

УДК 616.36–099:592.285–06:612.015.328]–093.9

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ЕНДОГЕННІЙ ІНТОКСИКАЦІЇ У ЩУРІВ РІЗНОГО ВІКУ ЗА УМОВ ГОСТРОГО ОТРУЄННЯ ТОКСИНАМИ БЛІДОЇ ПОГАНКИ

Кузьмак І.П., Кліщ І.М., Яремчук О.З.

Динаміка показників ендogenous інтоксикації у щурів різного віку за умов гострого отруєння токсинами блідої поганки - І.П. Кузьмак, І.М. Кліщ, О.З. Яремчук- Досліджено динаміку показників ендogenous інтоксикації у щурів різного віку на моделі токсичного ураження токсинами блідої поганки. У плазмі крові визначали еритроцитарний індекс інтоксикації та молекули середньої маси. Встановлено, що прогресування патологічного процесу у печінці та виснаження компенсаторних можливостей призводить до зростання в динаміці показників ендogenous інтоксикації. Найбільш виражені зміни характерні для молодих та старих щурів через 24 години з моменту інтоксикації.

Ключові слова: бліда поганка, отруєння, еритроцитарний індекс інтоксикації, молекули середньої маси.

Адреса: ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України», кафедра медичної біохімії, кафедра клініко-лабораторної діагностики, м. Тернопіль; iryua_kuzmak@yahoo.com

Dynamics of endogenous intoxication in rats of different ages under acute poisoning by amanita phalloides toxins. - I.P. Kuzmak, I.M. Klishch, O.Z. Yaremchuk - Some indices of endogenous intoxication in all age groups rats on the model of toxic injury by Amanita phalloides toxins have been investigated. Erythrocyte index of intoxication and level of middle-mass molecules was determined in blood plasma. It was defined, that the progression of the pathological process in the liver and the depletion of the compensatory capacity cause the increasing of endogenous intoxication indices. The most pronounced changes occur in young and old rats in 24 hours after intoxication.

Key words: Amanita phalloides, poisoning, erythrocyte index of intoxication, middle-mass molecules.

Address: SHEI «I. Ya. Horbachevsky Ternopil state medical university», department of medical biochemistry, department of clinical laboratory diagnostics, Ternopil; iryua_kuzmak@yahoo.com

Вступ. Проблема гострих екзогенних отруєнь (3-7% від усіх захворювань) продовжує залишатися актуальною у зв'язку з постійним зростанням числа токсичних речовин, а також виникненням інтоксикації при їх випадковому і навмисному вживанні. Серед числа екзогенних отруєнь виділяють групу отруєнь дикорослими грибами [2, 4, 8].

Найбільш небезпечними справедливо вважаються отруєння грибами гепатонекротоксичної дії (аманітальні гриби, до яких належить бліда поганка та її різновиди). За даними К. Olson, 1999 [16], смертність, що зумовлена отруєннями грибами гепатонекротоксичної дії, становить від 10 до 65 % і залежить насамперед від своєчасності звернення по медичну допомогу та терміну початку спеціалізованої медичної допомоги [6]. Висока токсичність блідої поганки (*Amanita phalloides*) обумовлена наявністю в ній двох основних груп грибних токсинів: фалотоксинів та аматоксинів. Аманітини перш за все порушують діяльність клітин із високим ступенем білковосинтезуючої активності: гепатоцитів, епітелію кишечника, судин ниркового епітелію

тощо. В основі токсичної дії аматоксинів лежить порушення внутрішньоклітинного синтезу білка за рахунок блокади РНК-полімерази.

Саме порушення функції життєвоважливих органів (печінки, нирок, шлунково-кишкового тракту, центральної нервової системи та ін.) призводять до пригнічення процесів детоксикації з розвитком явищ ендотоксикозу [15].

Ендотоксикози є закономірним наслідком несприятливого впливу зазначеного чинника на органи і системи організму в цілому і характеризуються неспецифічним синдромом ендogenous інтоксикації (СЕІ). Він не лише супроводжує гостру і хронічну патологію, але й сам по собі є важливим фактором їх патогенезу, визначає перебіг та наслідки захворювання. Вважається, що СЕІ – це отруєння організму як кінцевими (надмірне накопичення, затримка елімінації), так і проміжними продуктами метаболізму за глибокого порушення обміну речовин з характерним фазовим перебігом – від початкової токсемії з первинного вогнища ураження до ендотоксикозу як самостійного

типового патологічного процесу різного ступеня важкості [3, 10, 11].

Мета дослідження. Вивчити динаміку показників синдрому ендогенної інтоксикації у щурів з гострим отруєнням токсинами блідої поганки у віковому аспекті.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на нелінійних білих щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні виварю.

В експерименті досліджували тварин трьох вікових періодів: 3-х місячних (період статевого дозрівання; молоді), 6-ти місячних (період статевої зрілості; дорослі) та 18-ти місячних (період старості; старі).

Експерименти проводили відповідно до "Загальних етичних принципів експериментів на тваринах", ухвалених на Першому Національному конгресі з біоетики (Київ, 2000) та узгоджених з положеннями "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986).

Отруєння тварин здійснювали шляхом одноразового внутрішньочеревинного введення екстракту блідої поганки, отриманого за методом Wieland [18], в дозі 85 мг/кг маси тіла ($\frac{1}{2}$ LD₅₀). Евтаназію щурів проводили шляхом декапітації під тиопенталовим наркозом через 6, 24 та 72 год після отруєння з подальшим забором крові.

Стан ендогенної інтоксикації оцінювали за еритроцитарним індексом інтоксикації (ЕІІ) та вмістом молекул середньої маси (МСМ). ЕІІ визначали методикою, в основі якої лежать уявлення про еритроцити як універсальний адсорбент, який дозволяє оцінити рівень ЕІ за зміною сорбційної здатності еритроцитів полярного, практично не проникного через їхню мембрану метиленового синього.

Визначення вмісту МСМ проводили згідно методики [12]. Із сироватки крові виділяли кислоторозчинну фракцію, яку отримували шляхом додавання до 0,2 мл сироватки 1,8 мл 10% розчину трихлороцтової кислоти. Вміст МСМ визначали при довжині хвиль 254 (визначаються ланцюгові амінокислоти) та 280 нм (визначаються ароматичні амінокислоти).

Статистичну обробку результатів досліджень проводили за допомогою комп'ютерної програми Excel з використанням t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення. У патогенезі більшості захворювань, відомих сучасній медицині, визначне місце приділяється синдрому ендогенної інтоксикації (ендотоксикозів), під яким розуміють накопичення в тканинах і біологічних рідинах організму надлишку продуктів нормального або порушеного обміну речовин, що зумовлюють

токсичний вплив та дисфункцію різних органів і систем [1].

З метою встановлення ступеня метаболічного інтоксикаційного синдрому ми вирішили дослідити маркери ендогенного токсичного синдрому - молекули середньої маси (МСМ) та еритроцитарний індекс інтоксикації (ЕІІ).

Як показали наші дослідження (табл. 1), в інтактних тварин з віком у крові вміст МСМ збільшувався. Максимальні значення обох складових МСМ відмічено у 18-місячних щурів. Це можна пояснити віковими особливостями метаболізму, що проявляються зниженням з віком активності гідролаз, які розщеплюють пошкоджені та модифіковані білки.

Як показали отримані нами результати досліджень (табл. 2), при дії отрути блідої поганки на організм щурів різного віку показники МСМ₁ та МСМ₂, які відображали, відповідно, вміст ланцюгових і ароматичних амінокислот у середньомолекулярних пептидах та продуктах їх розпаду, були підвищені в усі терміни експерименту – від 6-ї до 72-ї год.

Вже на 6-ту годину досліджень вміст МСМ₁ в крові уражених 3 місячних щурів зріс у 2,3 рази, 6-місячних – у 1,4 рази, 18-місячних – у 2,1 рази порівняно з інтактними тваринами. В ту ж годину експерименту вміст МСМ₂ в крові отруєних щурів збільшився відповідно у 2,5; 1,6; 2,6 рази.

Найбільш виражені зміни щодо вмісту обох фракцій МСМ спостерігали через 24 години з моменту аманіта-фалоїдинової інтоксикації тварин всіх вікових періодів. Так, МСМ₁ у цей період зросло у молодих щурів у 2,9 рази, у 6-місячних - у 1,6 рази, в 18-місячних – у 2,8 рази відносно інтактних тварин, а МСМ₂ – у 2,9; 2,0 та 3,8 рази відповідно відносно контролю. Через 72 години після інтоксикації спостерігалась незначна тенденція до зменшення вмісту МСМ.

Таким чином, під впливом отрути блідої поганки відмічалось збільшення концентрації в крові як МСМ₁, так і МСМ₂. Причому, зростання МСМ було значнішим для пулу МСМ₂₈₀, що вказує на виражене збільшення ароматичних амінокислот у складі середніх молекул. Оскільки МСМ – маркери ендотоксикозу, то різке зростання їх вмісту вказує на пік розвитку та генералізації синдрому ЕІ. Інтоксикаційний синдром спричинений аманіта-фалоїдиновою інтоксикацією супроводжується і спричиняє підвищений розпад тканин, посилення катаболічних процесів, внаслідок накопичення надлишкової кількості біологічно активних речовин, деформованих білкових метаболітів та інших токсичних речовин ендогенного походження.

Таблиця 1. Динаміка вмісту МСМ (ум.од.) у в сироватці крові щурів різних вікових періодів, уражених отрутою блідої поганки (M±n, n=6)

Вік	Показник	Групи тварин			
		Інтактні	уражені БП, термін після отруєння, год		
			6 год	24 год	72 год
3-місячні	МСМ ₁	0,234±0,018	0,547±0,033*	0,688±0,038*	0,625±0,065*
	МСМ ₂	0,148±0,009	0,366±0,03*	0,546±0,027*	0,499±0,038*
6-місячні	МСМ ₁	0,259±0,02	0,367±0,038*	0,414±0,026*	0,522±0,035*
	МСМ ₂	0,175±0,001	0,280±0,014*	0,350±0,021*	0,422±0,026*
18-24-місячні	МСМ ₁	0,272±0,02	0,561±0,045*#	0,767±0,03*#	0,685±0,01*#
	МСМ ₂	0,189±0,011	0,493±0,026*#	0,722±0,039*#	0,567±0,026*#

Примітка: * - $p_1 < 0,05$ – вірогідні відмінності порівняно з тваринами контрольної групи.
- $p_2 < 0,05$ – вірогідні відмінності порівняно з 6-місячними тваринами.

Підвищення вмісту МСМ₁, до складу яких можуть входити олігопептиди, фрагменти нуклеїнових кислот, вищих жирних кислот, тригліцеридів, холестерину, свідчить про порушення структури мембран гепатоцитів, а МСМ₂, компонентами яких можуть бути пуринові основи, сечова кислота, та ароматичні

амінокислоти – про пригнічення детоксикуючої функції печінки [1, 7].

Як видно з результатів досліджень (табл. 2), одночасно із збільшенням у крові тварин, отруєних блідою поганкою, кількості МСМ зростає і сумарний токсичний вплив на мембрани еритроцитів, який проявлявся в достовірному підвищенні ЕП у всі терміни експерименту.

Таблиця 2. Динаміка ЕП (%) у плазмі крові щурів різного віку, уражених отрутою блідої поганки (M±n; n=6)

Вік, міс	Показник	Групи тварин			
		Інтактні	уражені БП, термін після отруєння, год		
			6	24	72
3	ЕП, %	44,7±1,4	80,5±1,2*	110,8±5,5*	88,4±3,1*
6	ЕП, %	53,1±3,8	78,8±1,8*	123,5±8,0*	102,1±7,8*
18	ЕП, %	61,9±2,9	106,0±4,3*#	151,5±7,7*#	131,8±9,0*#

Примітка: * - $p_1 < 0,05$ – вірогідні відмінності порівняно з тваринами контрольної групи.
- $p_2 < 0,05$ – вірогідні відмінності порівняно з 6-місячними тваринами.

В інтактних 18-місячних тварин цей показник переважав над таким у молодих тварин, що може бути наслідком зниження осмотичної резистентності еритроцитів з віком.

Як видно з таблиці, отрута блідої поганки призводить до достовірного збільшення ЕП вже на 6-ту годину після інтоксикації. Так, у молодих тварин в цей період даний показник збільшився в 1,8 раза, дорослих – у 1,5, а старих – у 1,7 раза порівняно з контрольною групою щурів.

На 24-ту та 72-гу години в щурів 3-, 6- і 18-місячного віку ЕП зріс у 2,5; 2,3; 2,4 раза та у 2,0; 1,9; 2,1 раза відповідно порівняно з інтактними тваринами.

У ході аналізу представлених цифрових параметрів ЕП, встановлено, що найвищий відсоток проникності еритроцитарних мембран спостерігався у 3-місячних щурів, дещо менший – у 18-місячних, і найнижчий відсоток – у 6-місячних щурів порівняно з контролем. Це

свідчить, що найбільш чутливими до дії отрути блідої поганки виявилися еритроцити молодих і старих тварин. Саме в них ступінь деструкції мембран еритроцитів (ступінь поглинання барвника) протягом експерименту був найвищим. Ці зміни, очевидно, викликані тим, що при дії отрути на організм, порушується енергетичний обмін і транспорт речовин в еритроцитах, зростає проникність їх мембран та збільшується сорбційна здатність.

Крім того, ступінь деструкції мембран еритроцитів протягом експерименту був найвищим на 24-ту годину і дещо знизився на 72 годину, проте незначно. Ці зміни, очевидно, пояснюються тим, що через 12-48 годин від моменту отруєння максимуму сягає дія фалотоксинів – швидкодіючих токсинів блідої поганки, дещо пізніше, діють аманітатоксини, які в сукупності визначають токсичний ефект отрути, що й призводить до патологічного підвищення

проникності біологічних мембран, а також сприяє потраплянню токсичних речовин у тканини та клітини життєвоважливих органів.

Висновки. Отримані дані в результаті експериментального дослідження впливу токсинів білої поганки на щурів у віковому аспекті свідчать про те, що в результаті розвивається ендотоксикоз, свідченням чого є нагромадження

ендотоксинів в організмі тварин, на що вказують виражені зміни показників ендогенної інтоксикації - еритроцитарного індексу інтоксикації та вміст молекул середньої маси. Встановлено, що найбільш чутливими до дії отрути білої поганки виявилися молоді і старі щури.

1. Андрейчин С.М. Сучасні уявлення про метаболічну ендогенну інтоксикацію / С. М. Андрейчин, Т. О. Голомша // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 1. – С. 84–87.
2. Бабенко О. В. Отравления грибами: вопросы диагностики и лечения / О. В. Бабенко, М. М. Авхименко, В. И. Агапов // Мед. помощь. – 2002. – № 4. – С. 25–27.
3. Бакалок О.Й. Синдром ендогенної інтоксикації, механізм виникнення, методи ідентифікації / О.Й. Бакалок, Н.Я. Панчишин, С.В. Дзига // Вісник наукових досліджень. – 2000. – № 1. – С. 11–13.
4. Бойчук Б.Р. Інформаційно-пошукова система діагностики отруєнь грибами / Б.Р. Бойчук // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – №1. – 126-127.
5. Деякі аспекти патогенезу синдрому ендогенної інтоксикації / С.В. Дзига, О.В. Бакалець, Л.М. Сас [та ін.] // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 3. – С. 15–16.
6. Досвід використання Гепасолу НЕО 8% при лікуванні синдрому печінкової енцефалопатії, зумовленої отруєнням аманітальними грибами / І.П. Шлапак, С.М. Недашківський, О.А. Галушко [та ін.]. // Медицина невідкладних станів. – № 3(34). – 2011. – С. 58.
7. Карякина Е.В. Молекулы средней массы как интегральный показатель метаболических нарушений (обзор литературы) / Е.В. Карякина, С.В. Белова // Клинич. лаб. диагностика. – 2004. – № 3. С. 4–8.
8. Малыш И.Р. Алгоритмы дифференцированной интенсивной терапии пациентов с отравлением гепатотропными грибами / И.Р. Малыш, В.А. Макарук, В.И. Цепляев // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 1. – С. 128–130.
9. Марущак М.І. Особливості патогенетичних механізмів ендогенної інтоксикації та гуморального імунітету при експериментальному гострому ураженні легень / М.І. Марущак // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 3. – С. 108-111.
10. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму / Андрейчин М.А., Бех М.Д. [та ін.] Методичні рекомендації. - Київ, 1998. - 31 с.
11. Сміян І.С. Ендогенна інтоксикація – основний патогенетичний фактор при гострій і хронічній патології / І.С. Сміян, С.І. Білозєцька-Сміян // Зб.: Актуальні питання клінічної і експериментальної медицини. – Тернопіль, 1994. – С. 99–100.
12. Тогайбаєв А.А. Способ диагностики эндогенной интоксикации / А.А. Тогайбаев, А.В. Кургузкин, И.В. Рикун [и др.] // Лабораторное дело. – 1988. – №9. – С.22–24.
13. Трубич Н.Я. Динаміка показників ендогенної інтоксикації у щурів за умов гострого отруєння парацетамолом на тлі хронічного ураження солями кадмію та свинцю / Н.Я. Трубич, І.Я. Криницька // Науковий вісник Ужгородського університету, серія «Медицина». – Вип. 39. – 2010. – С. 31–34.
14. Шано В.П. Синдром ендогенної інтоксикації / В.П. Шано, Е.А. Кучер // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2011. – № 1 (25). – С. 3–8.
15. Шано В. П. Эндогенная интоксикация и синдром системного воспалительного ответа при критических состояниях / В.П. Шано, А.Н. Несторенко, Т.В. Джоджуа // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. – 2000. – № 1 (Д). – С. 75–77.
16. Olson K. Poisoning and drug overdose — New York: Applton and Lange, 1999. — P. 156-157.
17. Symonyan A.V. Evaluating cycvalov activity under conditions of chronic endotoxycosis model in rats / A.V. Symonyan, V.V. Novochadov, N.A. Symonyan // Pharmaceutical Chemistry jornal. – 2007. – № 9. – P. 9–11/
18. Wieland H. Uber die Giftstoffe des Knollenblatterpilzes. VI. Amanitin, das Hauptgift des Knollenblatterpilzes / H. Wieland, R. Hallermayer // Liebig's Ann. Chem. – 1941. – №. 548. – P. 1-18.

Отримано: 11 березня 2012 р.

Прийнято до друку: 12 листопада 2012 р.