

УДК: 616.36-008.8+616.15:577.1]-092.9

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ЖЕЛЧИ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ В ДИНАМИКЕ ПОЛНОГО НАРУЖНОГО ОТВЕДЕНИЯ ЖЕЛЧИ У КРЫС

С.В. Емельяничук, доцент, к.м.н.; С.М. Зиматкин\*, профессор, д.б.н.

УО «Гродненский государственный университет имени Янки Купалы»,

\*УО «Гродненский государственный медицинский университет»,

Межуниверситетская лаборатория «Биомед»

*Исследование проведено на 40 белых крысах-самцах Вистар массой 200-250 г. Опытным животным проводили полное наружное отведение желчи в течение 1, 3 и 5 суток, контрольным – ложную операцию. Установлена четкая динамика биохимических изменений в желчи и сыворотке крови экспериментальных животных при увеличении срока исследования после полного наружного отведения желчи у крыс.*

**Ключевые слова:** наружное отведение желчи, крысы, желчь, кровь, биохимия.

*40 white albino male rats, weighed 200-250g have been studied. The experimental animals underwent the complete external removal of bile within 1, 3 and 5 days and the control ones were performed a false operation. The distinct dynamics of the biochemical changes in the bile and blood serum of the experimental animals has been determined with prolongation of the periods of the study after the bile complete external remove in rats.*

**Key words:** external removal of bile, rats, bile, blood, biochemistry.

В последние десятилетия происходит неуклонный рост числа заболеваний гепатобилиарной системы. Существенный вклад в эту патологию вносит желчнокаменная болезнь: так, по данным зарубежных авторов, от 10 до 15% людей в промышленно развитых странах страдают этой болезнью [13]. Для лечения данного заболевания в качестве вынужденной меры используется хирургическое дренирование желчных путей [8, 11]. При этом вынужденная декомпрессия желчных путей фактически приводит к наружному отведению желчи из организма. Моделирование на животных потери желчи, наблюдаемой в клинической практике, и выявление при этом нарушений различных органов и систем, выяснение патогенеза этих процессов является одним из важных направлений экспериментальной гепатологии [3]. Исходя из вышеизложенного, в настоящей работе были изучены некоторые биохимические показатели желчи и сыворотки крови у крыс в динамике полного наружного отведения желчи из организма.

### Материал и методы

В работе использован материал от 40 беспородных белых крыс-самцов массой  $220 \pm 25$  г. 21 опытным крысам накладывали фистулу общего желчного протока по методу Л.С. Василевской [2] с некоторыми изменениями и дополнениями. 19 крысам контрольной группы проводили ложную операцию: им делали все те же манипуляции, что и опытной группе, только общий желчный проток не вскрывали, а катетер подшивали к брыжейке двенадцатиперстной кишки, при этом сохранялся физиологический отток желчи в 12-перстную кишку на протяжении всего эксперимента. Все животные были разделены на три пары групп: первая – 7 опытных и 5 контрольных – отведение желчи в течение одних суток; вторая – 7 опытных и 7 кон-

трольных – отведение желчи в течение трех суток; третья – 7 опытных и 7 контрольных – отведение желчи в течение пяти суток. В двухчасовых порциях желчи, собранных через 0, 12, 24, 48, 72, 96 и 120 часов после операции, определяли количество холестерина (ммоль/л) и билирубина (общего, прямого и непрямого) (мкмоль/л). Через 24, 72 и 120 часов после операции под предварительным эфирным наркозом животных забивали декапитацией и производили забор крови общепринятыми методами. В сыворотке крови определяли содержание холестерина (в ммоль/л), билирубина (общего, прямого и непрямого) (мкмоль/л), активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ; L-аспартат; 2-оксоглутаратаминотрансфераза; КФ 2.6.1.1), аланинаминотрансферазы (АлАТ; L-аланин; 2-оксоглутаратаминотрансфераза; КФ 2.6.1.2), щелочной фосфатазы (ЩФ; фосфомоноэстераза I, фосфогидролаза ортофосфорной кислоты; КФ 3.1.3.1) – все в U/L и лактатдегидрогеназы (ЛДГ; L-лактат; НАД-оксидоредуктаза; КФ 1.1.1.27) – в Е/Л. В международных единицах это соответствовало для 1 U/L – 16,67 нмоль/(с·л), а для 1 Е/Л – 16,67 нмоль/л (с·л) [6]. Общий билирубин в сыворотке крови состоял из фракции только непрямого билирубина, так как прямой билирубин не определялся вовсе.

Полученные цифровые данные анализировали методами непараметрической статистики с использованием программы «Statistica 6.0 for Windows». Достоверными считали различия между контрольной и опытной группами при значениях  $p < 0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Результаты исследования показали, что полное наружное отведение желчи приводит к существенным изменениям химического состава желчи

Таблица 1. Некоторые биохимические показатели желчи в динамике ее наружного отведения

Время после операции	Отведение желчи в течение 1 суток	Желчные кислоты, мг%	
		Отведение желчи в течение 3 суток	Отведение желчи в течение 5 суток
2 час.	838,99±10,57	888,83±31,89	829,48±23,83
12 час.	405,80±17,69***	447,61±41,46***	453,73±11,76***
24 час.	227,24±10,17***	223,90± 9,98***	256,26± 6,56***
48 час.		310,06±21,35***	296,26± 8,35***
72 час.		370,96±19,07***	405,20±12,62***
96 час.			531,01±39,96***
120 час.			531,23±24,90***
Холестерин, ммоль/л			
2 час.	0,716±0,019	0,735±0,019	0,761±0,024
12 час.	0,432±0,013***	0,452±0,013***	0,426±0,017***
24 час.	0,439±0,026***	0,481±0,028***	0,445±0,012***
48 час.		0,620±0,020***	0,632±0,020**
72 час.		0,679±0,032	0,700±0,014*
96 час.			0,902±0,043*
120 час.			1,052±0,035***
Билирубин прямой, мкмоль/л			
2 час.	49,97±1,66	52,71±2,51	49,63±1,96
12 час.	30,77±1,41***	30,16±1,13***	30,69±1,10***
24 час.	24,29±0,95***	25,67±1,75***	23,19±1,07***
48 час.		27,57±2,58***	23,33±0,77***
72 час.		36,14±2,97***	33,71±1,52***
96 час.			39,14±1,20***
120 час.			39,74±1,20**
Билирубин не прямой, мкмоль/л			
2 час.	29,31±0,55	29,18±1,58	30,29±1,74
12 час.	19,46±0,66***	22,72±1,55**	19,70±0,63***
24 час.	21,67±1,99**	19,03±0,89***	20,83±1,42**
48 час.		19,05±1,82***	22,24±1,45**
72 час.		33,54±3,25	29,59±1,69
96 час.			33,86±1,47
120 час.			39,16±1,14**
Билирубин общий, мкмоль/л			
2 час.	79,29±1,98	81,89±2,88	79,93±0,57
12 час.	47,37±1,87***	52,88±1,48***	50,39±1,47***
24 час.	45,96±1,23***	44,70±2,19***	44,01±1,78***
48 час.		46,62±2,32***	45,57±1,48***
72 час.		69,68±4,78*	63,30±1,71***
96 час.			73,00±1,72**
120 час.			78,90±1,84

Примечание: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , по сравнению с двухчасовыми послеоперационными порциями.

(табл. 1). Так, количество желчных кислот существенно снижается к исходу первых суток, затем несколько повышается, а к концу пятых суток вновь резко падает, составляя только 64% от исходных послеоперационных значений. Количество общего холестерина сначала несколько снижается, потом постепенно восстанавливается (к 3 суткам), а затем нарастает и на 4 и 5 сутки уже превышает послеоперационные значения на 18,5 и 38,2% соответственно. Количество прямого билирубина после резкого падения в послеоперационный период постепенно восстанавливается и к концу эксперимента составляет 80,1% от первого послеоперационного значения. Количество непрямого билирубина сначала достоверно снижается, достигает к 3 суткам исходных значений, и далее идет некоторое его повышение – на 11,8 и 29,3% на 4 и 5 сутки соответственно. При этом общий билирубин желчи после снижения до 55,1% через 24 часа после начала отведения желчи, к концу эксперимента, достигает примерно исходных значений.

Таким образом, показатели желчи свидетельствуют о попытке клеток печени компенсировать недостающие компоненты энтерогапатической циркуляции. Однако это оказывается возможным только для билирубина, тогда как, несмотря на увеличение количества общего холестерина в крови и в желчи (как предшественника для синтеза желч-

ных кислот), печень не может восстановить общее количество желчных кислот в желчи к окончанию эксперимента. Это подтверждает необходимость непрерывной реабсорбции в кишечнике и энтеро-гапатической циркуляции (возвращения в печень) образующихся желчных кислот.

Напряженная работа гепатоцитов не может не отразиться на биохимических показателях сыворотки крови (табл. 2). Так, активность аминотрансаминаз в целом при отведении желчи имеет тенденцию к увеличению. Статистически достоверным является повышение активности АЛАТ на 3-ьи сутки и АсАТ на 5-ые сутки эксперимента. Это согласуется с данными, показывающими, что уровень АЛАТ более чувствителен при острых заболеваниях печени, а уровень АсАТ – при хронических и инфильтрационных повреждениях [4], хотя по некоторым данным [7], АсАТ, являясь митохондриальным ферментом, также повышается при любом остром повреждении органов её содержанием.

Таблица 2. Некоторые биохимические показатели сыворотки крови в динамике полного наружного отведения желчи

Показатель	Группы животных	Отведение желчи в течение 1 суток	Отведение желчи в течение 3 суток	Отведение желчи в течение 5 суток
АЛАТ	контроль	80,46±1,89	79,39±10,08	81,28±1,93
У/Л	опыт	87,90±8,50	128,67±19,66*	83,15±8,60
АсАТ	контроль	198,74±1,05	204,16±13,37	209,66±19,42
У/Л	опыт	208,36±11,76	212,60±10,60	355,90±24,08***
ЛДГ	контроль	823,84±22,98	848,54±30,60	847,71±16,89
Е/Л	опыт	1076,71±54,61**	1622,73±128,29***	899,71±9,68*
ЩФ	контроль	258,36±5,03	251,01±7,12	249,59±6,34
У/Л	опыт	202,59±14,63**	395,11±22,75***	248,97±4,94
Холестерин	контроль	1,993±0,094	2,034±0,071	1,912±0,125
ммоль/л	опыт	1,999±0,103	2,805±0,133***	3,169±0,293**
Общий билирубин	контроль	10,47±0,26	11,73±1,92	10,97±0,27
мкмоль/л	опыт	11,39±0,48	15,53±0,91	12,53±0,27**

Примечание: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$ , \*\*\*  $p < 0,001$ , по сравнению с контролем

Активность ЛДГ, как маркер цитолиза и выхода компонентов цитоплазмы в кровь, имеет тенденцию к повышению через сутки на 130,7%, к третьим – на 191,2%, а к пятым на 106,1%. Это соответствует данным о повышении активности ЛДГ крови при повреждениях тканей любой этиологии, например послеоперационной травме, как в нашем случае [5,10].

Происходит снижение активности ЩФ через сутки после отведения желчи на 21,6%; к концу третьих имеет место, наоборот, рост активности – на 157,4%, а к пятым суткам этот показатель практически соответствует контрольным значениям. Такую динамику можно объяснить тем, что происходит перестройка метаболических процессов в гепатоцитах в новых условиях. Данный фермент локализуется в билиарной зоне гепатоцитов [12], где идет интенсивная работа по выведению желчи. Увеличение активности данного фермента к 3-им суткам говорит, по-видимому, о проникновении его в перисинусоидальное пространство без нарушения целостности плазматической мембраны, что согласуется с данными других авторов [15]. К 5-ым суткам эксперимента этот показатель воз-

вращается к исходному уровню, поскольку начавшаяся стадия декомпенсации в работе печени снижает проницаемость плазматических мембран, и избыточное поступление фермента в кровь прекращается. По данным других авторов, на терминальных стадиях течения некоторых тяжелых заболеваний печени активность таких ферментов, как ЩФ, АсАТ и АлАТ может быть в норме или даже снижаться. При холестазе и других синдромах, как правило, активность ЩФ усиливается более чем в 2 раза, т.к. повышение ее в 2-3 раза считается еще слабо повышенным [5].

Количество холестерина в крови практически не меняется через сутки эксперимента, но статистически значимо увеличивается на 3 и 5 сутки (соответственно на 137,9% и 165,7% от контрольных значений). Это можно объяснить тем, что для компенсации потери желчных кислот требуются большие количества холестерина (как исходного продукта для синтеза желчных кислот), происходит выход холестерина из депо, из биологических мембран различных органов и тканей и доставка его в печень [1, 14].

Уровень билирубина в крови имеет тенденцию к повышению, хотя статистически значимы показатели только на пятые сутки (117%). Это объясняется тем фактом, что происходит нарушение функции гепатоцитов, поскольку гемолиз эритроцитов и задержка оттока желчи – как возможные причины – исключены, так как нет подтверждающих на то данных. На наш взгляд, имеет место нарушение захвата билирубина и, как следствие, затруднение его отщепления от альбуминов плазмы и присоединения к белкам цитолеммы гепатоцитов, поскольку нарушение выведения его привело бы к нарастанию прямого (связанного) билирубина в крови [6, 9], что не наблюдалось в нашем эксперименте.

Таким образом, прерывание печеночно-кишечной циркуляции компонентов желчи приводит к существенным сдвигам в биохимических показателях желчи и сыворотки крови. По нашим данным, начиная с третьих суток происходит переход стадии компенсации в декомпенсацию в работе печени, и к пятым суткам имеют место на наш взгляд,

необратимые изменения в деятельности этого жизненно важного органа. Это сказывается на состоянии организма экспериментальных животных и приводит их к гибели через 7-8 суток полной потери желчи. Поэтому наблюдаемые в клинических условиях состояния потери желчи у некоторых категорий послеоперационных больных требуют особого внимания и сокращения срока отведения её до оптимального, что, на наш взгляд, можно контролировать по биохимическим показателям желчи и сыворотки крови.

#### Литература

1. Арчаков А.И., Бородин Е.А. Холестерин биологических мембран и пути его выведения из организма // Биомембраны. Структура. Функции. Медицинские аспекты. Рига: Зинатне, 1981 – С. 167–184.
2. Василевская Л.С. Отделение липопротеинового комплекса с желчью у крыс // Вопросы питания.– 1965.– Т. 24, № 3.– С. 47–49
3. Галкин В.А. Современные представления о патогенезе холелитиаза как основа принципов профилактики билиарной патологии // Терапевтический архив – 2003.– Т. 75, № 1.– С. 6–9.
4. Иванченкова Р.А., Бочарова Л.В., Ветшев П.С., Шмутьян Т.Р. Диагностическое значение определения желчных кислот сыворотки крови при желчнокаменной болезни // Советская медицина.– 1985.– № 5.– С.106–110.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике.– Мн.: Беларусь, 2000.– 488 с
6. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике – Мн.: Беларусь, 2002. – Т. 1 – 496 с.; Т. 2.– 464 с
7. Козырев М.А. Заболевания печени и желчных путей. Минск. 2002.– 249 с.
8. Кузин Н.М., Дадвани С.С., Ветшев П.С. и др. Лапароскопическая и традиционная холецистэктомия: сравнение непосредственных результатов // Хирургия.– 2000.– № 2 – С. 25–27.
9. Подымова С.Д. Болезни печени (руководство для врачей) / М.: Медицина, 1984.– 486 с.
10. Подымова С.Д. Болезни печени (руководство для врачей) / М.: Медицина, 1998 – 704 с.
11. Феофилов Г.Л., Бородай В.А., Оценка способов завершения хирургических вмешательств на желчных путях // Вестник хирургии – 1990.– Т. 144, № 1.– С. 104–107.
12. Erlinger S. Choleresis et cholestase // Gastroenterol. Clin. Biol.– 1982.– V.6, №5.– P. 500–508.
13. Konikoff F.M. Gallstones - approach to medical management // Med. Gen. Med.– 2003.– V. 5, № 4.– P. 8.
14. Laker M.E., Mayes P.A. A role for erythrocytes in cholesterol transport to the liver and in formation of bile acids // Biochem Soc. Trans.– 1985.– Vol. 13, №1.– P. 142–143.
15. Massarrat S.A., Massarrat Sch., Arendt D., Kerdes B.A. Daily fluctuation of cholestatic enzymes in bile and its relationship to the total bile salt concentration // Clin. Biochem.– 1979.– V.12, № 6.– P. 238–242.