

ВПЛИВ L-ЛІЗИНУ ЕСЦЕНАТУ НА СТРУКТУРУ І ПРОНИКЛИВІСТЬ КИШКОВОГО БАР'ЄРУ ПРИ ГОСТРОМУ ПАНКРЕАТИТІ

Буковинський державний медичний
університет, м. Чернівці**Ключові слова:** кишковий бар'єр,
глікопротеїни, протеоглікани,
проникливість.**Резюме.** Індуція гострого експериментального панкреатиту супроводжується порушенням структури кишкового бар'єру за рахунок деградації глікопротеїнів і підвищення проникливості слизової оболонки тонкої кишки. L-лізину есценат захищає глікопротеїни слизової оболонки тонкої кишки від дії лізосомальних ферментів і зменшує проникливість кишкового бар'єру для лактулози і маніту.**Вступ**

Захист слизової оболонки тонкої і товстої кишок від механічного пошкодження належить головним чином пристінковому слизовому шару (муцину). Крім того глікопротеїни муцину (ГП) разом з імуноглобуліном А і грампозитивними ендогенними анаеробними бактеріями, які знаходяться у безпосередньому адгезивному контакті з епітелієм кишки, створюють надійний бар'єр для патогенних бактерій [1]. При гострому панкреатиті розвивається гіперперфузія й ішемія слизової оболонки кишечника, що супроводжується міграцією патогенних бактерій у внутрішнє середовище і екстравазацією рідини в органи черевної порожнини [7]. Масивна інфузія рідини дозволяє швидко стабілізувати системну гемодинаміку [4,5]. Поряд із цим зміни основних елементів слизового бар'єру і їх роль у розвитку ускладнень при гострому панкреатиті практично не встановлені [9], не вирішена проблема стабілізації кишкової проникливості для рідини і патогенних бактерій фармакологічними засобами.

Мета

Вивчити зміни і вплив L-лізину есценату на структуру кишкового бар'єру (глікопротеїнів муцину і міжклітинного матриксу) і проникливість слизової тонкої кишки при гострому експериментальному панкреатиті.

Матеріал і методи дослідження

Робота експериментальна, виконана на білих щурах - самцях, масою 200-250 г. Під загальною анестезією каліпсолом проводили індукцію гострого експериментального панкреатиту (ГЕП) L-аргініном за методом [8]. Експериментальні тварини поділені на дві групи: I група - 24 тварини з гострим панкреатитом, II група - 24 тварини, яким після індукції ГЕП вводили в черевну порожнину (ЧП) L-лізину есценату із розрахунку

0,15 мг/кг два рази на добу. Контрольною групою (КГ) слугували 7 тварин, яким в ЧП вводили в такій же кількості ізотонічний розчин хлориду натрію. Критеріями для включення тварин в експеримент були: клінічна картина, гематокрит і амілаза крові. Тварин виводили з експерименту через 6, 12, 24, 48 год, шляхом передозування тіопенталу натрію. Перед закінченням експерименту під загальною анестезією проводили лапаротомію і забирали кров з аорти і мезентеріальної вени для дослідження газового вмісту, амілази (Ам), гематокриту (Гт). Експерименти проводили відповідно положень Конвенції ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовуються в експериментах та інших наукових цілях від 18.03.1986 р., Директиви ЄС № 609 від 24.11.1986 р. і наказу МОЗ України № 66 від 13.02.2006 р. Проводили макроскопічне і гістологічне дослідження тканин тонкої кишки (ТК). Проникливість слизової ТК оцінювали за індексом набряку ТК (ІН), гематокритом (Гт), кількістю рідини в черевній порожнині (ЧП), відношенням екскреції лактулози (Л) до маніту (М) - ВЛ/М [11]. У тканинах ТК і крові визначали вільні, не зв'язані з білком, сіалові кислоти (СК), гексозаміни (ГА), фукозу (ФК), гексуронові кислоти (ГК), оксипролін (ОП) [3,10]. Усі отримані цифрові дані опрацьовані статистично із використанням критерію (t) Стьюдента та критерію Вілкоксона. Різницю між порівнювальними величинами вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Обговорення результатів дослідження. Як видно з даних табл. I зміни ГП муцину стосуються, в першу чергу, сіалових кислот, які займають кінцеве положення в олігоцукровому ланцюгу ГП, що зумовлює їх підвищену вразливість при дії стресорних чинників ГЕП. Навіть короточасний хірургічний стрес (лапаротомія під загальною анестезією) в інтактних тварин супро-

Таблиця 1

Вплив L-лізину есенату на вміст глікопротеїнів у муцині тонкої кишки та крові білих щурів при гострому експериментальному панкреатиті (M±m)

Показник	Сіалові кислоти мкмоль/г		Гексозаміни мкмоль/г		Фукоза мкмоль/г		Гексуронової кислоти мкмоль/г		Оксипролін мкмоль/г	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Вміст моноцукрів і оксипроліну в муцині										
Контрольна група	30,6±0,67		101,4±6,7		1,53±0,077		30,6±2,7		269±11	
Через 6 годин	41,7± 0,57*	32,4± 1,5**	148,7± 11*	120± 9	1,67± 0,09	1,75± 0,11	56,5± 5,7*	32,4± 1,5**	0,44± 0,015*	0,29± 0,012**
Через 12 годин	42,4± 2,67*	35,0± 1,1**	138± 12*	111± 8**	1,68± 0,12	1,60± 0,11	57,9± 2,3*	35,0± 1,1**	0,4± 0,021*	0,3± 0,018**
Через 24 години	40,6± 1,36*	29,8± 4,3	136± 9*	127± 8	1,601± 0,09	1,19± 0,08	58,4± 3,6*	29,8± 4,3**	0,38± 0,018	0,34± 0,022
Через 48 годин	33,8± 2,67	29,0± 3,3	123± 7*	108± 6	1,53± 0,12	1,45± 0,08	56,7± 6,1*	29,0± 3,3**	0,44± 0,017*	0,3± 0,021**
Концентрація моноцукрів і оксипроліну в крові										
Контрольна група	19,6±2,67		47,8±4,6		116,5±8,9		26,1±2,66		108±8	
Через 6 годин	25,5± 3,22	19,6± 2,11	65,5± 6,2*	41,6± 4,1**	0,186± 0,017*	0,17± 0,014	34,5± 3,12*	25,2± 2,18**	0,14± 0,007*	0,13± 0,011
Через 12 годин	25,1± 1,17*	22,4± 1,72	78,4± 6,9*	63,8± 6,7	0,183± 0,019*	0,153± 0,017	33,6± 3,17*	30,8± 2,52	0,15± 0,011*	0,13± 0,007
Через 24 години	26,6± 0,92*	19,6± 1,62**	80,7± 8,9*	44,1± 6,6**	0,211± 0,017*	0,160± 0,026	35,1± 2,92*	26,6± 4,32	0,13± 0,007*	0,12± 0,006
Через 48 годин	26,4± 0,87*	19,3± 2,37**	84,4± 8,8*	46,3± 5,7**	0,355± 0,026*	0,126± 0,017**	39,0± 3,87*	26,0± 2,33**	0,14± 0,01	0,11± 0,007**

Примітка: * - p< 0,05 у порівнянні з контрольною групою; ** p<0,05 у порівнянні з тваринами I групи.

I - тварини з гострим експериментальним панкреатитом; II - тварини з гострим експериментальним панкреатитом, яким вводили L-лізину есенат.

Таблиця 2

Вплив L-лізину есенату на проникливість слизової оболонки тонкої кишки білих щурів при гострому експериментальному панкреатиті (M±m)

Показник	Гематокрит, л/л		Відношення екскреції лактоулоза/маніт		Індекс набряку, бали		Аспит, мл	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Контрольна група	0,47±0,03		0,0146±0,005		0		0	
Через 6 годин	0,54± 0,02	0,53± 0,03	0,0346± 0,0035*	0,0226± 0,0031 **	2,1± 0,1	1,7± 0,2	3,7± 0,2	2,4± 0,3**
Через 12 годин	0,61± 0,04*	0,56± 0,03	0,0587± 0,0038*	0,0411± 0,0027	2,8± 0,2	2,1± 0,2	5,9± 0,3	3,0± 0,1**
Через 24 години	0,60± 0,02*	0,52± 0,02**	0,0768± 0,0032*	0,0257± 0,0041**	2,8± 0,3	1,6± 0,2**	7,4± 0,5	2,8± 0,3**
Через 48 го- дин	0,56± 0,04	0,49± 0,04	0,0535± 0,0043*	0,0221± 0,0053**	2,9± 0,1	1,1± 0,3**	7,7± 0,4	3,2± 0,5**

Примітка: * - p< 0,05 у порівнянні з контрольною групою; ** p<0,05 у порівнянні з тваринами I групи.

I - тварини з гострим експериментальним панкреатитом; II - тварини з гострим експериментальним панкреатитом, яким вводився L-лізину есенат.

воджується підвищенням концентрації вільних СК після операції на 11,2%. У тварин I групи через 6 год після індукції ГЕП вміст СК у муцині вірогідно (p<0,05) збільшувався на 33,6%, через 12 год – на 38,56% і тільки через 48 год експе-

рименту зменшився до показників тварин КГ. Подібні зміни спостерігалися з другим важливим компонентом ГП – гексозамінами (табл.1). Концентрація вільних, не зв'язаних з білком, ГА у муцині, підвищувалася на 46,2% (p<0,02) і зали-

шалася на високому рівні протягом експерименту, що відображало підвищений катаболізм ГП під дією активованих лізосомальних ферментів (глікозилтрансфераз та глікозидаз). За даними [1] моноцукри утворюють олігоцукрові ланцюги, що зв'язані О-глікозидним зв'язком із білком, в якому приймають участь N-ацетилгалактозамін і гідроксильна група бокового ланцюга серіну або проліну. Розпад бокових ланцюгів моноцукрів під впливом глікозидаз робить білок ГП муцину чутливим до дії протеаз [6]. У результаті активації необмеженого протеолізу концентрація білка в муцині знизилася через 12 год до $5,31 \pm 0,12$ мг/г і становила тільки $5,91 \pm 0,22$ мг/г на 48 год спостереження (контроль - $13,12 \pm 0,19$ мг/г ($p < 0,02$)). У тварин із ГЕП вміст ГК у міжклітинному матриксі слизової оболонки ГК у 1,5 – 2,28 раза ($p < 0,02$) більш значний порівняно з тваринами КГ, що відображає деградацію також і дисахаридних одиниць протеогліканів (ПГ), кожна з яких містить ГК. Вірогідно ($p < 0,05$) підвищувався рівень ОП у 1,5 – 1,6 раза. Однотипні зміни моноцукрів спостерігалися і в крові тварин І групи (табл. 1). Через 6 год від початку ГЕП у крові вірогідно ($p < 0,05$) підвищувалася концентрація вільних, не зв'язаних із білками, всіх моноцукрів і утримувалася на такому рівні до закінчення експерименту. При чому, як витікає з даних табл.1, показники моноцукрів у крові, за виключенням ФК, повністю відображали динаміку їх змін у муцині. При лапаротомії в тварин І групи уже через 6 год виявлялася значно потовщена стінка ТК, особливо пристінковий слизовий шар, який легко відшаровувався в просвіт кишки. На деяких ділянках ТК спостерігалася втрата цілісності слизової оболонки по типу виразкового дефекту. У просвіті ТК і, особливо, у ЧП збільшувалася кількість рідини (табл. 2). Руйнування функціонально важливих структур слизової оболонки спричиняло підвищену її проникливість. Уже через 6 год після індукції ГЕП у тварин І групи ВЛ/М у 3,7 раза, через 24 год – у 5,26 раза і через 48 год – у 4,35 раза ($p < 0,01$) перевищувало показник КГ. Більш значні морфологічні зміни відбувалися через 48 год експерименту. Стінка ТК набрякла, потовщена і ригідна, ІН досягав максимального значення ($2,9 \pm 0,1$ балів), збільшувався асцит ($7,7 \pm 0,4$ мл), залишався високим Гт, що відображало подальшу екстравазацію рідини в позаклітинний простір. Після введення L-лізіну есценату тваринам із ГЕП вміст СК у муцині в порівнянні з тваринами І групи падає (табл.1): через 6 год на 22,2% ($p < 0,02$), через 12 год – на 17,46% ($p < 0,05$), через 24 год – на 26,6% ($p < 0,01$) і на 24 та 48 години експерименту вміст

СК в муцині не відрізняється від показників КГ. Знижуються показники вільних, не зв'язаних із білком, всіх моноцукрів муцину і міжклітинного матриксу, а також крові (табл. 1), що свідчить про зменшення деградації ГП і ПГ та відновлення їх структури. Зменшується проникливість слизової оболонки для лактулози і, в меншій мірі, для маніту, а також стінки капілярів ТК для рідини (табл. 2). Так, у тварин ІІ групи, яким після індукції ГЕП вводили L-лізіну есценату, на всіх етапах обстеження ВЛ/М було вірогідно ($p < 0,01$) нижчим показників експериментальних тварин із ГЕП (І група) без такого лікування. За даними [6] лактулоза, що має велику молекулу, адсорбується із просвіту кишечника парацелюлярно через щільні з'єднання між епітеліоцитами слизової оболонки, основу яких становлять протеоглікани. Зменшення абсорбції Л свідчить про відновлення структури ПГ міжклітинного матриксу не тільки слизової оболонки, але і судин ТК, що впливає на ступінь набряку стінки ТК і кількість рідини в ЧП (табл. 2).

Висновки При гострому панкреатиті порушується бар'єрна функція тонкої кишки і стінки судин за рахунок деградації глікопротеїнів і протеогліканів, що проявляється підвищеною проникливістю для молекул лактулози і маніту, а також стінки судин для рідини.

Уведення L-лізіну есценату тваринам з гострим експериментальним панкреатитом захищає глікопротеїни і протеоглікани слизової оболонки тонкої кишки від дії лізосомальних ферментів і, як наслідок, нормалізує підвищену проникливість кишкового бар'єру і стінки судин.

Перспективи подальших досліджень Подальші дослідження будуть спрямовані на патогенетичне обґрунтування лікарських засобів для профілактики і лікування гнійно-септичних ускладнень гострого панкреатиту.

Література

1. Железная Л.А. Структура и функция гликопротеинов слизи (муцинов) / Л.А. Железная // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 1999. - № 1. - С. 50 - 57.
2. Кривова Н.А. Видовые особенности состава надэпителиального слизистого слоя пищеварительного тракта у крыс и мышей / Н.А. Кривова, Т.И. Селиванова, О.Б. Заева // Физиол. журн. СССР. - 1994. - Т. 80, № 8. - С. 118 - 123.
3. Шараев П.Н. Метод определения фукозы, не связанной с белками / П.Н. Шараев, Н.С. Стрелков, Р.Р. Кильдияров и др. // Клин. лаб. диагност. - 1997. - №4. - С. 17 - 18.
4. Klar E. Isovolemic hemodilution with dextran 60 as treatment of pancreatic ischemia acute pancreatitis / E. Klar, T. Foitzic, H.J. Burn, K. Messmer et. al. // Ann. Surg. - 1993. - V. 217. - P. 369 - 374.
5. Shi H.P. Hypertonic saline improves intestinal mucosa barrier function and lung injury after trauma-hemorrhagic shock / H.P. Shi, E.A. Deutch, Z. Xu Da, Q. Lu et. al. // Shock. - 2002. - V. 17. - P. 496 - 501.
6. Nagpal K. Evaluation of intestinal mucosal permeability function in patients with acute pancreatitis / K. Nagpal // Am. J.

Surgery. - 2006. - V. 192. - P. 24 - 28.

7. Flint R.S. The role of the intestine in the pathophysiology and management of severe acute pancreatitis / R.S. Flint, J.A. Windsor // H. P. B. - 2003. - V. 5. - № 2. - P. 69 - 85.

8. Hegyi P. L-arginine-induced experimental pancreatite / P. Hegyi, J. Pakonczad, R. Sari et al. // World J. Gastroenterology. - 2004. - V. 10. - P. 2003 - 2009.

9. Prabhu R. Altered glycolisation of surfactant and brush border membrane of the small intestine in response to surgical manipulation / R. Prabhu, K.A. Balasubramanian // J. Surg. Research. - 2004. - V. 117. - P. 272 - 282.

10. Sánchez J. Colorimetric Assay of Alditols in Complex Biological Samples / J. Sánchez // J. Agric. Food Chem. - 1998. - V. 46. - P. 157 - 160.

11. Nagendra R. An improved colorimetric method for the estimation of lactulose in lactose-lactulose mixtures/R. Nagendra, S. Venkat Rao//Food Chemistry. - 1992. - V. 43. - P. 399 - 402.

ВЛИЯНИЕ L-ЛИЗИНА ЭСЦЕНАТА НА СТРУКТУРУ И ПРОНИЦАЕМОСТЬ КИШЕЧНОГО БАРЬЕРА ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

О.В.Ротарь, В.И.Ротарь

Резюме. Индукция острого экспериментального панкреатита сопровождается нарушением кишечного барьера в результате деградации гликопротеинов и повышения проницаемости слизистой оболочки тонкой кишки. L-лизина эсцената защищает гликопротеины слизистой оболочки

тонкой кишки от влияния лизосомальных ферментов и уменьшает проницаемость кишечного барьера.

Ключевые слова: кишечный барьер, гликопротеины, протеогликаны, проницаемость.

OF L-LYSINE AESCINATE INFUENCE ON STRUCTURE AND PERMEABILITY INTESTINAL BARRIER DURING ACUTE PANCREATITIS

O.V.Rotar, V.I. Rotar

Abstract. Induction of acute experimental pancreatitis was followed by disorders of structure of intestinal barrier due to degradation of glycoproteins of small intestinal mucosal permeability. L-lysine aescinate defenses glycoproteins of mucous membrane of the small intestine and elevation from lyzosomal ferments activity and decreases permeability of the intestinal barrier for mannitol and lactulose.

Key words: intestinal barrier, glycoproteins, proteoglycans, permeability.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and expir. pathol. - 2011. - Vol.10, №4 (38).-P.80-83

*Надійшла до редакції 17.10.2011
Рецензент - проф. І. Ю. Полянський
© О.В.Ротарь, В.І.Ротарь, 2011*