

## **Особенности обмена биогенных аминов и родственных им соединений у больных внепеченочным холестазом различного генеза**

*Гродненский государственный медицинский университет*

Желтуха как доброкачественного, так и злокачественного генеза характеризуются снижением уровня триптофана и повышением – 5-окситриптофана в плазме, торможением декарбоксилирования ароматических аминокислот, причём в группе больных механической желтухой злокачественного генеза торможение декарбоксилирования более выражено. При желтухе доброкачественного генеза в плазме крови уровень 3-метокси-4-оксифенилэтиленгликоля достоверно ниже, чем при желтухе злокачественного происхождения, а повышение уровня 5-оксииндолуксусной кислоты в плазме характерно только для последней группы больных. Возможно, данное наблюдение может послужить критерием диагностики механической желтухи.

M.I.Mileshko, Ye.M.Doroshenko

Plasma and bile biogenic amines and relative compounds in patients with extrahepatic cholestasis of various genesis

All patients showed low plasma levels of tryptophan and high – of 5-hydroxytryptophan, decrease of the rate of decarboxylation of aromatic amino acids, which was stronger in patients with jaundice of malignant nature. Plasma level of 3-methoxy-4-hydroxyphenylethylene glycol was significantly lower in patients with benign process. Increased level of 5-hydroxyindoleacetic acid in plasma (compared to control) was observed in the latter group of patients only. The observations above can contribute in distinguishing between benign and malignant nature of mechanical jaundice.

Key words: mechanical jaundice, amino acids, serotonin

Актуальность исследования обмена биогенных аминов и родственных им соединений у больных механической желтухой различного генеза определяется ростом заболеваемости, и не всегда удовлетворительными результатами лечения данной группы больных. Несмотря на некоторую тенденцию к снижению, послеоперационная летальность при внепечёночном холестазе остаётся высокой и составляет по данным разных авторов от 3,2% до 7,2% [2,6?].

Причины возникновения внепеченочного холестаза многообразны. Известно, что примерно у 60% пациентов причиной этой патологии являются доброкачественные поражения внепеченочных желчных ходов [3?]. Согласно статистическим данным, обтурационную желтуху при калькулезном холецистите чаще всего вызывают камни желчных протоков, рубцовый стеноз большого сосочка двенадцатиперстной кишки (БСД) и индуративный панкреатит, сдавливающий дистальный отдел общего желчного протока. Холестаз, вызванный обтурацией желчных протоков опухолями, наблюдается у 40% больных [9?]. Нарушая проходимость желчных протоков, эти заболевания ведут к застою желчи, желчной гипертензии и холемии [2,14?].

В течение последних двух десятилетий во всем мире отмечается также рост заболеваемости раком панкреатодуоденальной зоны [4,9?].

По распространённости он составляет у мужчин и женщин примерно 4% и 5% соответственно от всей онкологической патологии [10,13,15?]. В связи с поздней диагностикой, только 20% больных подвергается радикальному или паллиативному хирургическому вмешательству. У 2-8% больных возможно выполнить радикальное удаление опухоли, в остальных же случаях выполняется паллиативное оперативное пособие, заключающееся в дренировании желчных путей [13,15?].

Печеночная недостаточность является одним из наиболее частых осложнений внепеченочного холестаза и основной причиной смерти этой категории больных [3?]. Установить наличие печеночной недостаточности на ранней стадии не всегда удается. Широко используемые общепринятые методы обследования выявляют грубые нарушения функции печени, имеющие подчас необратимый характер [5]. Поиск и клиническая апробация специфических методов ранней диагностики печеночной недостаточности до ее клинических проявлений чрезвычайно актуален.

Активация гормональных систем пищеварения является универсальной реакцией обеспечения адаптационно-компенсаторных процессов в желудочно-кишечном тракте [1,7].

Известно, что при некоторых состояниях (язвенная болезнь, холестаз, оперативные вмешательства, стресс и др.) активация гормональных систем пищеварения может быть неадекватной как компенсаторно-приспособительная реакция и сама по себе приводит к развитию метаболического дисбаланса [8]. В частности, в настоящее время не вызывает сомнений вовлечение аминергических процессов в формирование расстройств печеночной гемодинамики, микроциркуляции, нарушений репарации и адаптации печени у больных внепеченочным холестазом, что и приводит в конечном счете к развитию печеночной недостаточности. Установлено снижение уровней серотонина и норадреналина при экспериментальном внепеченочном холестазе у собак, которое исчезало после устранения обтурации желчных ходов [11?].

Естественным стимулятором освобождения серотонина из депо является пища и желчь, поступающая в желудочно-кишечный тракт [12]. Непосредственной же причиной освобождения серотонина является раздражение рецепторного аппарата Ес-клеток целым комплексом химических и механических факторов, связанных с продвижением химуса. Благодаря этим и другим механизмам апудоциты очень тонко и точно реагируют на малейшие изменения среды путем усиления или уменьшения или прекращения функции [7, 12].

Известно, что нарушение процессов декарбоксилирования аминокислот с образованием биогенных аминов является характерным признаком поражения печени различной этиологии. Формирование фонда биогенных аминов, а также их производных в физиологических жидкостях (кровь, желчь) практически не исследовалось в комплексе с результатами клинико-биохимического обследования пациентов, а для внепеченочного холестаза в доступной литературе такие данные практически отсутствуют.

Очевидно, что наличие таких сведений позволило бы оптимизировать существующие для внепеченочного холестаза лечебно-диагностические программы, пред- и послеоперационную тактику устранения печеночной недостаточности. Интерпретация такого рода информации на основе современных методов статистического анализа и математического моделирования открывает перспективы

создания новых, патогенетически обоснованных методов диагностики и контроля эффективности лечения внепеченочного холестаза.

Целью настоящего исследования явилось выяснение влияния внепечёночного холестаза различного генеза на уровни биогенных аминов и родственных соединений в плазме крови и желчи.

#### Материал и методы

Нами обследовано 40 больных механической желтухой различного генеза, находившихся на лечении в хирургическом отделении Центральной городской клинической больницы г. Гродно. Возраст больных составил от 20 до 87 лет. Мужчин было 18, женщин – 22.

Больные разделены на группы:

I группа – 25 человек с механической желтухой доброкачественного происхождения, (мужчин – 10, женщин – 15).

II группа – 15 человек с механическим холестазом в результате онкологических заболеваний (мужчин – 8, женщин – 7).

Контрольной группой служили 31 практически здоровый человек (мужчин – 14, женщин – 17).

Общее состояние больных I и II группы в день поступления, в подавляющем большинстве, расценивалось как средней тяжести и тяжелое. Тяжесть состояния зависела от давности существования желтухи, выраженности гипербилирубинемии и наличия сопутствующих заболеваний.

Учитывая длительность существования желтухи, а также наличие у больных симптомов острой печёночной недостаточности в стадии субкомпенсации и декомпенсации оперативное вмешательство производилось в два этапа. На первом этапе была выполнена декомпрессия и санация билиарного тракта путем формирования холецистостомы. Вторым этапом (радикальная операция) выполнялся через 10-14 дней у 19 больных первой группы. У больных второй группы в результате распространённости патологического процесса выполнение радикальной операции было не возможно.

У больных обеих групп кровь для исследования забирали через одни, пять и десять суток после формирования холецистостомы. Желчь отбиралась из дренажа в день забора крови, не более чем через 1 час после него. В день забора крови и желчи больным проводилось лабораторное обследование с применением общепринятых биохимических методов исследования, применяемых у больных с патологией гепатобилиарной системы.

Кровь забиралась в гепаринизированные пробирки, плазму получали центрифугированием на холоду при 3000 об/мин в течение 15 мин и отбирали аспирацией, слой плазмы над эритроцитами (5 мм) не использовали. Пробы желчи и плазмы крови обрабатывали равным объемом 1М хлорной кислоты, содержащей 10 мкМ ванилиновой кислоты (внутренний стандарт), 50 мг/л метабисульфата натрия в качестве антиоксиданта и 25 мг/л ЭДТА. Пробы центрифугировали 10 мин при 10000 g, супернатанты немедленно отделяли отсасыванием и хранили при -18°C до анализа. Перед проведением анализа пробы повторно центрифугировали.

Определение уровней биогенных аминов, их предшественников и метаболитов проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографической системе Agilent 1100, состоящей из градиентной системы подачи растворителя G1311A, ручного инжектора Rheodyne 7725 с петлей 20 мкл, термостата

колонок G1316A, детектора флуоресценции G1321A. Управление прибором и сбор данных осуществляли с помощью системы Agilent Chem Station 08.03.

Разделение биогенных аминов и родственных соединений проводили с помощью ион-парной ВЭЖХ с детектированием по флуоресценции. Колонка 3x250 мм Separon SGX C18, 8 мкм (Элсико, Россия) термостатировалась при 27°C. Подвижная фаза: 0,1 М КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub>, 0,017 М СН<sub>3</sub>СООН, рН 3,65; 180 мг/л гептилсульфоната натрия, 180 мг/л октилсульфоната натрия, 50 мг/л ЭДТА, 10% (об.) метанола. Скорость потока 0,5 мл/мин. Детектирование: длина волны возбуждения 280 нм, излучения – 320 и 340 нм.

Идентификация определяемых соединений и количественная обработка хроматограмм проводилась с использованием метода внутреннего стандарта. Для определения уровней триптофана, 5-окситриптофана, серотонина, 5-оксииндолуксусной кислоты и внутреннего стандарта использовался сигнал с длиной волны излучения 340 нм, для определения остальных веществ – 320 нм.

Идентификация веществ в пробах проводилась по совпадению времен удерживания, а также спектров флуоресценции на вершине пика при длине волны возбуждения 280 нм с временами удерживания и спектрами флуоресценции соответствующих стандартов.

Статистическая обработка данных (сравнение средних значений в группах с помощью t-критерия Стьюдента) проводилась с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение

Таблица 1

Уровни биогенных аминов, их предшественников, метаболитов, (нмоль/л) и значения стандартных биохимических показателей в плазме крови больных механической желтухой после операции в зависимости от генеза желтухи (среднее ± средняя ошибка среднего)

Показатели	Контроль	Механическая желтуха доброкачественного генеза	Механическая желтуха злокачественного генеза
Ванилилминдальная кислота	224,60 ± 33,72	160,04 ± 54,549	96,75 ± 26,94*
3,4-диоксифенилаланин	484,75 ± 101,83	450,76 ± 35,641	514,36 ± 124,45
Тирозин	143194,62 ± 28349,05	50929,96 ± 3294,546*	58726,41 ± 8217,18*
5-окситриптофан	7,13 ± 0,92	25,80 ± 3,223*	45,93 ± 9,44*#
3,4-диоксифенил-уксусная кислота	1,13 ± 0,16	131,97 ± 26,274*	171,46 ± 61,59*
5-оксииндолуксусная кислота	1,73 ± 0,39	1,92 ± 0,421	2,68 ± 1,09
Триптофан	72525,35 ± 12931,02	32880,55 ± 3292,406*	32969,74 ± 4571,16*
3-метокси-4-оксифенилуксусная (гомованилиновая) кислота	64,01 ± 11,74	70,65 ± 16,290	139,17 ± 54,80
Серотонин	76,05 ± 24,78	29,10 ± 6,527*	31,47 ± 8,91
Норадреналин	17,53 ± 0,83	5,14 ± 0,873*	6,23 ± 1,33*
Адреналин	4,71 ± 0,62	1,99 ± 0,302*	1,56 ± 0,34*
Дофамин	0,29 ± 0,06	0,52 ± 0,165	0,28 ± 0,04
Щелочная фосфатаза, ммоль/ч л	1,3 ± 0,09	2,52 ± 0,155*	2,87 ± 0,15*
Аспаргат-аминотрансфераза, ммоль/ч л	0,5 ± 0,02	0,91 ± 0,068*	1,12 ± 0,10*
Аланин-аминотрансфераза, ммоль/ч л	0,8 ± 0,06	1,31 ± 0,112*	1,55 ± 0,14*
Билирубин, мкмоль/л	11,1 ± 0,52	57,36 ± 8,090*	112,18 ± 15,51*#
Прямой билирубин, мкмоль/л	3,0 ± 0,11	32,34 ± 5,049*	67,44 ± 9,98*#
Амилаза, ед./ч л	28,7 ± 0,59	31,97 ± 1,562	30,47 ± 0,95

\* p < 0,05 по отношению к контролю (группе больных без желтухи)

# p < 0,05 по отношению к группе больных с желтухой доброкачественного генеза

Таблица 2

Уровни биогенных аминов, их предшественников, метаболитов, в желчи больных механической желтухой после операции в зависимости от генеза желтухи, нмоль/л (среднее  $\pm$  средняя ошибка среднего)

Показатели	Контроль	Желтуха доброкачественного генеза	Желтуха злокачественного генеза
Ванилилминдальная кислота	212,98 $\pm$ 37,54	100,35 $\pm$ 23,206*	130,05 $\pm$ 55,60
3,4 – диоксифенил-L-аланин	386,36 $\pm$ 97,84	387,97 $\pm$ 64,264	186,80 $\pm$ 41,82
L-тирозин	68873,85 $\pm$ 27817,71	18700,09 $\pm$ 6278,743*	21569,24 $\pm$ 11831,85
3-метокси-4-оксифенил-этиленгликоль	297,36 $\pm$ 83,13	213,50 $\pm$ 115,959	49,36 $\pm$ 18,36*
5-окситриптофан	10,30 $\pm$ 1,65	10,40 $\pm$ 2,564	10,15 $\pm$ 3,17
3,4-диоксифенилуксусная кислота	3,60 $\pm$ 0,50	279,59 $\pm$ 62,130	231,11 $\pm$ 94,85
5-оксииндолуксусная кислота	1,19 $\pm$ 0,35	2,29 $\pm$ 0,747	5,43 $\pm$ 2,55
Триптофан	19128,86 $\pm$ 8414,20	12315,73 $\pm$ 3623,330	10630,23 $\pm$ 3115,00
3-метокси-4-оксифенилуксусная (гомованилиновая) кислота	29,63 $\pm$ 20,77	23,86 $\pm$ 5,759	43,05 $\pm$ 17,13
Серотонин	16,75 $\pm$ 4,34	46,25 $\pm$ 22,080	38,06 $\pm$ 13,59
Норадреналин	16,70 $\pm$ 2,18	5,25 $\pm$ 1,725*	4,22 $\pm$ 1,67*
Адреналин	8,34 $\pm$ 0,78	2,13 $\pm$ 0,439*	1,19 $\pm$ 0,52*
Дофамин	0,64 $\pm$ 0,27	0,26 $\pm$ 0,081	12,38 $\pm$ 11,76

\*  $p < 0,05$  по отношению к контролю (группе больных без желтухи)

Из таблиц 1 и 2 следует, что у больных с желтухой доброкачественного генеза после операции отмечалось существенное снижение уровня триптофана (в 2,2 раза), серотонина (в 2,6 раза), адреналина (в 2,4 раза), норадреналина (в 3,4 раза), тирозина (в 2,8 раза) в плазме по сравнению с практически здоровыми людьми. В желчи наблюдалось значительное снижение содержания тирозина (в 3,7 раза). Тем не менее, уровень непосредственного предшественника серотонина – 5-окситриптофана в плазме у этих больных был достоверно повышен в 3,6 раза. Уровни исследованных метаболитов биогенных аминов не различались, за исключением основного метаболита дофамина - 3,4-диоксифенил-уксусной кислоты, который повысился в плазме в среднем в 116,8 раза, хотя эта величина характеризовалась большой вариабельностью. Также имело место снижение в 2,1 раза уровня метаболита норадреналина и адреналина - ванилилминдальной кислоты в желчи. Таким образом, следует отметить, что изменения в пуле производных триптофана при механической желтухе доброкачественного генеза имеют место и включают в себя: снижение уровня и соответственно доступности триптофана; активацию гидроксирования триптофана; торможение декарбоксилирования 5-окситриптофана, а следовательно его накопление. Возможно снижение функциональной активности (синаптического выброса медиатора) дофаминовой и адреналиновой систем в целом.

При наличии желтухи злокачественного генеза уровень 3-метокси-4-оксифенилэтиленгликоля в плазме не имел достоверного отличия от такового у практически здоровых из-за большой вариабельности показателей, но в желчи был достоверно ниже в 6 раз. Подобно больным с доброкачественной желтухой, в плазме у них был снижен уровень тирозина (в 2,4 раза), адреналина (в 3 раза), норадреналина (в 2,8 раза), триптофана (в 2,2 раза) и повышен – 5-окситриптофана в 6,4 раза. Однако, не было зарегистрировано достоверных различий в уровне серотонина, а уровень 5-оксииндолуксусной кислоты, хотя был повышен в среднем 2,4 раза, но из-за вариабельности показателей не имел достоверности. Таким образом, желтуха

доброкачественного и злокачественного генеза характеризуются рядом общих особенностей обмена ароматических аминокислот: снижением уровня триптофана в плазме, торможением декарбоксилирования ароматических аминокислот. Причём в группе больных механической желтухой злокачественного генеза торможение декарбоксилирования более выражено, что определяется достоверно более высоким (в 1,8 раза) уровнем 5-окситриптофана, чем у больных с холестазом доброкачественного генеза. Изменения уровней исследуемых показателей в желчи были значительно менее выраженными.

Обращают на себя внимание значительно более высокие уровни основного метаболита дофамина - 3,4-диоксифенилуксусной кислоты как в плазме крови (в 116,8 раза при желтухе доброкачественного генеза и в 151,7 раза при желтухе онкологического генеза), так и в желчи (в 77,7 раза при желтухе доброкачественного генеза и в 64,2 раза при желтухе онкологического генеза), по отношению к контрольным значениям. В плазме крови эти различия были достоверными. Это может объясняться торможением О-метиляции метаболитов катехоламинов (косвенно это подтверждает более низкие уровни ванилилминдальной кислоты (в 2,3 раза) в плазме у больных механической желтухой онкологического генеза и в 2,1 раза в желчи – доброкачественного генеза), в результате чего концентрация 3,4-диоксифенилуксусной кислоты может многократно возрасти. Неизменный уровень гомованилиновой кислоты позволяет считать, что синаптический выброс дофамина при этом не изменяется. Весьма большой разброс концентраций 3,4-диоксифенилуксусной кислоты, особенно в желчи, однако, затрудняет практическое использование этого теста, снижая его диагностическую чувствительность, так как повышение уровня 3,4-диоксифенилуксусной кислоты имеет место не у всех больных.

Данные стандартных биохимических показателей (общего билирубина, прямого билирубина, щелочной фосфатазы, аспартат-аминотрансферазы, аланин-аминотрансферазы) у больных обеих групп достоверно отличались от значений контрольной группы (таблица 1) и были характерными для механической желтухи. Сравнение результатов лабораторных тестов свидетельствует, что при желтухе злокачественного генеза наблюдались достоверно более высокие уровни билирубина, что обусловлено большей длительностью желтухи.

Сравнение данных в двух группах больных с желтухой показывает, что при желтухе доброкачественного генеза в плазме крови уровни 3-метокси-4-оксифенилэтиленгликоля и 5-оксииндолуксусной кислоты достоверно ниже, чем при желтухе злокачественного происхождения.

Из описанных выше изменений уровней биогенных аминов и родственных соединений следует, что повышение уровня 5-оксииндолуксусной кислоты в плазме характерно только для больных с желтухой в результате злокачественных заболеваний. Другие изменения: снижение уровня триптофана и повышение 5-окситриптофана – характерны для обеих групп больных. Возможно, данное наблюдение может послужить критерием диагностики механической желтухи.

### **Литература**

1. Дзюбановский И.Я. Хирургические способы предупреждения и лечения демпинг-синдрома в зависимости от состояния регионарного кровотока желудка и вегетативно-гормонального гомеостазиса.: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.27 / Московский гос. стоматологический ин-т им. Н.А. Семашко. – М., 1992. – 35с.

2. Ившин В.Г., Лукичев О.Д. Малоинвазивные методы декомпрессии желчных путей у больных механической желтухой. – Тула: Гриф и К, 2003. – 182 с.
3. Козырев М.А. Заболевания печени и желчных путей. – Минск, 2002 – 247 с.
4. Малышев А.Ф., Шкуратов А.Г. Современные аспекты хирургического лечения диффузных и очаговых заболеваний печени // *Анналы хирургической гепатологии.* – 2002. – Т.7.-№1. – С.290.
5. Немченко Н.С.; Вагнер В.К.; Эргашев О.Н. Антипириновая проба в оценке печеночной недостаточности у больных в раннем послеоперационном периоде. // *Хирургия.* - 1998.-№1. – С.42-44.
6. Обтурационный холестаз: успехи и нерешённые вопросы диагностики и лечения / П.В. Гарелик, Г.Г. Мармыш, И.Т. Цилиндзь, М.И. Милешко // *Актуальные вопросы гепатологии / под ред. В.М. Цыркунова.* – Материалы V Междунар. симпозиума гепатологов Беларуси (25-26 сентября 2002 г.). – Гродно, 2002. – С. 46.
7. Райхлин Н.Т., Кветной И.М., Соломатина Т.М. Патология АПУД-системы органов пищеварения // *Советская медицина.* – 1983. - № 7. – С.58-64
8. Райхлин Н.Т., Кветной И.М., Яковлева П.Д. АПУД-система: морфофункциональные основы участия регуляторных пептидов и биогенных аминов в физиологических и патологических процессах // *Регуляторные пептиды и биогенные амины: Радиобиологические и онкорadiологические аспекты: Сб. научных трудов.* – Обнинск, 1992. – С.6-28.
9. Beckingham I.J., Krige J.E.J. Liver tumours // *Brit. J Surg.* – 2001. – Vol. 322. – P. 477-480.
10. Cancer statistics 1995. / Parker S.L., Tong T., Bolden S., Ningo P.A. // *Cancer* 1996. – 1996. – Vol.46. – P. 5-27.
11. Effects of experimental obstructive jaundice on contractile responses of dog isolated blood vessels: role of endothelium and duration of bile duct ligation. / Utkan Z.N., Utkan T., Sarioglu Y., Gonullu N.N. // *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol.*// *Australia.* – 2000. – Vol.27,№5-6. - P.339-344.
12. Ferrara A., Zinner M.J., Jaffe B.M. Intraluminal release of serotonin, substance P and gastrin in the canine small intestine // *Dig. Disesed Sci.* – 1987. – Vol. 32. - № 4. – P. 289-294.
13. Gemetabine in inoperable pancreatic cancer. / Pawlicki M., Zemelka T., Rolski J., Rysz B., Koralewski P., Pernal J. // *The polish journal of surgery.* – 2000. – Vol.72 - №12. – P.1124-1134.
14. Piecuch J., Rdes J., Sosada K. Analiza przyczyn zoltaczki mechanicznej oraz metod leczenia w grupie 103 kolejnych hospitalizowanych chorych. // *The 60th Jubilee Congress of The Association of Polish Surgeons / Abstracts.* – Warszawa. – 12-15 ix 2001. – P.336-337.
15. Wanebo H.J., Vezeridij M.P. Pancreatic carcinoma in perspective: A continuing challenge. // *Cancer* 1996. – V.78. - P.580-91.