

## **ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОПЕРАЦИОННОГО СТРЕССА (НЕФРЭКТОМИЯ И РЕЗЕКЦИЯ ПОЧКИ) НА МЕДИАТОРНО-ГОРМОНАЛЬНЫЙ ГОМЕОСТАЗ У КРЫС**

**Иванов А.П.<sup>1</sup>, Тюзиков И.А.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>ГОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия», Ярославль, Россия, e-mail: rector@yma.ac.ru

<sup>2</sup>Медицинский Центр диагностики и профилактики, Ярославль, Россия, e-mail: ymc2003@list.ru

В эксперименте на лабораторных крысах изучена динамика биогенных аминов и некоторых гормонов в течение 30 суток после моделирования резекции почки и односторонней нефрэктомии. Выявлено достоверное превалирование эффектов сосудосуживающих аминов над эффектами сосудорасширяющих факторов гомеостаза, более выраженное и длительное после нефрэктомии по сравнению с резекцией почки. К концу эксперимента в группе животных после резекции произошла нормализация медиаторно-гормонального дисбаланса, в то время как после нефрэктомии в течение указанного срока наблюдения этого не происходило. Сделан вывод, что резекция почки по сравнению с нефрэктомией является более безопасной и щадящей операцией с патофизиологической точки зрения. Ключевые слова: эксперимент, резекция почки, нефрэктомия, биогенные амины, гормоны.

## **INFLUENCE OF EXPERIMENTAL OPERATIONAL STRESS (NEPHRECTOMY AND KIDNEY'S RESECTION) ON MEDIATOR AND HORMONAL HOMEOSTASIS AT RATS**

Ivanov A.P.<sup>1</sup>, Tyuzikov I.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl, Russia, e-mail: rector@yma.ac.ru

<sup>2</sup>Medical Centre of Diagnostics and Preventive Maintenance, Yaroslavl, Russia, e-mail: ymc2003@list.ru

In experiment on laboratory rats a dynamics of biogenic amines and some hormones within 30 day after modeling of a kidney's resection and unilateral nephrectomy was investigated. Was revealed authentic prevalence of vasoconstrictor amines' effects under effects of vasodilatation amines, more expressed and long after nephrectomy in comparison with kidney's resection. By the end of experiment in group of animals after resection there was a normalization of mediatorial and hormonal dysbalance, while after nephrectomy during the specified term of supervision it did not occur. The conclusion is made a kidney's resection in comparison with nephrectomy is more safe and sparing operation with a pathophysiological point of view.

Key words: experiment, kidney's resection, nephrectomy, biogenic amines, hormones.

**Введение.** Изучение обмена биогенных аминов как медиаторов вегетативной нервной системы и этиологических факторов различных заболеваний человека имеет давнюю историю [1; 3; 6; 8; 9; 10]. В последние годы при лечении рака почки в стадии T1-2 все чаще используются органосохраняющие операции не только по классическим абсолютным или относительным показаниям, но и по элективным (т.е. при здоровой противоположной почке). Достаточно хорошо отработана их техника, изучены ближайшие и отдаленные результаты, эффективность и радикальность в сравнении с классической нефрэктомией [2; 5]. Подавляющее большинство подобных исследований характеризуются преимущественно клиническими обоснованиями органосохраняющих

операций при раке почки. В связи с современным повышенным научным интересом к нейрогуморальным и метаболическим аспектам заболеваний человека представляется актуальным изучение особенностей медиаторного обмена при наиболее социально значимых заболеваниях человека, к которым можно отнести онкологические, в частности рак почки [2; 4; 5]. Однако в современной литературе последних лет экспериментальных работ по изучению медиаторных особенностей различных хирургических методов лечения рака почки мы не нашли. Вместе с тем роль биогенных аминов как медиаторов симпато-адреналовой системы в регуляции гомеостаза чрезвычайно важна, особенно в раннем послеоперационном периоде, поскольку они могут запускать патологические реакции, лежащие в основе ранних осложнений хирургического вмешательства на почке.

**Цель исследования:** изучить влияние экспериментального операционного стресса (нефрэктомии) на обмен биогенных аминов и стероидогенез у самцов крыс и оценить роль выявленных гормонально-медиаторных нарушений в дисбалансе послеоперационного гомеостаза.

**Материал и методы.** Исследования выполнены на 100 белых беспородных крысах – самцах весом 180-200 г, колебания веса животных одной группы были в пределах 10-20 г. Поскольку клиницист имеет дело с весьма неоднородной популяцией людей, то большой интерес представляют беспородные животные, имеющие более широкую норму реакции, чем линейные особи. Это позволяет с большой точностью экстраполировать результаты эксперимента на человеческий коллектив.

С лабораторными животными работали в соответствии с действующими «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985). Все животные находились в одинаковых условиях обитания (древесная подстилка из опилок и стружки, температура помещения 22-24 °С, 12-часовой режим смены освещения) и кормления (стандартный брикетированный корм). Все опытные животные были разделены на две группы: одной группе белых крыс была полностью удалена левая почка (70 крыс), вторая группа животных явилась контрольной (30 крыс). Для моделирования острого экспериментального стресса крысам под нембуталовым наркозом (40 мг/кг внутрибрюшинно) удаляли левую почку без надпочечника в условиях стерильности. После нефрэктомии операционную рану заживляли послойно и обрабатывали.

Обе группы животных наблюдались в течение 30 суток. В обеих группах на 7, 16 и 30 сутки эксперимента в крови определяли уровни биогенных аминов (адреналин, норадреналин, дофамин, 11-ОКС, гистамин, серотонин) и общего тестостерона. Суммарное определение показателей гистамина и серотонина в крови проводилось методом, основанным на измерении флюоресценции продуктов конденсации гистамина с ортофталевым альдегидом, а серотонина – с нингидрином по методике Л.Я. Прошиной. Ориентируясь на интенсивность свечения стандартных проб, производится расчет показателей в мкг/мл и мкг/г. Для приготовления стандартных проб использовали гистамин дигидрохлорид фирмы «Fluka» (Швейцария) и серотонин-креатинин сульфат фирмы «Reanal» (Венгрия). Уровень адреналина, норадреналина, дофамина определялся дифференциально-флюориметрическим методом В.О. Осинской. Расчет проводился по калибровочным графикам. Концентрация катехоламинов в крови выражалась в мкг/мл в сердце и мозге – мкг/г. Определение 11-оксикортикостероидов проводилось по методике Ю.А. Панкова и И.Я. Усватовой. Для определения концентрации 11-ОКС (в мкг/мл) использовалась стандартная проба, которая обрабатывалась, как и опытная. Уровень общего тестостерона определяли радиоиммунным методом. Статистический анализ данных исследования проводился с использованием набора статистических стандартных программ EXCELL, XP SP2 и Statistica for Window v.6.0. Статистически значимым для всех показателей считался критерий достоверности  $p < 0,05$ . Корреляционный анализ проведен с использованием критерия Пирсона для непрерывных величин ( $r$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Адреналин (АД) является типичным стрессовым гормоном первой линии ответной реакции организма на любые эндогенные и экзогенные воздействия и характеризует гормональную компоненту симпатoadреналовой системы (САС). Исследования уровня адреналина (АД) крови у испытуемых животных показали, что на 7-й день после нефрэктомии его уровень в крови достоверно повышался на 52% по отношению к интактным крысам ( $p < 0,05$ ). К 16-му дню эксперимента в опытной группе наблюдалось падение уровня АД крови на 50% по отношению к интактным крысам и на 68% по отношению к 7-му дню ( $p < 0,05$ ). К окончанию эксперимента как в контрольной, так и в оперированной группах животных наблюдалась нормализация исследуемого показателя.

Норадреналин (НА) на 80% попадает в кровь из синаптической щели нервных окончаний и поэтому характеризует медиаторную компоненту САС или

функциональную активность симпатической нервной системы. Непосредственно после удаления почки концентрация НА в крови снижалась на 18% ( $p > 0,05$ ) по отношению к интактным крысам. К 16-му дню эксперимента концентрация НА возросла на 25% по отношению к интактным крысам и на 49% по отношению к 7-му дню ( $p < 0,05$ ). К окончанию эксперимента в группе оперированных животных уровень НА в крови был достоверно повышен на 52% по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ).

Дофамин (ДА), возбуждая постсинаптические D1-2-дофаминовые рецепторы, способствует релаксации почечных сосудов и значимому усилению местного внутриорганного кровотока. Кроме того, дофамин является единственным природным ингибитором выработки пролактина лактотрофами гипофиза, поэтому дефицит его в ткани головного мозга приводит к гиперпролактинемии. На 7-й день после нефрэктомии слева в крови имело место снижение содержания уровня ДА на 26% по отношению к группе контроля ( $p < 0,05$ ). К 16-му дню эксперимента в группе эктомированных животных продолжалось дальнейшее падение уровня ДА на 78% по отношению к интактным крысам и на 70% по отношению к 7-му послеоперационному дню ( $p < 0,05$ ). К окончанию эксперимента в группе эктомированных животных концентрация ДА была достоверно ниже на 52%, чем в группе контроля ( $p < 0,05$ ).

11-оксикортикостероиды (11-ОКС) – это фракция глюкокортикостероидов, которая обладает умеренной микрокарбонатной активностью и поэтому участвует в регуляции водно-солевого обмена. Она также повышает белковый синтез паренхиматозных органов, обладает противовоспалительным действием, существенно усиливает действие катехоламинов (КА) на сосудистую стенку. На 7-й день нефрэктомии слева в крови концентрация 11-ОКС достоверно повышалась на 82% по сравнению с интактными животными ( $p < 0,05$ ). У этих же крыс к 16-му дню опыта продолжала нарастать концентрация 11-ОКС в крови (до +89%,  $p < 0,05$ ), которая к концу эксперимента так и не нормализовалась (+32% при  $p < 0,05$  по отношению к контролю).

Гистамин (ГТ) – вазодилататор, вырабатывается в энтерохроматофильной ткани кишечника, накапливается в тучных клетках. ГТ определяет тонус вен, участвует в воспалении (усиливает фазу экссудации), способствует проницаемости капиллярного русла, определяет уровень микроциркуляции. ГТ повышается при патологических процессах, причем тяжесть заболевания коррелирует с концентрацией гистамина: чем выше уровень гистамина, тем тяжелее процесс [7; 13]. В течение всего периода

наблюдения за животными после нефрэктомии уровень гистамина оставался достоверно более высоким (на 26-74%) в сравнении с группой контроля и к 30 дню эксперимента не нормализовался ( $p < 0,05$ ).

Серотонин (СТ) вырабатывается в кишечнике, накапливается и переносится тромбоцитами и накапливается в тучных клетках. Он способствует повышению тонуса артерий и вен, участвует в воспалении вместе с ГТ в фазе экссудации, определяет стаз крови в капиллярном русле. Повышение СТ вызывает нарушение микроциркуляции органа. На 7-й день эксперимента после нефрэктомии уровень СТ крови достоверно повысился на 63%, на 16-й день – на 79% по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ). На 30-й день после удаления левой почки уровень СТ оставался повышенным на 40% по отношению к контрольной группе ( $p < 0,05$ ).

Критическим показателем тестикулярного стероидогенеза является уровень эндогенного тестостерона. В ходе эксперимента после нефрэктомии в крови выявлено существенное превалирование медиаторов САС, обладающих стероид-ингибирующим эффектом. Проведенный эксперимент показал, что снижение уровня общего тестостерона крови (ОТ) в крови оперированных животных отмечалось уже на 7-й день эксперимента. К этому времени уровень ОТ достоверно снизился до  $2,33 \pm 0,07$  нг/мл против  $3,06 \pm 0,15$  нг/мл в группе контроля ( $p < 0,05$ ). Таким образом, дефицит ОТ на 7-е сутки после нефрэктомии составил 23,8% по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ).

К 16-му дню эксперимента уровень ОТ крови продолжал прогрессивно снижаться параллельно с указанными выше изменениями уровней биогенных аминов (особенно с выраженным повышением к этому дню уровней норадреналина и 11-ОКС, а также выраженным снижением уровня дофамина крови) ( $p < 0,05$ ). К 16-му дню после нефрэктомии в группе оперированных животных дефицит ОТ составил 29,4% по отношению к контролю ( $p < 0,05$ ).

К 30-му дню эксперимента уровень ОТ недостоверно увеличился по сравнению с 16-м днем, однако не достиг уровня группы контроля. На момент окончания опыта уровень ОТ у крыс после нефрэктомии был на 22,2% ниже, чем в контрольной группе ( $p < 0,05$ ).

Таким образом, на протяжении всех 30 дней эксперимента у исследуемых самцов крыс после нефрэктомии стабильно высокими (по сравнению с группой контроля) оставались уровни серотонина, гистамина, 11-ОКС, а с 16-го по 30-й дни эксперимента – еще и норадреналина. На протяжении всего эксперимента уровень

дофамина у оперированных животных характеризовался стабильно низкими показателями, не пришедшими в норму к концу эксперимента ( $p < 0,05$ ).

Отрицательная динамика уровня ОТ после нефрэктомии положительно коррелировала с высокими уровнями гистамина ( $r = +0,34$ ,  $p < 0,05$ ), серотонина ( $r = +0,42$ ,  $p < 0,05$ ) и 11-ОКС ( $r = +0,48$ ,  $p < 0,05$ ), а также с постоянно низкими уровнями дофамина крови ( $r = +0,62$ ,  $p < 0,05$ ).

**Заключение.** На протяжении всего времени наблюдения у животных после нефрэктомии отмечалось превалирование биогенных аминов, участвующих в реализации сосудосуживающих патологических реакций, и их уровень не нормализовался к концу первого месяца после операции, за исключением уровня адреналина крови. Превалирование сосудосуживающих реакций для гомеостаза организма означает, прежде всего, дефицит органного кровотока, нарушения микроциркуляции и тканевую гипоксию. При этом на фоне избытка сосудосуживающих аминов имел место абсолютный дефицит сосудорасширяющих аминов (дофамин), что подтверждает концепцию гемодинамической гипоксии органов и тканей после нефрэктомии. Избыток катехоламинов и 11-ОКС и дефицит дофамина приводил к уменьшению уровня общего тестостерона в крови у самцов крыс, что являлось отражением ингибирующего влияния указанных медиаторных нарушений на синтез тестостерона (острый функциональный стресс-индуцированный дефицит тестостерона).

Таким образом, выявленные в эксперименте на животных нарушения обмена биогенных аминов и тестикулярного стероидогенеза после нефрэктомии характеризовались существенным превалированием патофизиологического эффекта сосудосуживающих факторов (включая острый стресс-индуцированный дефицит тестостерона) на фоне дефицита сосудорасширяющих факторов, что является предиктором гемодинамических, микроциркуляторных и трофических нарушений в системах и органах оперированного организма.

### **Выводы.**

1. С патофизиологической точки зрения нефрэктомия оказывает негативное влияние на обмен биогенных аминов в раннем послеоперационном периоде, что проявляется превалированием эффектов сосудосуживающих аминов над эффектами сосудорасширяющих биогенных аминов.

2. Дополнительному нарушению микроциркуляции после нефрэктомии способствует индуцированный вышеуказанными медиаторными нарушениями острый дефицит тестостерона, что усугубляет сосудосуживающие вегетативные нарушения.
3. Выявленные медиаторно-гормональные нарушения в раннем периоде после нефрэктомии в эксперименте являются одним из патофизиологических механизмов гемодинамических, микроциркуляторных и трофических нарушений в системах и органах, лежащих в основе ранних и, возможно, поздних послеоперационных осложнений нефрэктомии. Для этого нужны продолженные и углубленные научные исследования.

### **Список литературы**

1. Айнсон Х.Х., Айнсон Э.И. Влияние изменений в метаболизме серотонина на его содержание в лимфе и крови. Сравнительно-физиологические исследования вегетативных функций. – М.: Медицина. – 1988. – С. 98–105.
2. Аляев Ю.Г., Варшавский В.А., Ахвледиани Н.Д. Современные аспекты гистоморфологических методов исследования при заболеваниях почек // Материалы Пленума Российского Общества урологов. – Краснодар. – 2010. – С. 11–14.
3. Анохин П.К. Очерки по физиологии функциональных систем. – М.: Наука. – 1975. – 447 с.
4. Бизунок Н.А. Биогенные амины – эндогенные модуляторы клеточной генерации активных форм кислорода // Белорусский медицинский журнал. – 2004. – № 4 (10). – С. 11–18.
5. Пономарева Т.Б., Петруняев А.И., Давидов М.И. и др. Морфологические исследования при опухолях почек // Материалы Пленума Российского Общества урологов. – Краснодар. – 2010. – С. 190–191.
6. Сергеев П.В., Валеева Л.А., Шимановский Н.Л. Рецепторы дофамина. Роль в регуляции деятельности сердца и сосудов // Эксперим. и клинич. фармакология. – 1998. – Т. 61. – № 1. – С. 63–69.
7. Ching T.L., Koelemij JG., Bast A. The effect of histamine on the oxidative burst of HL60 cells before and after exposure to reactive oxygen species // Inflammatory Research. – 1995. – Vol. 44. – № 3. – P. 99–104.
8. Dormandy J.A. Serotonin and haemoreology // Intern. J. of Cardiol. – 1987. – Vol. 14. – P. 213–219.
9. Heistadt D.D. Serotonin and Histamin experiment vascular disease // Int. J. of Cardiol. – 1987. – Vol. 14. – P. 205–212.
10. Sanger G.J. 5-Hydroxytryptamine and functional level disorders // Neurogastroenterol. Motil. Dec. – 1996. – № 8. – P. 319–331.

**Рецензенты:**

Сафаров Р.М., д.м.н., профессор, заведующий консультативным отделом ФГУ «НИИ урологии» МЗиСР РФ, г. Москва.

Яценко Э.К., д.м.н, главный научный сотрудник ФГУ «НИИ урологии» МЗиСР РФ, г. Москва.

**Работа получена 08.08.2011**