

## ВМІСТ МОЛЕКУЛ СЕРЕДНЬОЇ МАСИ ТА ОЛІГОПЕПТИДІВ У КРОВІ ТА ТКАНИНАХ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ КИСЛОТНОГО ОПІКУ СТРАВОХОДУ

Т. В. КОВАЛЬ, Т. В. ІЩУК, Я. Б. РАЄЦЬКА, О. М. САВЧУК,  
Л. І. ОСТАПЧЕНКО

ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка  
e-mail: stanya@bigmir.net

*Опік супроводжувався тривалими порушеннями білкового обміну, що призводить до патологічних змін у функціонуванні різних органів та систем. Основним діагностичним критерієм тяжкості кислотного опіку є визначення рівня загального білка та альбуміну, що є основними біохімічними показниками сироватки крові, за якими можна охарактеризувати функціональний стан організму та оцінити ступінь метаболічних порушень за умов досліджуваної патології. Рівень даних показників знижувався найбільше на 1 та 7 доби порівняно з контрольними значеннями. Показано, що при моделюванні кислотного опіку стравоходу 2 ступеня у статевонезрілих щурів відбувалась ендогенна інтоксикація. В ході дослідження розвитку кислотного опіку стравоходу встановлено найвищий рівень маркерів ендогенної інтоксикації (олігопептидів та молекул середньої маси) в сироватці крові статевонезрілих щурів на 1 добу експерименту. При дослідженні маркерів ендогенної інтоксикації в гомогенатах клітин печінки, селезінки, слизової стравоходу щурів встановлено найвищий рівень інтоксикації на 15, 21 доби за умов кислотного опіку стравоходу 2 ступеня. Рівень молекул середніх мас та олігопептидів змінювався залежно від метаболічного стану організму і був прогностичним критерієм порушення обмінних процесів. Накопичення їх є не тільки маркером ендоінтоксикації, надалі вони посилюють перебіг патологічного процесу, набуваючи роль вторинних токсинів, впливаючи на життєдіяльність всіх систем і органів. У зв'язку з цим, пошук препаратів які володіють антитоксичними властивостями є важливим у лікуванні опікових хворих.*

*Ключові слова: кислотний опік стравоходу, молекули середньої маси, олігопептиди.*

**Вступ.** Хімічні опіки являють самою розповсюджену патологію стравоходу у дітей. Одним із видів хімічних опіків є кислотний опік стравоходу (КОС). Кислоти викликають коагуляційний некроз з утворенням щільних нальотів на слизовій поверхні стравоходу. Вони виникають внаслідок конверсії протеїнів стінки стравоходу в солі даної кислоти. При цьому в ділянці ушкодження, а також на рівні всього організму відбуваються безліч молекулярних змін. Накопичення в тканинах і біологічних рідинах організму продуктів порушеного обміну речовин, метаболітів, деструктивних клітинних і тканинних структур, зруйнованих білкових молекул призводить до неминучого виникнення стану, відомого як ендогенна інтоксикація організму. Як правило, цей стан супроводжується фоновим протіканням різного роду запальних процесів в тканинах (Фисталь і др., 2005; Kozinets et al, 2012; Matveev et al, 2013). У даний час розвиток ендогенної

інтоксикації пов'язують з роллю в оцінці токсичності внутрішнього середовища організму молекул середньої маси (МСМ). Показник рівня МСМ є біохімічним маркером, який відображає рівень патологічного білкового метаболізму. МСМ поділяються на дві великі групи - речовини середньої молекулярної маси та олігопептиди (Дмітрієва, 2004; Нетюхайло, 2005; Регеда, Березнякова, 2011). Перша група являє собою небілкові похідні різної природи, що накопичуються в організмі в концентраціях, що перевищують норму. Друга група - олігопептиди - представлена речовинами пептидної природи, які виконують регуляторні і нерегуляторні функції. Загальновідомо, що рівень МСМ варіює залежно від метаболічного стану організму і, в якійсь мірі, служить прогностичним критерієм порушення обмінних процесів. Особливістю МСМ є їх висока біологічна активність. Накопичення їх є не тільки маркером ендоінтоксикації, надалі вони посилюють перебіг

патологічного процесу, набуваючи роль вторинних токсинів, що впливають на життєдіяльність всіх систем і органів (Бондаренко та ін., 2012; Сухомлин, 2015). Незважаючи на великий обсяг досліджень даної проблематики недостатньо вивчені показники МСМ за умов розвитку кислотного опіку стравоходу у дітей, найчастіше закономірності перебігу опікової хвороби у дорослих переносять в дитячу клініку.

Метою даної роботи було вивчення концентрації МСМ та олігопептидів у сироватці крові щурів та гомогенатах клітин печінки, селезінки, стравоходу за умов моделювання кислотного опіку стравоходу для визначення ступеню ендогенної інтоксикації.

**Об'єкт і методи.** У дослідях використовували білих нелінійних статевонезрілих щурів (1-місячних) масою 90–110г (відповідають 1-4-річному віку дітей) із дотриманням загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 р.), інших міжнародних угод і національного законодавства в цій галузі. Тварин утримували на стандартному раціоні віварію. Їм експериментально моделювали кислотний опік стравоходу (КОС) 2 ступеня розчином 30%  $\text{CCl}_3\text{COOH}$  (Раєцька та ін., 2014). Матеріал для дослідження відбирали на 1, 7, 15, 21 доби опікової хвороби (Фисталь і др., 2005). Методом виведення тварин із досліду була цервікальна дислокація. Показники крові (загальний білок, альбумін) визначали за допомогою біохімічного аналізатора Humalyser 3000 з використанням відповідних наборів. Вміст МСМ та концентрацію олігопептидів визначали за модифікованим методом Габрилеян (Габрилеян і др., 1985). Метод базується на осадженні високомолекулярних пептидів і білків біологічних рідин з використанням трихлороцтової кислоти і кількісним

визначенням в отриманому центрифугуванням супернатанті середньомолекулярних пептидів за поглинанням в монохромному потоці світла при довжині хвилі 254 нм. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми Excel. Для визначення достовірності відмінностей між двома вибірками використовували критерій Стьюдента (t). При цьому достовірними вважались різниці  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Раніше було показано, що за умов експериментального моделювання кислотного опіку відбувся фібринозний, ерозивний езофагіт (пошкодження слизової та підслизового шару) виражений набряк слизової оболонки стравоходу (Раєцька та ін. 2015). В нашому експерименті було заплановано більш детальне дослідження на 1, 7, 15, 21 доби опікової хвороби (Вітер, Волков, 2011) в сироватці крові та гомогенатах клітин печінки, селезінки, слизової стравоходу щурів при моделюванні КОС.

Для діагностики тяжкості кислотного опіку визначали концентрацію загального білка та альбуміну в сироватці крові щурів на 1, 7, 15, 21 доби опікової хвороби. Показано, що вміст загального білка знижувався на 25%, 26%, 20%, 22%, а вміст альбуміну знижувався на 56%, 42%, 31% та 30% відповідно, порівняно з контрольними значеннями (Табл.1).

При визначенні вмісту МСМ у сироватці крові щурів за умов експериментального моделювання КОС були встановлені наступні зміни. На 1 та 7 доби експерименту підвищення на 15% та 6%, а на 15 і 21 доби зниження дослідного показника на 24% та 15% відповідно порівняно з контрольними значеннями. Таким чином, максимальне підвищення досліджуваного показника в сироватці крові спостерігалось на 1 та 7 доби після моделювання КОС (Табл.2).

Таблиця 1.

*Біохімічні показники в сироватці крові статевонезрілих щурів за умов моделювання кислотного опіку стравоходу 2 ступеня ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )*

Table 1.

*The biochemical blood serum parameters under experimental immature rat second-degree acid esophageal burn ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )*

Показники \ Групи	Контроль	КОС 1 доба	КОС 7 доба	КОС 15 доба	КОС 21 доба
Загальний білок (мг/мл)	1,8±0,11	1,35±0,15*	1,34±0,02*	1,44±0,011*	1,4±0,1*
Альбумін	36,5±0,01	16,01±1,36*	21,22±2,01*	25,32±1,91*	25,5±1,01*

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем; КОС – кислотний опік стравоходу

**Таблиця 2.**  
**Вміст молекул середніх мас в сироватці крові**  
**статевонезрілих щурів за умов моделювання**  
**кислотного опіку стравоходу 2 ступеня ( $M \pm m$ ,**  
 **$n=10$ )**

**Table 2.**  
**The blood serum middle mass molecules content**  
**under experimental immature rat second-degree acid**  
**esophageal burn ( $M \pm m, n = 10$ )**

Показники \ Групи	Контроль	КОС 1 доба	КОС 7 доба	КОС 15 доба	КОС 21 доба
МСМ (ум.од)	0,244±0,022	0,281±0,007*	0,258±0,004*	0,185±0,013*	0,208±0,02*

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем  
КОС – кислотний опік стравоходу

Вміст МСМ в гомогенатах клітин печінки, селезінки, слизової оболонки стравоходу змінювався наступним чином. На 1 добу експерименту підвищення відбувалось в клітинах селезінки на 15%, зниження в клітинах печінки та слизовій стравоходу на 41% та 31% порівняно з контролем. На 7 добу зниження вмісту було в гомогенатах клітин печінки, селезінки, слизової стравоходу щурів при моделюванні КОС на 70%, 11% та 20% відповідно. На 15 добу розвитку КОС підвищення вмісту МСМ ми спостерігали в клітинах селезінки на 18%, в клітинах печінки та слизовій оболонці стравоходу зниження даного показника на 28% та 5% відповідно, порівняно з контрольними значеннями. На 21 добу відбувалось підвищення рівня дослідного показника в гомогенатах клітин печінки, селезінки, слизової стравоходу щурів при моделюванні КОС на 17%, 23% та 25% відповідно (Табл.3). Таким чином, найбільше

підвищення вмісту МСМ у дослідних тканинах відбувалось на 21 добу розвитку КОС.

За умов експериментального моделювання КОС нами було визначено вміст олігопептидів у сироватці крові щурів та встановлені наступні зміни. На 1, 7 і 15 доби експерименту відбувалось підвищення на 26%, 20% та 10%, на 21 добу спостерігали зниження дослідного показника на 15% порівняно з контрольними значеннями. Отже, максимальне підвищення вмісту олігопептидів в сироватці крові спостерігалось на 1 та 7 доби після моделювання КОС (Табл.4).

Вміст олігопептидів в гомогенатах клітин печінки, селезінки, слизової оболонки стравоходу змінювався наступним чином. На 1 добу експерименту підвищення досліджуваного показника відбувалось в клітинах селезінки на 11%, а в гомогенатах печінки та слизовій стравоходу відбувалось зниження на 37% та 25% відповідно порівняно з контролем.

**Таблиця 3.**  
**Вміст молекул середніх мас в гомогенатах тканин**  
**статевонезрілих щурів за умов моделювання**  
**кислотного опіку стравоходу 2 ступеня ( $M \pm m$ ,**  
 **$n=10$ )**

**Table 3.**  
**The tissue homogenates middle mass molecules content**  
**under experimental immature rat second-degree acid**  
**esophageal burn ( $M \pm m, n = 10$ )**

Органи \ Групи	Контроль	КОС 1 доба	КОС 7 доба	КОС 15 доба	КОС 21 доба
Печінка	0,84±0,031	0,493±0,044*	0,254±0,029*	0,601±0,031*	0,985±0,031*
Селезінка	0,315±0,015	0,361±0,026	0,279±0,022*	0,371±0,033*	0,387±0,035*
Слизова стравоходу	0,203±0,016	0,141±0,011*	0,162±0,014*	0,193±0,016	0,233±0,031*

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем  
КОС – кислотний опік стравоходу

**Таблиця 4.**  
**Вміст олігопептидів в сироватці крові**  
**статевонезрілих щурів за умов моделювання**  
**кислотного опіку стравоходу 2 ступеня ( $M \pm m$ ,**  
 **$n=10$ )**

**Table 4.**  
**The blood serum oligopeptides content under**  
**experimental immature rat second-degree acid**  
**esophageal burn ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Показники \ Групи	Контроль	КОС 1 доба	КОС 7 доба	КОС 15 доба	КОС 21 доба
Олігопептиди (мг/мл)	0,239±0,01	0,301±0,03*	0,287±0,01*	0,263±0,03*	0,203±0,01*

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем  
КОС – кислотний опік стравоходу

На 7 добу зниження вмісту олігопептидів спостерігали в гомогенатах клітин печінки і селезінки щурів при моделюванні КОС на 19% і 31% та підвищення вмісту на 30% в слизовій стравоходу. На 15 добу розвитку КОС підвищення вмісту олігопептидів було в усіх досліджуваних гомогенатах клітин, в селезінці на 13%, в печінці та слизовій стравоходу на 15% та 58% відповідно, порівняно з контрольними значеннями. На 21 добу вміст олігопептидів наближується до контрольних значень в усіх досліджуваних гомогенатах клітин щурів (Табл.5). Таким чином, максимальне підвищення вмісту олігопептидів в дослідних тканинах відбувалось на 15 добу розвитку КОС.

Високий вміст МСМ більш характерний для резорбційно-тканинної, ретенційної та мікробної інтоксикації. При ензимній інтоксикації рівень МСМ може бути практично нормальним за рахунок високої активності протеїназ. При печінковій комі рівень МСМ завжди низький (Черный, Нестеренко, 2007). Отже, аналіз проведених досліджень показав, що КОС

викликає порушення обмінних процесів, що приводить до накопичення в тканинах продуктів, здатних викликати ендogenous інтоксикацію організму.

Було визначено вміст загального білка та альбуміну в сироватці крові статевонезрілих щурів після КОС 2 ступеня, рівень даних показників знижувався найбільше на 1 та 7 доби на 25-26% - загальний білок, та на 56-42% - альбумін порівняно з контрольними значеннями. В ході дослідження опіку стравоходу встановлено найвищий рівень маркерів ендogenous інтоксикації (олігопептидів та МСМ) в сироватці крові статевонезрілих щурів на 15% і 26% відповідно на 1 добу експерименту. При дослідженні маркерів ендogenous інтоксикації в гомогенатах клітин печінки, селезінки, слизової стравоходу щурів встановлено найвищий рівень інтоксикації на 15, 21 доби при моделюванні КОС 2 ступеня. У зв'язку з цим, пошук препаратів, які володіли би антиотоксичними властивостями, є важливим у лікуванні опікових хворих.

**Таблиця 5.**  
**Вміст олігопептидів в гомогенатах тканин**  
**статевонезрілих щурів за умов моделювання**  
**кислотного опіку стравоходу 2 ступеня ( $M \pm m$ ,**  
 **$n=10$ )**

**Table 5.**  
**The tissue homogenates oligopeptides content under**  
**experimental immature rat second-degree acid**  
**esophageal burn ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Органи \ Групи	Контроль	КОС 1 доба	КОС 7 доба	КОС 15 доба	КОС 21 доба
Печінка	0,271±0,013	0,171±0,066*	0,22±0,041	0,311±0,002*	0,265±0,031
Селезінка	0,260±0,019	0,289±0,069	0,18±0,032*	0,294±0,018*	0,256±0,041
Слизова стравоходу	0,162±0,014	0,122±0,058	0,21±0,034*	0,256±0,025*	0,158±0,012

Примітки: \* –  $p < 0,05$  порівняно з контролем; КОС – кислотний опік стравоходу

**Висновок.** Отже, було досліджено, що при моделюванні кислотного опіку стравоходу 2 ступеня у статевонезрілих щурів відбувалась ендогенна інтоксикація. Показано, що найвищий рівень ендогенної інтоксикації, а саме зростання рівня МСМ та олігопептидів в сироватці крові статевонезрілих відбувається на 1 добу експерименту. В гомогенатах клітин печінки, селезінки, стравоходу за умов моделювання кислотного опіку стравоходу найвищий рівень ендогенної інтоксикації спостерігали на 15 та 21 доби.

#### Список літератури:

1. Бондаренко В. В., Нетюхайло Л. Г., Аветіков Д. С. Молекули середньої маси в тканинах слинних залоз при експериментальній опіковій хворобі// Таврический медико-биологический вестник - 2012- Т: 15, № 3-1 С.:49-50
2. Вітер В.С., Волков К.С., Субмікроскопічні зміни мікроциркуляторного русла міокарда при експериментальній термічній травмі// Клінічна анатомія та оперативна хірургія – 2011, № 4, С. 29-31.
3. Дмітрієва К.Ю. Показники ендогенної інтоксикації, оксидативного та нітрозативного стресів при опіках шкіри у щурів за умов застосування мексидолу і триметазидину//Медична хімія. -2004. -Том 6, №4. -С.77-80.
4. Нетюхайло Л.Г., Молекули середньої маси-маркери ендогенної інтоксикації при експериментальній опіковій хворобі// Современные проблемы токсикологи - №3, 2005, С 57-58
5. Расцька Я.Б. Іщук Т.В, Галенова Т.І., Джус О.І, Остапченко Л.І Динаміка вмісту молекул середньої маси в плазмі крові при експериментальній опіковій хворобі// Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Проблеми регуляції фізіологічних функцій. №1(18), -2015, С. 19-22
6. Расцька Я.Б., Іщук Т.В., Савчук О.М., Остапченко Л.І. Експериментальна модель лужного опіку I та II-го ступеню стравоходу у статевонезрілих щурів// Науковий вісник Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича. Біологія. – 2014. – Т.6. – С. 129-132
7. Сухомлин Т.А. Біохімічні зміни в тканинах легень за умов експериментальної опікової хвороби та їх корекція Ліпіном: дис. ... канд.мед.наук. Полтава, – 2015. – 118с.
8. Габриэлян Н.И., Левицкий Э.Р., Дмитриев Ф.Ф. и др Скрининговый метод определения средних молекул в биологических жидкостях: Методические рекомендации // . – М., 1985. С. 11.
9. Фисталь Э.Я., Козинец Г.П., Самойленко Г.Е., Носенко В.М., Фисталь Н.Н., Солошенко В.В. Комбустиология: Учебник. - Донецк, -2005.- 315 с.
10. Черный В. И., Нестеренко А. Н. Нарушения иммунитета при критических состояниях: особенности диагностики//Внутренняя медицина. – №4(4), 2007 - С. 12–23
11. Kozinets GP, Osadchaia OI, Tsygankov VP, Isaenko NP, Zhernov AA, Boiarskaia AM. Correction of metabolic hypoxia in patients with severe burn injury and septic toxemia// Klin Khir.-2012- Dec;(12):P. 38-42.
12. Matveev SB, Smirnov SV, Tazina EV, Shakhlamov MV, Godkov MA, Borisov VS. The dynamics of endogenic intoxication in patients with extensive burns // Klin Lab Diagn.-2013- Feb;(2):P. 10-22.

#### References:

1. Bondarenko V. V., Netyukhaylo L. G., Avetnikov D. S Mean mass molecules in tissues of salivary glands in result of experimental burn disease// Tavricheskiy mediko-biologicheskii vestnik – 2012- Vol 15, № 3-1 P.49-50
2. Viter V. S., Volkov K. S. Submicroscopic changes of the myocardial microcirculatory bed in case of experimental thermal trauma//Clinical anatomy and operative surgery – 2001, № 4, P. 29-31
3. Dmytriyeva K. Y. Indices of endogenic intoxication, oxidative and nitrozative stress at skin burns in rats in conditions of mexidol and trimetazidine application//Medical chemistry – 2004 – Vol. 6, №4. - P.77-80.
4. Netyukhaylo L. G. Mean mass molecules - markers of endogenous intoxication in experimental burn disease// Modern problems of toxicology.- 2005 - №3, - P 57-58
5. Raetska Ya., Ischuk T., Galenova T., Dzhus O., Ostapchenko L. Dynamics of middle mass molecules in blood plasma after experimental modeling burn disease// Bulletin of Taras Shevchenko National University of Kyiv. Series: Problems of Physiological Functions Regulation - 2015 - №1 (18), - P. 19-22
6. Raetska Ya.B., Ischuk T.V., Dzhus O.I., Savchuk O.M, Ostapchenko L.I. Experimental modeling of 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> degrees alkali esophagus burn in immature rats// Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology. – 2014. – Vol.6. – P. 129-132
7. Sukhomlyn T.A. Biochemical changes in tissues of lungs at experimental burn disease and its correction by lipin: dis. for a degree of cand. of med. sciences, Poltava, - 2015 – 118 pp.
8. Gabrielyan N.I., Levitsky E.R., Dmitriev F.F. et. al. Screening method for the determination of middle molecules in biological fluids: Methodological recommendations// - М., 1985 – P.11.
9. Fistal E.Y, Koziniec G.P., Samojlenko G.E., Nosenko V.M., Fistal N.N., Soloshenko V.V. Combustiology: Textbook. – Donetsk - 2005.- 315 pp.
10. Cherniy V.I., Nesterenko A.N. Impaired immunity in critical conditions: diagnostic features // Internal Medicine – 2007- №4 (4), - P. 12-23
11. Kozinets GP, Osadchaia OI, Tsygankov VP, Isaenko NP, Zhernov AA, Boiarskaia AM. Correction of metabolic hypoxia in patients with severe burn injury and septic toxemia// Klin Khir.-2012- Dec;(12):P. 38-42.
12. Matveev SB, Smirnov SV, Tazina EV, Shakhlamov MV, Godkov MA, Borisov VS. The dynamics of endogenic intoxication in patients with extensive burns // Klin Lab Diagn.-2013- Feb;(2):P. 10-22.

## THE MIDDLE MASS MOLECULES AND OLIGOPEPTIDES CONTENT IN RAT BLOOD AND TISSUES UNDER THE ACID ESOPHAGUS BURN CONDITIONS

**T. V. Koval, T. V. Ishchuk, Y. B. Rayetska, A. N. Savchuk, L. I. Ostapchenko**

*The burn was accompanied by prolonged protein metabolism disorders, which led to the pathological changes in the various organs and systems functioning. The main diagnostic criterion of the acid burn severity is the total protein and albumin levels. These parameters are the major biochemical blood serum indicators that can characterize the functional state of the organism and to assess the degree of metabolic disorders under the studied pathology. The level of these indicators was the most declined at the 1<sup>st</sup> and 7<sup>th</sup> days after acid treatment comparing with the control values. The endogenous intoxication after the acid burns the esophagus 2 degrees in immature rats modelling is shown. The markers of endogenous intoxication (oligopeptides and middle mass molecules) in the blood serum of immature rats were increased on the 1<sup>st</sup> day of experiment. acid burns the esophagus. The above mentioned parameters of endogenous intoxication were measured in liver, spleen, mucosa of the esophagus rat cell homogenates and they had the highest level for 15, 21 days under the conditions of the second-degree acid esophagus burn. The level of the middle mass molecules and oligopeptides varied depending on the metabolic state of the organism and was prognostic criterion of metabolic disorders. This substances accumulation is not only a marker of endointoxication, they could further reinforce the pathological processes acquiring the secondary toxic role and affecting the livelihoods of all systems and organs. In this regard, the searching of the agents having anti-toxic properties is exceedingly important for the burn patients' treatment.*

*Keywords: acid esophagus burn, the middle mass molecules, oligopeptides.*

*Одержано редколлегією 23.07.2015*