. Mayer J. The Expression of the Emotions in Man and Laboratory Animals. Victorian Studies. 2008;(3):399–417.
8. Chervonskaya HP, Pankratova HP, Myronova LA. Etyka mediko-byolohicheskogo eksperymenta v doklinicheskikh issledovaniyakh (Ethics of medico-biological experiment in preclinical studies). Toksikologicheskyy vestnik. 1998;(3):2–8.
9. Nishchemenko MP, Samoray MM, Poroshynska OA, et al. Osoblyvosti zmin pokaznykiv obminu bilkiv u perepeliv pry zastosuvanni lizynu, metionynu ta treoninu (Features of changes in protein metabolism in quails with the use of lysine, methionine and threonine). Naukovyy visnyk Lvivskogo natsionalnogo universytetu veterinarnoyi medytsyny ta biotekhnologiyi im. Gzhyskogo. 2014;(2):251–257.
10. Ponomareva EY, Lukyna SY, Odyntsova AV. Issledovanye vliyaniya akhlorydnogo khleba «Zavet» na mediko-kllynycheskye pokazately krovi krys (Study of the effect of achloride bread «Zavet» on the medical and clinical parameters of the blood of rats). Uspekhy sovremennogo estestvoznaniya. 2015;(9):331–335.
11. Vetshev PS. Mekhanycheskaya zheltukha: prychyny i diagnosticheskiye podkhody (Mechanical jaundice: causes and diagnostic approaches). Annaly khirurgicheskoy gepatologii. 2011;(3):50–57.
12. Zenkov NK, Menshikova EB, Volsky HH, et al. Vnutrikletchnyy oksylytelnyy stress i apoptoz (Mechanical jaundice: causes and diagnostic approaches). Uspekhi sovrem. biologii. 1999;(5):439–449.
13. Vucević D, Radosavljević T, Zunić S, et al. The role of oxidative stress in the pathogenesis of pulmonary emphysema. Med. Pregl. 2005;(9–10):472–477.