

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА
CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.381-002-092.4:616.36:612.397.81:577.175.44:612.56
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-391-401>

Поступила в редакцию 17.06.2021
Received 17.06.2021

Е. Н. Чепелева, Ф. И. Висмонт

Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

**КЛЕТКИ КУПФЕРА В РЕГУЛЯЦИИ СОДЕРЖАНИЯ ХОЛЕСТЕРИНА В ПЕЧЕНИ
И ЛИПОПРОТЕИНАХ КРОВИ, УРОВНЯ ЙОДСОДЕРЖАЩИХ ГОРМОНОВ
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В КРОВИ И ТЕМПЕРАТУРЫ ТЕЛА
У КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПЕРИТОНИТОМ**

Аннотация. Несмотря на успехи современной хирургии, достижения асептики и антисептики, достаточно широкие возможности антибактериальной, инфузионной и детоксикационной терапии, частота возникновения перитонита и летальность от него остаются на высоком уровне.

Целью исследования являлось выяснение значимости активности клеток Купфера в регуляции содержания общего холестерина в печени и липопротеинах крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела у крыс с экспериментальным перитонитом.

Установлено, что в условиях экспериментального перитонита у крыс развивается вторичная атерогенная дислипотеинемия и снижается уровень йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови. В изменении содержания общего холестерина в печени, общего холестерина, холестерина липопротеинов, уровня йодсодержащих гормонов в крови и температуры тела при перитоните участвуют клетки Купфера и монооксид азота. Снижение активности клеток Купфера при перитоните, по-видимому, играет компенсаторную роль, препятствуя развитию вторичной дислипотеинемии.

Ключевые слова: экспериментальный перитонит, сепсис, клетки Купфера, холестерин, липопротеины, йодсодержащие гормоны, щитовидная железа, печень, температура тела

Для цитирования: Чепелева, Е. Н. Клетки Купфера в регуляции содержания холестерина в печени и липопротеинах крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в крови и температуры тела у крыс с экспериментальным перитонитом / Е. Н. Чепелева, Ф. И. Висмонт // Вест. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2021. – Т. 18, № 4. – С. 391–401. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-391-401>

Elena N. Chepeleva, Frantisek I. Vismont

Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**KUPFFER CELLS IN THE REGULATION OF THE CHOLESTEROL CONTENT
IN THE LIVER AND THE BLOOD LIPOPROTEINS, THE LEVEL
OF IODINE-CONTAINING THYROID HORMONES IN THE BLOOD
AND THE BODY TEMPERATURE IN RATS WITH EXPERIMENTAL PERITONITIS**

Abstract. Despite the modern surgery progress and success, the achievements of asepsis and antisepsis, as well as rather broad possibilities of antibacterial, infusion and detoxification therapy, the incidence of peritonitis and mortality from it remain at a high level.

The aim of the study was to clarify the significance of the activity of Kupffer cells in the regulation of total cholesterol in the liver and blood lipoproteins, the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood and the body temperature in rats with experimental peritonitis.

It was found that in the conditions of experimental peritonitis in rats, secondary atherogenic dyslipoproteinemia develops and the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood decreases. Kupffer cells and nitrogen monoxide are involved in the changes in the content of total cholesterol, lipoproteins, the level of iodine-containing hormones in the blood plasma and the body temperature during peritonitis. A decrease in the activity of Kupffer cells in peritonitis, apparently, plays a compensatory role and prevents the development of secondary dyslipoproteinemia.

Keywords: experimental peritonitis, cecal ligation and puncture, sepsis, Kupffer cells, cholesterol, lipoproteins, iodine-containing hormones, thyroid gland, liver, body temperature

For citation: Chepeleva E. N., Vismont F. I. Kupffer cells in the regulation of the cholesterol content in the liver and the blood lipoproteins, the level of iodine-containing thyroid hormones in the blood and the body temperature in rats with experimental peritonitis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2021, vol. 18, no. 4, pp. 391–401 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2021-18-4-391-401>

Введение. Перитонит, будучи частым и наиболее опасным осложнением острых хирургических, гинекологических заболеваний, повреждений органов брюшной полости и оперативных вмешательств на них, является широко распространенной патологией, которая представляет собой серьезную не только медицинскую, но и социальную проблему [1, 2]. Летальность при терминальных стадиях данного заболевания может достигать 50–70 % [3, 4].

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 [1, 5–7].

Известно, что печеночная недостаточность сопровождается значительными нарушениями обменных процессов, особое значение среди которых имеют изменения метаболизма липидов, в частности обмена липопротеинов (ЛП) сыворотки крови [6–11]. Предполагается, что 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 [12].

Известно, что при септических состояниях и перитоните имеет место выраженная эндотоксинемия. К настоящему времени накопилось достаточное количество фактов, свидетельствующих о значении клеток Купфера (КК) в процессах жизнедеятельности в норме и при патологии, в процессах детоксикации и элиминации эндотоксинов в печени [13–17]. Показано, что патогенные эффекты эндотоксинов на метаболизм и функции различных клеток и гепатоцитов, в частности, при перитоните связаны с усиленной продукцией КК целого ряда цитокинов, а также монооксида азота (NO) [18, 19], под воздействием которых происходят изменения в системе нейроэндокринной регуляции органов и систем [13, 15, 17].

Рядом исследователей выявлено, что печень участвует в метаболизме гормонов и физиологически активных веществ, а также в регуляции обмена ХС ЛП сыворотки крови и, в частности, гормонов щитовидной железы, обеспечивая поддержание их оптимальной концентрации в крови [20, 21].

Однако, несмотря на то что исследования по выяснению значимости функционального состояния печени в патогенезе септических состояний многочисленны, значимость активности клеток КК в процессах изменения липидного профиля, метаболизма ХС ЛП крови, уровня йодсодержащих гормонов в плазме крови и температуры тела при перитоните остается во многом не изученной.

Цель исследования – выяснить значимость активности клеток Купфера в регуляции содержания общего холестерина в печени и липопротеинов в крови, уровня йодсодержащих гормонов щитовидной железы в плазме крови и температуры тела у крыс с экспериментальным перитонитом (CLP-модель).

Материалы и методы исследования. Опыты выполнены на 108 взрослых белых крысах обоего пола массой 180–250 г. До постановки эксперимента животных адаптировали к условиям вивария. Они получали полноценный пищевой рацион в соответствии с правилами содержания лабораторных животных. Питательный режим соответствовал принципу *ad libitum*.

В связи с имеющимися в литературе данными о том, что у животных в течение суток происходят значительные колебания уровня ряда гормонов и биогенных аминов в крови, которые сопровождаются изменениями в энергетическом и пластическом обмене, опыты проводили в строго определенное время (8–12 ч утра), соблюдая термонеутральные условия (20–22 °C).

Для создания экспериментального перитонита использована модель лигирования и последующего однократного пунктирования слепой кишки – CLP (cecal ligation and puncture) [22]. 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 [22, 23]. В качестве контроля использовали ложноперитонизированных (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.

Селективную депрессию КК вызывали у животных за 12 ч до CLP-операции или ложной операции путем внутривенного введения водного раствора гадолиния хлорида ($GdCl_3$) в дозе 10 мг/кг. Считается, что $GdCl_3$ является селективным ингибитором КК [16, 17].

Декапитацию животных проводили через 24 ч после лигирования и пунктирования слепой кишки или ложной операции. Взятие для исследования крови, ткани печени у контрольных и опытных животных проводилось за максимально короткое время после декапитации. Суммарную фракцию липопротеинов очень низкой плотности (ЛПОНП) и липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) из сыворотки крови выделяли путем осаждения по методу M. Burstein, J. Samaille [24]. Для определения содержания общего ХС, ХС липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) в сыворотке крови и ХС в тканевых гомогенатах проводили экстракцию липидов по методу М. А. Креховой, М. К. Чехрановой [25]. Содержание ХС в сухих липидных экстрактах сыворотки крови оценивали с использованием реакции Либермана–Бурхарда, а содержание ХС суммарной фракции ЛПОНП + ЛПНП – по формуле $ХС\ ЛПОНП + ЛПНП = \text{общий ХС сыворотки крови} - ХС\ ЛПВП$.

Коэффициент атерогенности рассчитывали по следующей формуле: коэффициент атерогенности = $(ХС\ ЛПОНП + ЛПНП) / ХС\ ЛПВП$.

Продукцию NO определяли по суммарному уровню в плазме крови нитратов/нитритов (NO_3^-/NO_2^-) [26], содержание общего трийодтиронина (T_3) и тироксина (T_4) в плазме крови – радиоиммунологическим методом с использованием наборов реактивов РИА- T_3 -СТ и РИА- T_4 -СТ производства УП «ХОП ИБОХ НАН Беларуси».

Тяжесть поражения печени оценивали по изменению соотношения активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) (АлАТ/АсАТ) в сыворотке крови, являющихся важнейшими показателями тяжести поражения печени. Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови определяли колориметрическим динитрофенилгидрозиновым методом [27].

У всех животных с помощью электротермометра ТПЭМ-1 (НПО «Медфизприбор», Российская Федерация) измеряли ректальную температуру. Эксперименты проводили в соответствии с этическими нормами обращения с животными. Полученные цифровые данные обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики с помощью критерия Стьюдента. Все данные представляли в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего арифметического ($\bar{X} \pm S_x$). Статистически достоверными считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Опыты показали, что через 24 ч после CLP-операции у всех крыс развиваются некротические изменения в слепой кишке, отмечаются перитонит с выпотом в брюшную полость и парез кишечника, имеются выраженные признаки генерализованной воспалительной реакции: адинамия, вялость, в большинстве случаев – геморрагический конъюнктивит и диарея.

Установлено, что в условиях экспериментального перитонита через 24 ч после CLP-операции, но не у ЛО крыс, ректальная температура снижается на $1,1\text{ }^{\circ}\text{C}$: с $37,9 \pm 0,09$ до $36,8 \pm 0,21\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($p < 0,05$; $n = 12$). Активность АлАТ и АсАТ в плазме крови животных с перитонитом через 24 ч после CLP-операции возрастала. Развитие перитонита у крыс ($n = 10$) сопровождалось повышением



Изменение активности АлАТ, АсАТ и их соотношения в сыворотке крови крыс в условиях экспериментального перитонита (CLP-модель). * – $p < 0,01$; ** – $p < 0,05$

Changes in the activity of ALT, AST and their ratio in the blood serum of rats under the experimental peritonitis conditions (CLP-model). * – $p < 0.01$; ** – $p < 0.05$

активности АлАТ в сыворотке крови по сравнению с данным показателем у ЛО животных ($n = 10$) на 71,2 % ($p < 0,01$): активность составляла $0,59 \pm 0,05$ мккат/л у ЛО крыс и $1,01 \pm 0,09$ мккат/л у опытных животных после CLP-операции. Активность АсАТ в плазме крови крыс в этих условиях возрастала по сравнению с ее активностью у ЛО животных на 15,5 % ($p < 0,05$) и составляла $0,84 \pm 0,04$ мккат/л у ЛО крыс ($n = 10$) и $0,97 \pm 0,05$ мккат/л у опытных животных ($n = 10$). Соотношение активностей АлАТ/АсАТ составляло $0,70 \pm 0,04$ у ЛО крыс и $1,04 \pm 0,08$ у животных с перитонитом (см. рисунок).

Выявлено, что содержание общего ХС в печени крыс после CLP-операции повышалось на 14,1 % ($p < 0,05$): у ЛО животных ($n = 10$) оно составляло $0,298 \pm 0,007$ мг/100 мг ткани, а у крыс с перитонитом ($n = 10$) – $0,340 \pm 0,014$ мг/100 мг ткани. Также имели место повышение уровня общего ХС в сыворотке крови на 23,3 % ($p < 0,05$) – от $2,66 \pm 0,14$ ммоль/л ($n = 10$) до $3,28 \pm 0,11$ ммоль/л ($n = 10$) и выраженные изменения в содержании ХС различных классов ЛП в сыворотке крови крыс: содержание ХС ЛПВП по сравнению с таковым у ЛО животных снижалось на 37,1 % ($p < 0,01$) – с $1,32 \pm 0,09$ ммоль/л ($n = 10$) до $0,83 \pm 0,07$ ммоль/л ($n = 10$), уровень ХС ЛПОНП + ЛПНП повышался на 82,8 % ($p < 0,001$) – от $1,34 \pm 0,07$ ммоль/л ($n = 10$) до $2,45 \pm 0,08$ ммоль/л ($n = 10$). Установлено, что в условиях перитонита имеет место возрастание коэффициента атерогенности (Ка) на 189,2 % ($p < 0,001$) – от $1,02 \pm 0,07$ ед. у ЛО крыс ($n = 10$) до $2,95 \pm 0,08$ ед. у опытных животных ($n = 10$). Таким образом, повышение коэффициента атерогенности обусловлено как понижением содержания ХС ЛПВП, так и, главным образом, увеличением содержания ХС суммарных фракций ЛПОНП + ЛПНП в крови, что свидетельствует о развитии вторичной атерогенной дислипотеинемии.

Обнаружено, что в организме крыс при перитоните через 24 ч после CLP-операции имеет место снижение в плазме крови уровня T_4 на 69,7 % ($p < 0,05$) и содержания T_3 на 24,1 % ($p < 0,05$): с $48,40 \pm 9,5$ нмоль/л у ЛО крыс ($n = 8$) до $14,67 \pm 1,6$ нмоль/л у опытных животных ($n = 8$) и с $1,62 \pm 0,12$ нмоль/л ($n = 8$) до $1,23 \pm 0,07$ нмоль/л ($n = 8$) соответственно.

Выявлено, что в этих условиях у крыс изменяется содержание в плазме крови NO_3^-/NO_2^- – конечных продуктов деградации NO. Развитие перитонита у крыс приводило к повышению концентрации NO_3^-/NO_2^- в плазме крови животных на 81,8 % ($p < 0,05$) – от $5,27 \pm 0,46$ мкмоль/л у ЛО животных ($n = 8$) до $9,58 \pm 1,27$ мкмоль/л у крыс с перитонитом ($n = 8$).

Учитывая, что КК играют важную роль в инактивации эндотоксина бактериального происхождения и в образовании целого ряда цитокинов, а также NO [15, 18], участвующих в регуляции процессов жизнедеятельности, в частности в обмене тиреоидных гормонов и ЛП в крови [13],

Информация об авторах

Чепелева Елена Николаева – ст. преподаватель. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: drhelen1993@gmail.com

Висмонт Франтишек Иванович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр-т Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: patfiz@bsmu.by

Information about the authors

Elena N. Chepeleva – Senior lecturer. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: drhelen1993@gmail.com

Frantyshek I. Vismont – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhinski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: patfiz@bsmu.by