

© Коллектив авторов, 2018
УДК 616.36-089.87-089.168.1-085

Солин А.В., Ляшев А.Ю., Ляшев Ю.Д.

Влияние опиоидных пептидов на функциональную активность печени после частичной гепатэктомии

ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, 305041, г. Курск, Россия, ул. Карла Маркса, д. 3

Цель исследования — сравнительный анализ влияния селективных агонистов отдельных классов опиоидных рецепторов на белковосинтетическую функцию печени, развитие цитолитического и холестатического синдромов у крыс, подвергшихся частичной гепатэктомии. **Методика.** Работа выполнена на 152 крысах-самцах Вистар массой 200—250 г. Частичную гепатэктомию выполняли по методу, описанному Higgins G.M. и Anderson R.M. с удалением 70% ткани печени. В плазме крови определяли концентрации общего белка, альбуминов, общего билирубина, активность аланинтрансаминазы (АЛТ), аспартаттрансаминазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) традиционными методами. Опиоиды: DAGO в дозе 6,3 мкг/кг, DSLET в дозе 10,0 мкг/кг, динорфин А (1—13) в дозе 20,1 мкг/кг, вводили внутривентриально ежедневно 1 раз в сутки в течение 5 сут. эксперимента в объеме 0,2 мл. Контрольным животным аналогично вводили физраствор. **Результаты.** Удаление 70% ткани печени у крыс-самцов Вистар сопровождается развитием печеночной недостаточности, проявляющейся гипербилирубинемией, гипоальбуминемией, гипопроотеинемией, повышением активности трансаминаз и лактатдегидрогеназы. Применение селективных агонистов опиоидных рецепторов у крыс, которым моделировали частичную гепатэктомию, оказывало гепатопротективное действие и снижало выраженность проявлений печеночной недостаточности, начиная с 3-х сут. после резекции. Активность трансаминаз, лактатдегидрогеназы и концентрация общего билирубина у животных, которым вводили опиоиды, были существенно ниже, чем в контрольной группе. Содержание общего белка и альбуминов было статистически значимо выше в группах, которые получали исследованные пептиды, по сравнению с контрольной группой на 7-е сут. после частичной гепатэктомии. Наиболее выраженное действие проявлял селективный агонист опиоидных мю-рецепторов DAGO. По нашему мнению, такое влияние пептидов объясняется присущими им антиоксидантным и антигипоксическим эффектами, что снижает повреждающее действие оперативного вмешательства на печень. Более выраженное влияние DAGO связано, по-видимому, с особенностями распределения опиоидных рецепторов или устойчивостью пептида к действию эндопептидаз благодаря модификациям в молекуле пептида. **Заключение.** Применение опиоидов стимулирует восстановление функциональной активности печени после частичной гепатэктомии. Наибольший эффект отмечается при введении мю-агониста DAGO.

Ключевые слова: частичная гепатэктомия; опиоидные пептиды; печеночная недостаточность.

Для цитирования. Солин А.В., Ляшев А.Ю., Ляшев Ю.Д. Влияние опиоидных пептидов на функциональную активность печени после частичной гепатэктомии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2018; 62(3): 67—71.

DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.67-71

Для корреспонденции: Солин Алексей Владимирович, канд. мед. наук, доцент каф. анатомии человека, e-mail: medps@yandex.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 10.02.2018

Solin A.V., Lyashev A.Y., Lyashev Y.D.

Effect of opioid peptides on liver function after partial hepatectomy

Kursk State Medical University, Karla Marksa Str. 3, 305049, Kursk, Russia

Aim. The aim of the study was to compare effects of selective agonists of opioid receptors from different classes on the protein-synthesizing function of liver and development of cytolytic and cholestatic syndromes in rats after partial hepatectomy. **Methods.** The study was conducted on 152 Wistar male rats weighing 200—250 g. The animals were subjected to partial hepatectomy according to the Higgins and Anderson method. Concentrations of total protein, albumin, total bilirubin, and activities of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and lactate dehydrogenase were measured in plasma using standard methods. The opioids, DAGO (6.3 µg/kg), DSLET (10.0 µg/kg), and dynorphin A (1-13) (20.1 µg/kg), were injected in 0.2 ml of saline daily for 5 days. Control animals were injected with 0.2 ml of saline for 5 days. **Results.** Resection of 70% of liver tissue resulted in development of liver failure as evidenced by hyperbilirubinemia,

hypoalbuminemia, hypoproteinemia, and increased transaminase and lactate dehydrogenase activities. Selective agonists of opioid receptors administered to the rats after partial hepatectomy exerted a hepatoprotective effect and alleviated the signs of liver failure beginning from the 3rd day after resection. Transaminase and lactate dehydrogenase activities were significantly lower in opioid-treated rats than in the control group. Levels of total protein and albumins were significantly higher in the groups injected with the study peptides compared to the control group on the 7th day after partial hepatectomy. The selective agonist of opioid μ -receptors, DAGO, exerted the most pronounced effect. Apparently, the similar effects of peptides were due to their antioxidant and anti-hypoxic action, which alleviated the detrimental effect of liver surgery. The more pronounced effect of DAGO apparently resulted from peculiarities of opioid receptors distribution or peptide resistance to endopeptidase action due to modifications of the peptide molecule. **Conclusion.** Administration of opioids stimulated restoration of liver functional activity after partial hepatectomy. Injections of the μ -agonist, DAGO, produced the most pronounced effect.

Keywords: partial hepatectomy; opioid peptides; liver failure.

For citation: Solin A.V., Lyashev A.Y., Lyashev Y.D. The influence of opioid peptides on functional activity of hepatocytes after partial hepatectomy. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2018; 62(3): 67—71. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2018.03.67-71

For correspondence: Solin Alexey Vladimirovich, P.H.D., assistant of professor of anatomy department of Kursk State Medical University; 3, K. Marks str., Kursk, 305041, Russian Federation, e-mail: medps@yandex.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Information about authors:

Solin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-6277-3506>
Lyashev A.Y., <https://orcid.org/0000-0001-7170-0416>
Lyashev Y.D., <https://orcid.org/0000-0003-0536-923X>

Received 10.02.2018

Введение

В настоящее время резекции печени получили широкое распространение в клинической практике, как средство лечения очаговых поражений органов [1]. Однако значительное уменьшение объема паренхимы органа в результате резекции часто сопровождается развитием грозного осложнения — печеночной недостаточности [2]. Тяжесть пострезекционной печеночной недостаточности определяется объемом удаленной части органа, сохранением функциональной активности оставшейся части гепатоцитов и их регенераторным потенциалом [3]. В этой связи представляется перспективным изучение влияния биологически активных веществ на функциональную активность печени в пострезекционном периоде.

Опиоидные пептиды (ОП) обладают уникальной совокупностью свойств — проявляют стресс-лимитирующее, антигипоксическое действие, антиоксидантную активность [4]. Ранее показано, что ОП способны стимулировать регенераторные процессы в различных тканях при их повреждении [5], в том числе пролиферацию гепатоцитов у крыс, перенесших стресс [6]. В этой связи представляет интерес изучение эффектов ОП на функциональную активность печени у животных, подвергшихся частичной гепатэктомии (ЧГЭ).

Цель работы — сравнительный анализ влияния селективных агонистов отдельных классов опиоидных рецепторов (ОР) на белковосинтетическую функцию печени, развитие цитолитического и холестатического синдромов у крыс, подвергшихся частичной гепатэктомии.

Методика

Работа выполнена на 152 крысах-самцах Вистар массой 200—250 г. Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986). Работа одобрена этическим комитетом Курского государственного медицинского университета.

Животные были разделены на следующие группы: интактная ($n = 6$), ложнооперированная ($n = 15$), контрольная (резекция печени, $n = 30$) и 3 опытные группы (резекция печени + введение исследуемых ОП, ($n = 30$)). ЧГЭ выполняли по методу, описанному Higgins G.M. и Anderson R.M. с удалением 70% ткани печени [7]. Животных наркотизировали внутривенным введением зоветила. Крыс фиксировали в положении лежа на спине на

специальном столике. После обработки операционного поля выполняли срединную лапаротомию, начиная с точки на 4 см ниже мечевидного отростка. После лигирования сосудов производили удаление медиальной и левой латеральной долей печени с сохранением правой и хвостатой долей. После санации брюшной полости и контроля гемостаза разрез ушивали послойно. Согласно данным литературы, объем удаленной ткани печени по методу Higgins G.M. и Anderson R.M. составляет 70%. Смертность животных после ЧГЭ в контрольной группе составила 14,3%, в группах, получавших ОП — 6,3%. Ложнооперированным крысам выполняли срединную лапаротомию, печень временно частично выводили из брюшной полости и затем возвращали назад. Разрез ушивали послойно. Всех животных выводили из эксперимента на 1-е, 3-е, 7-е сут. передозировкой эфирного наркоза. В плазме крови определяли концентрации общего белка, альбуминов, общего билирубина, активность аланинтрансаминазы (АЛТ), аспартаттрансаминазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ) традиционными методами [8]. В работе использованы селективные агонисты ОР в эквивалентных дозах: DAGO (агонист мю-рецепторов) в дозе 6,3 мкг/кг, DSLET (агонист дельта-рецепторов) в дозе 10,0 мкг/кг, диноρφин А (1-13) (агонист каппа-рецепторов) в дозе 20,1 мкг/кг [4]. Пептиды вводили внутривентриально ежедневно в объеме 0,2 мл 1 раз в сут, начиная со дня выполне-

ния резекции печени, в течение 5 сут. эксперимента в объеме. Контрольным животным аналогично вводили физраствор.

Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t-критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров.

Результаты и обсуждение

У крыс с ЧГЭ установлено увеличение активности АЛТ, АСТ и ЛДГ в плазме крови, сохранявшееся на протяжении всего периода наблюдения (1—7 сут. после операции) (табл. 1). На 3-и и 7-е сут. после ЧГЭ отмечено снижение содержания общего белка и альбуминов, а также повышение концентрации общего билирубина.

Не выявлено статистически значимых различий между показателями животных контрольной группы и крысами, получавшими ОП на 1-е сут. после операции. Однако уже на 3-и сут. эксперимента все изучаемые пептиды проявляли свое гепатопротективное действие. Показано, что активность АЛТ, АСТ, ЛДГ и концентрация общего билирубина у животных, которым вводили ОП, были статистически значимо ниже, чем в контрольной группе. Содержание общего белка и альбуминов было статистически значимо выше в группах, получавших исследованные опиоиды, по сравнению с контрольной группой на

Таблица

Влияние опиоидных пептидов на биохимические показатели крови крыс Вистар, подвергшихся частичной гепатэктомии

Показатели группы	День эксперимента	Активность аланинтрансаминазы в плазме, Ед/л	Активность аспартаттрансаминазы в плазме, Ед/л	Активность лактатдегидрогеназы в плазме, Ед/л	Содержание общего белка в плазме, г/л	Содержание альбумина в плазме, г/л	Содержание общего билирубина в плазме, г/л
Интактные животные		52,3 ± 3,7	195,7 ± 13,3	244,3 ± 4,8	67,5 ± 1,1	31,0 ± 0,2	7,9 ± 0,2
Контрольная группа	1 сут.	115,3 ± 5,5 ^{xxx}	312,7 ± 8,1 ^{xxx}	430,0 ± 17,2 ^{xxx}	66,3 ± 0,6	30,7 ± 0,3	8,2 ± 0,1
	3 сут.	133,3 ± 5,6 ^{xxx}	342,7 ± 8,8 ^{xxx}	403,7 ± 10,4 ^{xxx}	62,8 ± 0,5 ^{xx}	27,5 ± 0,4 ^{xxx}	10,0 ± 0,2 ^{xxx}
	7 сут.	94,2 ± 5,5 ^{xxx}	252,8 ± 10,8 ^x	308,7 ± 7,2 ^x	63,9 ± 0,8 ^x	26,2 ± 0,4 ^{xxx}	8,2 ± 0,2
Группа, получавшая DAGO в дозе 6,3 мкг/кг	1 сут.	98,7 ± 5,6	300,2 ± 8,5	432,0 ± 8,6	66,6 ± 0,5	29,9 ± 0,3	8,1 ± 0,2
	3 сут.	93,5 ± 5,0 ^{***}	311,8 ± 7,0 [*]	315,7 ± 7,2 ^{***}	64,8 ± 0,4 [*]	28,1 ± 0,5 [*]	8,9 ± 0,2 ^{**}
	7 сут.	62,5 ± 2,9 ^{***}	188,0 ± 6,9 ^{***}	246,0 ± 6,7 ^{***}	68,3 ± 0,3 ^{***}	29,6 ± 0,3 ^{***}	8,2 ± 0,1
Группа, получавшая диноρφин А (1-13) в дозе 20,1 мкг/кг	1 сут.	103,2 ± 5,6	284,0 ± 10,7	414,7 ± 10,00	67,3 ± 0,3	30,2 ± 0,2	8,2 ± 0,2
	3 сут.	90,0 ± 3,9 ^{***}	317,5 ± 6,5 [*]	329,7 ± 10,9 ^{**}	64,6 ± 0,3	27,4 ± 0,3	9,4 ± 0,1 [*]
	7 сут.	63,3 ± 3,0 ^{***}	184,5 ± 6,0 ^{***}	252,2 ± 7,8 ^{***}	67,6 ± 0,3 ^{**}	28,4 ± 0,3 ^{**}	8,2 ± 0,2
Группа, получавшая DSLET в дозе 10,0 мкг/кг	1 сут.	100,2 ± 7,3	289,5 ± 11,5	418,3 ± 10,0	67,8 ± 0,4	30,0 ± 0,2	8,2 ± 0,1
	3 сут.	95,5 ± 3,6 ^{***}	309,0 ± 10,1 [*]	317,2 ± 13,6 ^{***}	64,7 ± 0,3 [*]	26,9 ± 0,3	9,4 ± 0,2 [*]
	7 сут.	61,0 ± 3,3 ^{***}	179,5 ± 4,4 ^{***}	238,8 ± 5,4 ^{***}	68,1 ± 0,2 ^{***}	29,5 ± 0,4 ^{***}	8,2 ± 0,2

Примечание. ^x — $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными; ^{xx} — $p < 0,01$ по сравнению с интактными животными; ^{xxx} — $p < 0,001$ по сравнению с интактными животными; ^{*} — $p < 0,05$ по сравнению с контрольными животными; ^{**} — $p < 0,01$ по сравнению с контрольными животными; ^{***} — $p < 0,001$ по сравнению с контрольными животными

7-е сут. после ЧГЭ. Это указывает на улучшение белковосинтетической функции печени под влиянием пептидов. Наиболее выраженный стимулирующий эффект на синтез альбуминов обнаружен у селективного агониста мю-ОР DAGO, при его введении концентрация альбуминов увеличивалась по сравнению с контрольной группой уже на 3-и сут. после резекции. Применение DAGO также вызывало наиболее выраженное снижение концентрации общего билирубина в крови через 3 сут. после ЧГЭ.

У ложнооперированных крыс изменения изучаемых показателей на протяжении всего эксперимента отсутствовали.

Полученные результаты подтверждают данные литературы о развитии печеночной недостаточности после обширной гепатэктомии, которая проявляется гипербилирубинемией и гипоальбуминемией [9]. Развитие печеночной недостаточности является следствием несоответствия функциональных возможностей оставшихся гепатоцитов потребностям организма на этапе послеоперационного периода [10]. Наиболее информативными показателями, характеризующими степень печеночной недостаточности, являются концентрации билирубина, альбуминов, активность АЛТ и АСТ и т.д. [11]. При обширных резекциях развитие печеночной недостаточности связано с двумя основными факторами:

- 1) недостаточным объемом и функциональной неполноценностью остающейся части печени;
- 2) нарушением кровоснабжения органа во время операции и в послеоперационном периоде.

Применение ОП оказывало гепатопротективное действие, что проявлялось более низкими уровнями общего билирубина, АЛТ, АСТ и ЛДГ, а также активацией белковосинтетической функции гепатоцитов. Такое влияние пептидов объясняется присутствием им антиоксидантным и антигипоксическим эффектами [12, 13], что снижает повреждающее действие частичной резекции на печень. Наибольший гепатопротективный эффект установлен при применении DAGO, что связано, по-видимому, с особенностями распределения ОР в ткани печени или устойчивостью этого пептида к действию эндопептидаз. В инактивации энкефалинов принимают участие в основном ферменты внешней поверхности мембраны и биологических жидкостей: ангиотензинпревращающий фермент, эндопептидаза 24.11, аминокептидаза М, энкефалинаминопептидаза [14]. Модификации, присутствующие в молекуле DAGO, повышают устойчивость пептида к действию ферментов, что увеличивает продолжительность его влияния на специфические ОР.

Таким образом, установлено, что применение ОП стимулирует восстановление функциональной актив-

ности печени после ЧГЭ, наиболее выраженный эффект отмечен при введении селективного агониста мю-ОР DAGO.

References

1. Vishnevskiy V.A., Kubyshev V.A., Chzhao A.V., Ikramov R.S. *Operations on the liver: a guide for surgeons. [Operatsii na pecheni: rukovodstvo dlya khirurгов]*. Moscow: Miklosh; 2003. (in Russian)
2. Vishnevskiy V.A., Kovalenko Y.A., Andreitseva O.I., Ikramov R.S., Efanov M.G., Nazarenko N.A. et al. Post-resection hepatic insufficiency: modern problems of definition, epidemiology, pathogenesis, risk factors assessment, prevention and treatment. *Ukrain. zhurn. khirurgii*. 2013; 3: 172-83. (in Russian)
3. Istomin N.P., Ivanov Ju.V., Panchenko D.N. *Features of pancreatic and postoperative hepatic insufficiency in surgery. [Osobennosti pankreaticheskoy i posleoperatsionnoy pechenochnoy nedostatochnosti v khirurgii]*. Moscow; Meditsina; 2011. (in Russian)
4. Lishmanov Ju.B., Maslov L.N. *Opioid neuropeptides, stress and adaptive defense of the heart [Opioidnye neyropeptidy, stress i adaptatsionnaya zashchita serdtsa]*. Tomsk: Izdatelstvo Tomskogo universiteta; 1994. (in Russian)
5. Yang D.J., Lee K.S., Ko C.M., Moh S.H., Song J., Hur L.C. et al. Leucine-enkephalin promotes wound repair through the regulation of hemidesmosome dynamics and matrix metalloprotease. *Peptides*. 2016; 76(1): 57-64.
6. Solin A.V., Lyashev Ju.D. The effect of opioid peptides on stress-induced changes in liver tissue in animals of different typological groups. *Nauch. vedom. BGU. Meditsina. Farmatsiya*. 2016; 36: 120-6. (in Russian)
7. Higgins G.M., Anderson R.M. Experimental Pathology of the Liver. 1. Restoration of the Liver of the White Rat Following Partial Surgical Removing. *Arch. of Pathol.* 1931; 12(2): 186-202.
8. Laboratory methods of research in the clinic. [Laboratornye metody issledovaniya v klinike]. Pod red. V.V. Men'shikova. Moscow; «Meditsina»; 1987. (in Russian)
9. Smorodskiy A.V., Ioncev V.I. Perspectives of surgical treatment of complications of portal hypertension in cirrhosis in patients with decompensated hepatic impairment. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii*. 2010; 1: 210-6. (in Russian)
10. Mullen J.T., Ribero D., Reddy S.K., Donaldson M., Zorzi D., Gautam S. et al. Hepatic insufficiency and mortality in 1059 noncirrhotic patients undergoing major hepatectomy. *J. Am. coll. surg.* 2007; 204(5): 854-62.
11. Dzidzava I.I., Slobodjanik A.V., Ioncev V.I. Complications after extensive liver resections. *Vestnik rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii*. 2015; 51(3): 261-6. (in Russian)
12. Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Naryzhnaya N.V., Pei Zh.-M., Kolar F., Zhang I. et al. Endogenous opioid system as the link of urgent and prolonged adaptation of the organism to extremal actions. The perspectives of clinical usage of opioid peptides. *Vest. RAMN*. 2012; 67(6): 73-82. (in Russian)
13. Lishmanov Yu.B., Naryzhnaya N.V., Maslov L.N., Gross H.J. Opiatergic link of the antiarrhythmic effect of adaptation to hypoxia on the model of ischemia and reperfusion in vivo. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya Terapiya*. 2003; 1: 19-21. (in Russian)
14. Panchenko L.F., Mitjushina N.V., Firstova N.V., Gengin M.T. Metabolism of enkephalins in various functional and pathological conditions of the body. *Voprosy meditsinskoy khimii*. 1999; 45(4): 277-88. (in Russian)

Сведения об авторах:

Солин Алексей Владимирович, канд. мед. наук, доцент каф. анатомии; e-mail: medps@yandex.ru

Ляшев Андрей Юрьевич, студент лечебного факультета КГМУ

Ляшев Юрий Дмитриевич, доктор мед. наук, проф., каф. патофизиологии