

© Коллектив авторов, 2017
УДК 615.065

Копылова С.В.¹, Власова К.М.¹, Анашкина А.А.²

Воздействие токсической дозы адреналина на морфофункциональное состояние печени

¹ ФГАОУВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского»; 603950, г. Нижний Новгород, Россия, пр. Гагарина, д. 23

² ГБОУ ВПО «Нижегородская государственная медицинская академия» Минздрава России, 603005, г. Нижний Новгород, Россия, пл. Минина и Пожарского, д. 10/1

Цель — изучение биохимических показателей крови, характеризующих функциональное состояние печени, и морфологического профиля органа после однократного воздействия токсической дозы адреналина. **Методика.** Исследования проводились на 60 половозрелых крысах (самках) массой 0,15—0,2 кг, которые были разделены на 2 группы: интактные животные и опыт — животные, которым однократно вводился адреналин гидрохлорид внутривенно в дозе 0,5 мг/кг. Забор всех видов биологического материала (кровь, ткань печени) осуществляли через 1 и 10 сут. после начала эксперимента. Степень влияния высокой дозы адреналина оценивали по показателям перекисного окисления липидов (ПОЛ) и белков (ПОБ) в гомогенатах проб печени, концентрации молекул средней массы (МСМ), активности АЛТ, АСТ, ЩФ, ЛДГ, концентрации общего белка, глюкозы и лактата в плазме крови. Определяли также протромбиновое время (ПТВ) с расчетом на его основе международного нормализованного отношения (МНО). Образцы печени исследовали гистологически. **Результаты.** Установлено, что на протяжении всего эксперимента наблюдалась повышенная концентрация продуктов ПОЛ и ПОБ в гомогенатах печени, наблюдалось увеличение концентрации МСМ в 1,7 раза. Через 1 сут. после введения токсической дозы адреналина наблюдалась гиперферментемия, что проявлялось увеличением активности АЛТ и АСТ, отмечалось повышение активности ЛДГ. Через 10 сут. после начала эксперимента выявлена гипоферментемия: активность АЛТ и АСТ уменьшилась, уровень активности ЛДГ оставался повышенным. Уровень общего белка превышал уровень такового в группе животных, у которых исследования проводились через 1 сут. после начала эксперимента, ПТВ также продолжало снижаться. Гистологическая картина свидетельствует о нарушении кровоснабжения, что проявлялось плазматизацией, как в центральных, так и в малых сосудах. Со стороны гепатоцитов как в центре, так и на периферии отмечались изменения по типу зернистой дистрофии, в отдельных участках — вакуольной дистрофии. **Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют, что адреналин в токсических дозах, провоцирует появление катоксического эффекта, характеризующегося активацией окислительного статуса в печени, что ведет к морфологическим изменениям ткани органа, сопровождающимися гиперферментемией, смещением метаболического гомеостаза в сторону катаболизма.

Ключевые слова: адреналин; печень; адреналовая интоксикация.

Для цитирования: Копылова С.В., Власова К.М., Анашкина А.А. Воздействие токсической дозы адреналина на морфофункциональное состояние печени. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2017; 61(2): 67–71. DOI: 10.25557/0031-2991.2017.02.67-71

Для корреспонденции: Власова Ксения Матвеевна, аспирант каф. биохимии и физиологии Института биологии и биомедицины ННГУ им. Н.И. Лобачевского, e-mail: ksyuhavlasov@rambler.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.09.2016

Kopylova S.V.¹, Vlasova K.M.¹, Anashkina A.A.²

Exposure to toxic dose of adrenaline on the functional state of the liver

¹ FSAEI HPE National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23, pr. Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russia

² SBEI Nizhny Novgorod State Medical Academy, 10/1, pl. Minin and Pozharsky, 603005, Russia

The purpose. The blood biochemical parameters characterizing the functional state of the liver, and the morphological profile of the body after a single exposure to a toxic dose of adrenaline were studied. **Methods.** Studies were conducted on 60 adult rats (female) weighing 0.15—0.2 kg, were divided into groups: intact animals; experience — animals, injected with epinephrine hydrochloride intraperitoneally in a dose of 0.5 mg/kg. All kinds of Biological material (blood, liver) were collected out through one and ten days after the start of the experiment. The degree of influence of high doses of epinephrine were evaluated in terms of lipid peroxidation (LPO) and protein (PSP) in liver homogenates, the concentration of average

weight molecules (MSM), the activity of ALT, AST, alkaline phosphatase, LDH, total protein concentration, glucose and lactate in the blood plasma, as well as the determination of the prothrombin time (PTT) with the counting on the basis thereof of international normalized ratio (INR). Histology of the liver was studied by light microscopy. **Results.** It was found that throughout the experiment, there was an increased concentration of lipid peroxidation products and protein in liver homogenates, there was an increase in the concentration of MSM 1.7. Twenty-four hours after the administration of a toxic dose of adrenaline observed hyperenzymemia that manifested an increase in the activity of ALT and AST, was an increase in LDH. After 10-day five after the start of the experiment established the presence hyperenzymemia activity decreased ALT and AST, LDH activity remained elevated. total protein level was higher than in the group of animals in which investigations were conducted one day after the start of the experiment, PTV also continued to decline. In histological sections of the development of a pathological condition characterized by circulatory disturbance — plasmation, both in central and in small vessels. From the hepatocytes both in the center and the periphery had changes granular dystrophy type, to some extent vacuolar.

Keywords: adrenaline; liver; adrenaline intoxication.

Conclusion. The results obtained testify that adrenaline in toxic doses, provokes the appearance catatonic effect, characterized by activation of the oxidative status in the liver, which leads to morphological changes in body tissue, hyperenzymemia, offset metabolic homeostasis towards catabolism.

For citation: Kopylova S.V., Vlasova K.M., Anashkina A.A. Exposure to toxic dose of adrenaline on the functional state of the liver. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2017; 61(2): 67–71. (in Russian) DOI: 10.25557/0031-2991.2017.02.67-71

For correspondence: Kseniia M. Vlasova, Graduate student Department of Biochemistry and Physiology of the Institute of Biology and Biomedicine Lobachevsky State University of Nizhni Novgorod, 23, pr. Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russian Federation, e-mail: ksyuhavlasov@rambler.ru

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

Acknowledgement. The study had no sponsorship.

Received 02.09.2016

Введение

Имеются многочисленные сведения о физиологических эффектах, вызываемых введением терапевтических доз адреналина. Однако, большое количество неотложных состояний в медицине (анафилактический шок, ангионевротический шок, астматический статус, асистолия) корректируется введением высоких доз гормона [1, 2]. Несмотря на это, сведений об ответных реакциях организма на высокие, граничащие с токсическими, дозы адреналина практически нет. Даже при однократном введении этого биологически активного вещества в высокой дозе может развиться адреналиновая интоксикация, одной из мишеней которой является печень [3, 4]. Широкие компенсаторные возможности печени маскируют нарушение функций и соответствующая клиническая манифестация возникает лишь после того как истощаются механизмы адаптации и компенсации. Вопрос понимания природы изменений в печени при адреналиновой интоксикации является актуальным.

Цель исследования — изучение биохимических показателей крови, характеризующих функциональное состояние печени, и морфологического профиля органа после однократного воздействия токсической дозы адреналина.

Методика

Исследования проводились на 60 половозрелых крысах (самках) массой 0,15—0,2 кг. Животные были получены из питомника лабораторных животных филиала «Андреевка» ФГБУН БМТ ФМБА России, Московская область.

Животных содержали в виварии, оборудованной согласно требованиям «Санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» №1045-73. Исследования осуществляли в соответствии с правилами проведения работ и использования экспериментальных животных Приложение к Приказу МЗ СССР №775 от 12.08.77, Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» и ФЗ РФ «О защите животных от жестокого обращения».

Крысы находились в одинаковых пластиковых клетках с поилками, получали полноценный экструдированный комбикорм при свободном доступе к воде.

Животные были разделены на 2 группы: 1-я гр. — интактные; 2-я гр. — опыт — однократное введение адреналина гидрохлорида внутривенно

в дозе 0,5 мг/кг. По истечении сроков эксперимента животных декапитировали.

Забор всех видов биологического материала (кровь, ткань печени) осуществляли через 1 и 10 сут. после начала эксперимента. Степень влияния высокой дозы адреналина оценивали по показателям перекисного окисления: липидов (ПОЛ) и белков (ПОБ) гомогенатов печени, концентрации молекул средней массы (МСМ), активности АЛТ, АСТ, ЦФ, ЛДГ, концентрации общего белка, глюкозы и лактата в плазме крови. Определяли протромбиновое время (ПТВ) с расчетом на его основе международного нормализованного отношения (МНО).

Активность процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по содержанию в гомогенатах печени диеновых (ДК), триеновых конъюгатов (ТК) и оснований Шиффа (ОШ) [5]; окисленную модификацию белков оценивали по уровню карбонильных производных [6].

Плазму крови исследовали при помощи полуавтоматического биохимического анализатора Stat Fax 3300 в режиме проточной кюветы. При проведении тестов использовались диагностические реагенты компании SPINREACT (сертифицирована по стандартам ISO 9001-2000 и ISO 13485-2003). Концентрация молекул средней массы (МСМ) регистрировалась по М.Я. Малаховой [7]. Расчет протромбинового времени производился на анализаторе показателей гемостаза АПГ4-01 «Минилаб 704» изготовитель ООО «Эйлитон» г. Москва. МНО рассчитывали по формуле $MHO = (ПТВ_{пробы} / ПТВ_{норма})^{MICH}$.

Морфологические изменения в ткани печени оценивали методом световой микроскопии с помощью Biologi-

cal Microscope MT 4200L, Meiji Techno Co. Ltd, Japan на срезах окрашенных гематоксилин-эозином.

Результаты обрабатывались статистически с использованием t-критерия Стьюдента. Статистически значимыми считали отличия, соответствующие оценке ошибки вероятности $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

На протяжении всего эксперимента наблюдалась повышенная концентрация продуктов перекисного окисления липидов и белков в гомогенатах печени. Установлено, что концентрация ДК, ТК и ОШ увеличилась в 2,3, 1,7, 2,7 раза соответственно по сравнению с интактными животными; уровень нейтральных альдегид- и кетон-динитрофенилгидразонов возрастал при длинах волн 346 нм — на 51%, 370 нм — на 48%, основных при 430 нм — на 25% и при 530 нм — на 17,4% по отношению к группе «интактные животные» (рис. 1).

Было зарегистрировано также увеличение в 1,7 раза концентрации МСМ.

Через 1 сут. после введения токсической дозы адреналина наблюдалась гиперферментемия, что проявлялось увеличением активности АЛТ и АСТ на 34% и 97% соответственно, ЦФ — на 89% относительно группы «интактные животные». В условиях острого стресса возрастала активность ЛДГ в 4 раза, что стало причиной увеличения количества лактата в крови на 6% (таблица).

Под влиянием стрессирующего агента возникала гипергликемия (концентрация глюкозы повысилась на 56%) и гипопроteinемия (количество общего бел-

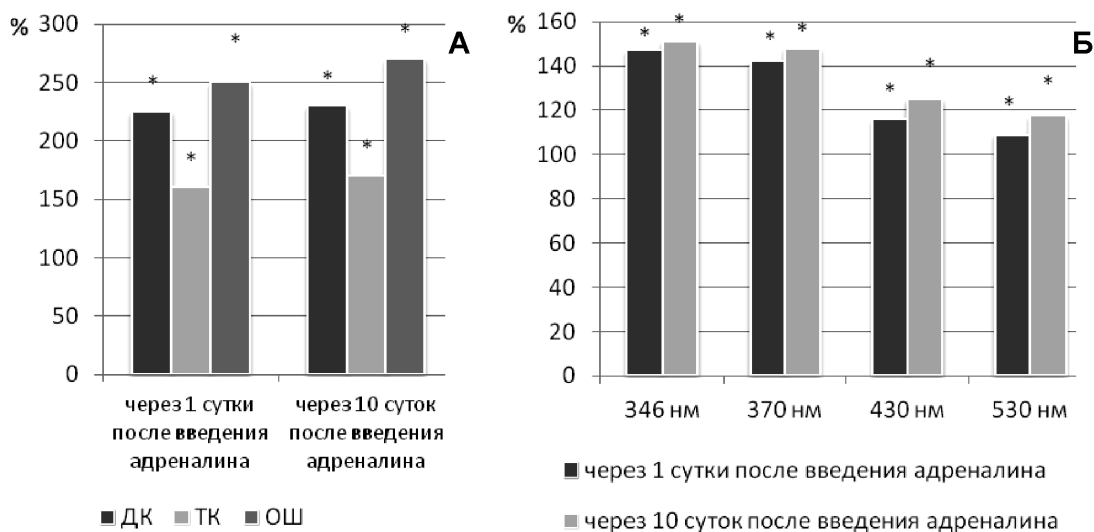


Рис. 1. Концентрация метаболитов перекисного окисления липидов (А) и белков (Б) мембран гепатоцитов крыс (уровень исследуемых показателей в группе «интактные животные» принят за 100%).

* — статистически значимые различия с показателями группы «интактные животные».

Таблица

Содержание метаболитов и ферментов углеводно-энергетического обмена в плазме крови крыс при воздействии токсической дозы адреналина

| Показатели | Интактные животные, n = 20 | Опыт | |
|---------------------|----------------------------|---|--|
| | | через 1 сутки после введения адреналина, n=20 | через 10 суток после введения адреналина, n=20 |
| Общий белок, [г/л] | 53,33 ± 18,02 | 42,33 ± 2,52* | 50,02 ± 5,14 |
| ПТВ, [с] | 33,81 ± 0,45 | 28,37 ± 0,79* | 26,13 ± 1,930* |
| МНО, [усл.ед] | 5,28 ± 0,45 | 4,30 ± 0,45* | 3,70 ± 0,45* |
| Глюкоза, [ммоль/л] | 2,23 ± 0,30 | 3,48 ± 0,10* | 1,11 ± 0,19* |
| Лактат, [ммоль/л] | 5,46 ± 0,56 | 5,81 ± 0,34 | 5,10 ± 0,08 |
| ЛДГ, [U/l при 30°C] | 110,90 ± 9,49 | 409,50 ± 54,40* | 123,40 ± 7,51 |
| АЛТ, [U/l при 30°C] | 50,50 ± 0,55 | 82,67 ± 2,31* | 8,13 ± 1,04* |
| АСТ, [U/l при 30°C] | 125,50 ± 10,08 | 247,30 ± 18,58* | 20,43 ± 0,89* |
| ЩФ, [U/l при 30°C] | 138,51 ± 11,08 | 262,70 ± 6,03* | 131,84 ± 6,30* |

Примечание. * p<0,05 — статистически значимые изменения показателей по сравнению с группой "интактные животные".

ка снижалось на 21%) по сравнению с показателем в группе «интактные животные». Уровень ПТВ стал меньше на 16%, рассчитанное на его основе международное нормализованное время составило 81% от показателя у интактных животных.

Через 10 сут. после начала эксперимента было установлено наличие гипоферментемии: активность АЛТ и АСТ уменьшилась на 84%, ЩФ — на 5% относительно группы «интактные животные». Уровень активности ЛДГ оставался повышенным по отношению к показателю у интактных животных, однако по отношению к данным через 1 сут. он снизился в 2 раза. Концентрация глюкозы и лактата составила 149,8% и 93,2% соответственно по сравнению с показателями в интактной группе (таблица).

Обращают на себя внимание изменения в белковом составе плазмы. Уровень общего белка стал выше, чем в группе животных, у которых исследования

проводились через 1 сут. после начала эксперимента на 18%, однако он не достигает значений, наблюдаемых в группе «интактные животные». ПТВ так же продолжило снижение и составило 77,28% от интактного значения. МНО рассчитанное по протромбиновому времени снизилось до 3,7.

Гистологические изменения проявлялись признаками нарушения кровоснабжения в виде плазматизации, как в центральных, так и в мелких сосудах. В гепатоцитах центральной зоны и по периферии печеночной доли отмечались изменения по типу зернистой дистрофии, в некоторых участках — вакуольной дистрофии (рис. 2).

Анализ полученных результатов позволяет сделать заключение, что идентифицированное повреждение гепатоцитов обусловлены гипоксией, которую вызывает адреналин в токсических дозах. Что привело к активизации процессов перекисного окисления липидов и белков мембран гепатоцитов, с нарушением их целостности и повышением проницаемости.

Продукты интоксикации (МСМ), образующиеся при ПОБ, токсичны для печени, и повышение их концентрации в гомогенатах действует на ПОЛ и ПОБ по принципу положительной обратной связи. Последнее обуславливало повышение в сыворотке крови активности индикаторных ферментов (АЛТ, АСТ, ЩФ) с последующим снижением их активности к концу эксперимента. Это подтверждают результаты гистологического исследования, выявившие изменения воспалительно-дистрофического характера в печени и желчевыводящих путях.

Морфологические изменения печени в условиях острого стресса сопровождаются изменениями функциональных характеристик органа, что подтверждается снижением индексов ПТВ и МНО, которые являются

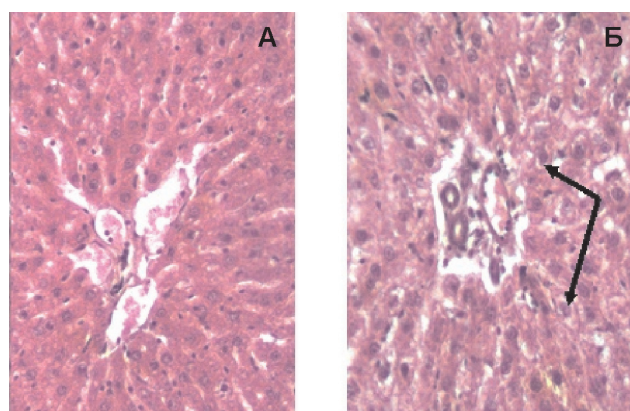


Рис. 2. Гистологические срезы печени (x60 гематоксилин-эозин). А — Интактная группа; Б — Адреналин — 10-е сут. эксперимента (стрелками указана вакуольная дистрофия).

не только показателями гемостаза, но и показателями, характеризующими функцию печени [8, 9]. Мы зарегистрировали смещение метаболического баланса в печени в сторону катаболизма, на что указывают повышение активности ЛДГ, концентрации глюкозы с последующим истощением углеводного пула.

Таким образом, вводимая внутривенно высокая (0,5 мг/кг) доза адреналина вызывает катоксический эффект характеризующийся активацией окислительного статуса в печени, что ведет к нарушению кровоснабжения органа и развитию дистрофии гепатоцитов, гиперферментемии, смещению метаболического гомеостаза в сторону катаболизма.

References

1. Latysheva T.V. Urgent conditions in allergy. *Tsitokiny i vospalenie*. 2005; (3): 115-21. (in Russian)
2. Usenko L.V., Tsarev A.V., Kobelyatskiy Ju.Ju. Features conduct of cardiopulmonary and cerebral resuscitation in age aspect, and in special clinical situations. *Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy*. 2013; (6): 174-82. (in Russian)

3. Goryacheva A.A., Morozov V.N., Pal'tseva E.M., Nardartsev A.A., Hetagurova A.K. Systemic effects of exogenous adrenaline. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2007; (3): 2-35. (in Russian)

4. Oleynikova O.N., Makarova L.M., Pogorelyy V.E., Novikova N.A. Experimental Study of the antitoxic activity taurine in model of chronic adrenaline intoxication. *Dostizheniya v eksperimental'noy meditsine i biologii*. 2015; (803): 545-52. (in Russian)

5. Vladimirov Ju.A., Archakov I. *Lipid peroxidation in biological membranes. [Perekisnoe okislenie lipidov v biologicheskikh membranakh]*. Moscow: Nauka; 1972. (in Russian)

6. Dubinina E.E., Pustygina A.V. Oxidative modification of proteins, its role in pathological conditions. *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal*. 2008; 80(6): 5-18. (in Russian)

7. Malakhova M.Ya. *The method of registration of endogenous intoxication. Manual for physicians. [Metod registratsii endogennoy intoksikatsii. Posobie dlya vrachey]*. St. Petersburg: MAPO, 1995. (in Russian)

8. Minushkin O.N., Maslovskiy L.V., Frolova A.A., Shaposhnikova O.F. Experience with the drug metadoxil in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Russkiy meditsinskiy zhurnal*. 2013; 21(19). (in Russian)

9. Morozov Ju.A., Mulikov R.V. Violations of system of a hemostasis in liver pathology and their dynamics. *Gemorragicheskie diatezy, trombozy, trombofilii*. 2014; (1). (in Russian)

Сведения об авторах:

Копылова Светлана Вячеславовна, канд. биол. наук, доцент каф. биохимии и физиологии ННГУ им. Н. И. Лобачевского

Анашкина Анастасия Александровна, канд. биол. наук, ст. преподаватель каф. биохимии им. Г.Я. Городисской НижГМА