

О. В. Котов, С. П. Луговський

ДЗ «Дніпропетровська
медична академія МОЗ
України»

Інститут медицини праці
НАМНУ, м. Київ

© Котов О. В., Луговський С. П.

ПОРУШЕННЯ ОБМІНУ ЗАЛІЗА ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ МЕХАНІЧНІЙ ЖОВТЯНИЦІ

Резюме. У роботі представлено результати дослідження порушення обміну заліза при експериментальній механічній жовтяниці. Встановлено, що протягом двох тижнів від початку жовтяниці середній рівень заліза в крові зменшувався, водночас із підвищенням його рівня в печінці та жовчі. Накопичення заліза в печінці призводило до значущих структурних змін. Отримані нами нові дані про порушення обміну заліза за умов експериментального холестазу відкривають нові перспективи щодо розуміння патогенезу патології та дозволяють науково обґрунтувати нові підходи до патогенетичної терапії.

Ключові слова: механічна жовтяниця, обмін заліза.

Вступ

Різні захворювання печінки супроводжуються накопиченням в її паренхімі заліза та інших мікроелементів. Надлишок цих мікроелементів, переважно в клітинах Купфера, є прогностично негативним фактором й призводить до активації процесів фіброзоутворення в тканині печінки, що в свою чергу суттєво погіршує функціональний стан органу [2, 7, 8, 9]. Особливої актуальності таке погіршення набуває на більш пізніх етапах прогресування синдрому механічної жовтяниці, коли тяжкість печінкової недостатності суттєво обмежує хірургів у виконанні тих чи інших радикальних хірургічних втручань [2, 6]. Припускаємо, що одним із механізмів прогресування печінкової недостатності за умов механічної жовтяниці є важкі структурні зміни в печінці які виникають в тому числі й на тлі порушення обміну мікроелементів. Встановити факт наявності таких порушень та намітити можливі шляхи впливу на цей процес з метою відновлення функції органу є основою дослідження.

Мета дослідження

Вивчити порушення обміну заліза в організмі експериментальних тварин за умов моделювання механічної жовтяниці в різні строки від початку її прогресування та встановити пов'язані з цим структурні зміни в печінці.

Матеріали та методи досліджень

Експериментальне дослідження проведено на 25 конвенційних рендомбредних аутбредних статевозрілих самцях білих щурів лінії Vistar вагою 220–240 г. Усі дослідження (включаючи анестезію, виведення тварин з експерименту) повною мірою відповідали принципам Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Тварин розподілили на 2 групи: основну (n=19) та контрольну (n=6). Усіх тварин основної групи оперували під загальною анестезією шляхом міні доступу в правому підребер'ї: виконали виділення та перев'язку загальної жовчної протоки нижче конfluence капроном 4-0. В контрольній групі тварин (інтакт) втручань не виконували. За прогресування механічної жовтяниці тварин основної групи розділили на три підгрупи. Перша підгрупа з терміном жовтяниці 7 діб, друга – 14, третя – 28. По закінченню вказаних термінів тварин виводили з експерименту.

В дослідженні використані наступні методи: загальноклінічні, біохімічні, гістологічні, імуногістохімічні, морфологічні, фотометричні (атомно-емісійна спектроскопія з індуктивно-зв'язаною плазмою), статистичні.

Результати досліджень та їх обговорення

У тварин після перев'язки загальної жовчної протоки спостерігали зовнішні зміни що були характерними для прогресуючого холестазу: шкіра ставала жовтішою, хутро втрачало блискучий колір, тварина була менш охайною, її сеча – темною, а фекалії – світлими. Клінічну картину доповнювали гістологічні зміни в печінковій тканині: гіперплазія та гіпертрофія жовчної протоки, фіброз, з формуванням несправжніх дольок та колагеногенез (волокна колагену переважно III типу). Морфологічні зміни в печінці характеризувались розвитком фіброзу з накопиченням заліза в макрофагах, а також гранул ліпофусцину (рис. 1).

Проведені нами ультраструктурні дослідження печінкової тканини тварин виявляли включення гемосидерину в цитоплазмі клітин Купфера, що було свідченням накопичення заліза в печінці тварин за умов прогресуючого механічного холестазу (рис. 2).

Суттєві структурні зміни також спостерігали на поверхні слизової оболонки загальної жовчної протоки: набряк та набухання епітелію з різко вираженою гіперплазією мікро-



ворсинок на поверхні клітинз формуванням конкрементів (рис. 3).

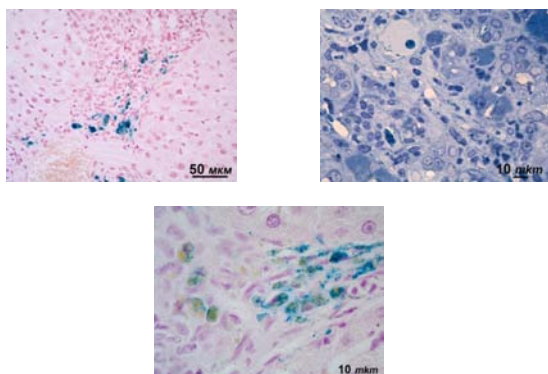


Рис. 1. Розвиток фіброзу в печінці з накопиченням заліза в макрофагах, а також гранул ліпофусцину (реакція Перлса)

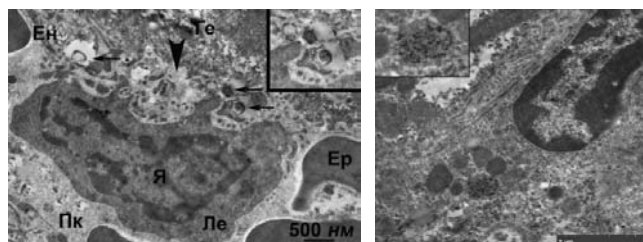


Рис.2. Включення гемосидерину в цитоплазмі клітин Купфера

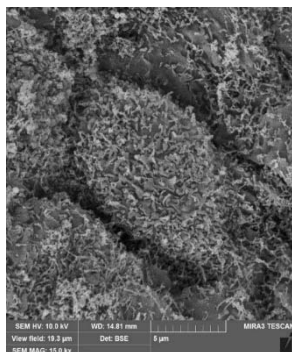


Рис.3. Набряк та набухання епітелію жовчної протоки, різко виражена гіперплазія мікрворсинок на поверхні клітин з формуванням конкрементів

Метод растрової електронної мікроскопії в комплексі з рентген-структурним мікроаналізом дозволили нам виявити сформовані на поверхні слизової оболонки загальної жовчної протоки конкременти, складовою часткою яких є такі елементи, як кальцій, магній, фосфор та залізо (рис. 4).

Зміни вмісту заліза спостерігали також в крові, печінці та жовчі експериментальних тварин в динаміці прогресування холестазу. Так, в крові експериментальних тварин основної групи вже на 7 добу від початку холестазу спостерігали зниження рівня вмісту заліза в межах мінімальних та максимальних значень від 280,27 до 417,25 мг/л (Ме (25;75%) = 318,44 (288,97;344,55)), у порівнянні з тваринами групи контролю — від 348,9 до 521,3 мг/л (Ме

(25;75%) = 437,73 (409,3;477,2), рис.5). На 14 добу від початку холестазу ця тенденція продовжувала зберігатись. На 28 добу спостерігали незначне підвищення вмісту заліза в крові в межах мінімальних та максимальних значень від 329,9 до 388,18 мг/л (Ме (25;75%) = 364,79 (336,65;383,45)). Кореляційний аналіз за Спірменом підтверджує встановлену закономірність на рівні $r=0,829$ ($p<0,05$).

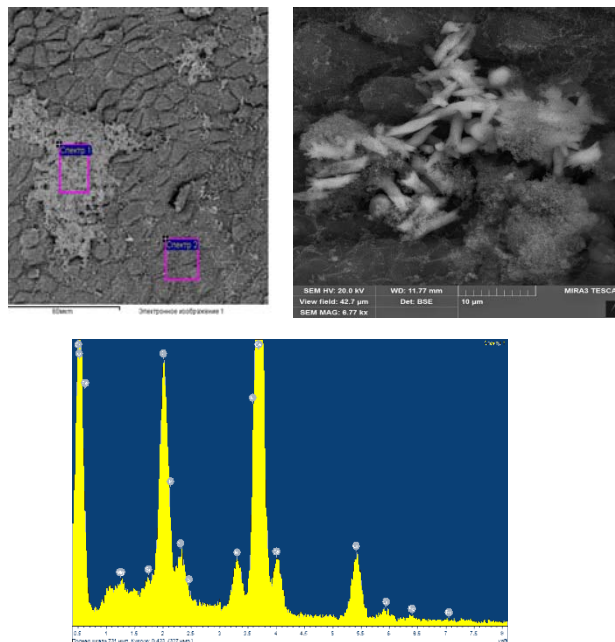


Рис. 4. Конкрементина поверхні слизової оболонки загальної жовчної протоки, складовою частиною яких є кальцій, магній, фосфор та залізо (растрова електронна мікроскопія в комплексі з рентген-структурним мікроаналізом)

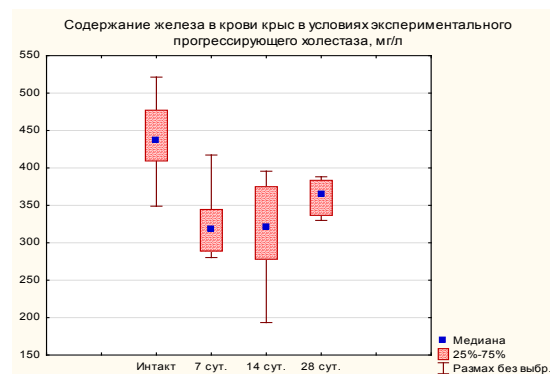


Рис. 5. Вміст заліза в крові тварин за умов експериментального прогресуючого холестазу, мг/л

Одночасно, зі зменшенням рівня заліза в крові експериментальних тварин на 7 добу від початку холестазу, в печінці спостерігали суттєве підвищення рівня його вмісту в межах мінімальних та максимальних значень від 347,88 до 459,33 мг/л (Ме (25;75 %) = 387,07 (374,67; 426,9)), у порівнянні з тваринами групи контролю — від 109,87 до 152,72 мг/л (Ме (25;75%) = 140,04 (129,75; 150,2), рис. 6), тобто на 127,64 %.

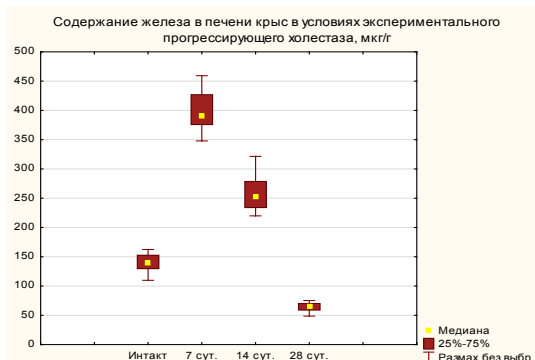


Рис. 6. Вміст заліза в печінці тварин за умов експериментального прогресуючого холестазу, мг/л

Проте, після 7 доби прогресуючого холестазу, а саме на 14-ту та 28-му доби рівень вмісту заліза в печінці зменшився (рис. 6). Кореляційний аналіз за Спірменом підтверджує встановлену зворотну закономірність на рівні $r = -0,829$ ($p < 0,05$). Подібні зміни спостерігали й з рівнем заліза в жовчі (рис. 7).

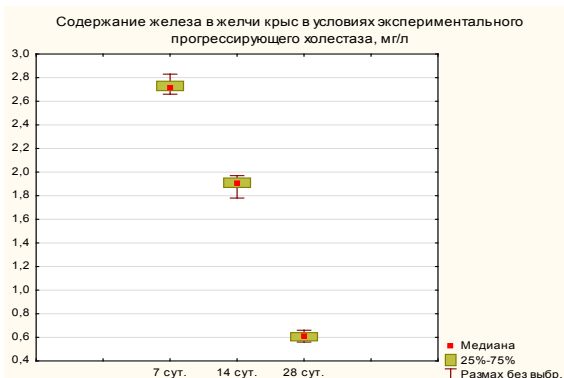


Рис. 7. Вміст заліза в жовчі тварин за умов експериментального прогресуючого холестазу, мг/л

Підтвердженням інтенсивного накопичення заліза в печінці у тварин за умов експериментального холестазу були встановлені нами зміни магнітних характеристик органу за допомогою надчутливої SQUID магнітометричної системи [5]. Причому був встановлений взаємозв'язок між рівнем магнітного сигналу і кількісним вмістом компонента, що посилює цей сигнал.

Таким чином, за умов експериментального холестазу відбувалися суттєві зміни метаболізму заліза, шляхом його перерозподілу в організмі тварин. Так, через тиждень від моделювання жовтяниці, середній рівень заліза в крові зменшився на 27,25 % у порівнянні з відповідним рівнем в крові тварин групи контролю, водночас із підвищенням середнього рівня заліза в печінці на 127,64 % порівняно з відповідним показником в групі контролю. Цей процес, на нашу думку, скоріше всього пов'язаний з активацією утворення гепсидину, який через білок феропортин (FPN) виконував свою функцію щодо накопичення заліза в

печінці. За даними літератури, експресія гена синтезу гепсидину стимулюється медіаторами запалення, які утворюються відповідь на механічний холестаз [10]. Підвищення вмісту заліза в печінці призводить до стимуляції синтезу в ній колагену та розвитку сполучної тканини [1]. Починаючи з 14 доби експерименту рівень заліза в крові збільшувався, а в печінці та жовчі зменшувався, поступово наближаючись до рівня в контрольній групі (28 доба експерименту). Такі зміни в метаболізмі заліза після 14 діб експериментального холестазу відповідали й клінічним змінам в організмі більшості тварин. А саме, через два тижні від початку холестазу шкіряні покрови та слизові оболонки починали світлішати, тварини ставали охайнішими, але сеча залишалася темною. Цей феномен в літературі знайшов своє пояснення [6]. Ми припускаємо, що разом зі зменшенням рівня білірубину в крові тварин знижувався й синтез гепсидину і залізо знов отримувало можливість виходити із макрофагів та ретикулоендотеліальної системи печінки в кров — вміст заліза в печінці поступово зменшувався, а в крові — підвищувався, тобто цей процес метаболізму мав всі ознаки зворотного наслідку.

Встановлений факт накопичення заліза в печінці за умов експериментального холестазу відкрив нові можливості щодо розуміння механізмів перебігу патологічного процесу і, відповідно, його діагностики та лікування в хірургічній клініці. Так наприклад, перебіг безсимптомного холедохолітіазу, який був безпосередньою причиною механічного холестазу і зустрічався у 10-20% хворих на жовчнокам'яну хворобу [7] призводив до розвитку цілої низки ускладнень, серед яких й біліарний цироз печінки. Діагностика цього патологічного стану може бути здійснена за допомогою магнітно резонансної томографії та надчутливої SQUID магнітометричної системи. Лікування повинно бути комплексним і включати як застосування сучасних мініінвазивних хірургічних технологій щодо ліквідації перешкод відтоку жовчі, так і терапевтичних препаратів, серед яких ефективні гепатопротекторні засоби та хелатори заліза.

Висновки

За умов експериментального холестазу відбувалися суттєві зміни метаболізму заліза, шляхом його швидкого перерозподілу в організмі тварин. Протягом двох тижнів від початку жовтяниці середній рівень заліза в крові зменшувався, водночас із підвищенням його рівня в печінці та жовчі. На 28 добу експерименту процес метаболізму заліза в організмі тварин мав всі ознаки зворотного наслідку — вміст за-



ліза в печінці поступово зменшувався, а в крові знов підвищувався, що пов'язано з особливостями перебігу жовтяниці саме у щурів.

Накопичення заліза в печінці призводило до значущих структурних змін: включення гемосидерину в цитоплазмі клітин Купфера, фіброз, з формуванням несправжніх дольок

та колагеногенез, поява на поверхні епітелію протоки конкрементів.

Отримані нами нові дані про порушення обміну заліза за умов експериментального холестаза відкривають нові перспективи щодо розуміння патогенезу патології та дозволяють науково обґрунтувати нові підходи до патогенетичної терапії.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бойко В. В. Холедохолитиаз: диагностика и оперативное лечение: монография / В. В. Бойко, Г. А. Клименко, А. В. Малоштан. — Х. : Нове слово, 2008. — 216 с.
2. Даценко Б. М. Коррекция печеночной дисфункции у больных при обтурационной желтухе / Б. М. Даценко, Т. И. Тамм, В. Б. Борисенко // Клінічна хірургія. — 2013. — № 4. — С. 9–12.
3. Давыдов В. Г. Количественная оценка гибели гепатоцитов и динамика некоторых биохимических параметров крови и желчи при экспериментальной механической желтухе / В. Г. Давыдов, С. В. Бойчук, Р. Ш. Шаймарданов [и др.] // Рос. жур. гастро., гепат., колопроктологии. — 2007. — Т. 18, №1. — С. 25–31.
4. Использование бесконтактного магнитометрического метода для диагностики холестаза в эксперименте / М. А. Примин, И. В. Недайвода, В. Е. Васильев [и др.] // Комп'ютерні засоби, мережі та системи: зб. наук. пр. — К. — 2016. — № 15. — С. 20–29.
5. Лубянова И. П. Избыточное железо и патология у рабочих сварочных профессий: под общей редакцией академика Ю. И. Кундиева / И. П. Лубянова. — К. : ВД «Авіцена», 2013. — 240 с.
6. Сипливый В. А. Морфологические изменения печени при обтурационной желтухе, обусловленной холедохолитиазом, в зависимости от ее длительности / В. А. Сипливый, Д. В. Евтушенко, О. В. Наумова // Клінічна хірургія. — 2016. — № 2. — С. 20–23.
7. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок, Дж. Дули / Практич. рук.: пер. с англ. / Под ред. З. Г. Апросиной, Н. А. Мухина. — М. : Гэотар Медицина, 1999. — 864 с.
8. Evaluation of the uptake function of liver in rats with obstructive jaundice before and after relief from obstruction by superparamagnetic iron oxide-enhanced magnetic resonance imaging / Z. Yiming, J. Lei, Z. Renyou [et al.]. // Oncology letters. — 2012. — № 4. — P. 221–226.
9. Ganz T. Molecular control of iron transport / T. Ganz // J. Am. Soc. Nephrol. — 2007. — Vol. 18(2). — P. 394–400.
10. The Role of Iron and Iron Overload in Chronic Liver Disease/ S. Milic., I. Mikolasevic, L. Orlic [et al.]. // Med. Sci. Monit. — 2016. — № 22. — P. 2144–2151.

НАРУШЕНИЕ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МЕХАНИЧЕСКОЙ ЖЕЛТУХИ

А. В. Котов, С. П. Луговский

Резюме. В работе представлены результаты исследования нарушения обмена железа при экспериментальной механической желтухе. Установлено, что в течение двух недель от начала желтухи средний уровень железа в крови уменьшался, одновременно с повышением его уровня в печени и желчи. Накопление железа в печени приводило к значимым структурным изменениям. Полученные нами новые данные о нарушениях обмена железа в условиях экспериментального холестаза открывают новые перспективы в понимании патогенеза патологии и позволяют научно обосновать новые подходы к патогенетической терапии.

Ключевые слова: *механическая желтуха, обмен железа.*

DISTURBANCE OF IRON METABOLISM IN EXPERIMENTAL MECHANICAL JAUNDICE

A. V. Kotov, S. P. Lugovsky

Summary. The paper presents the results of the study of the disturbance of iron metabolism in experimental mechanical jaundice. It was found that, within two weeks from the onset of jaundice, the average iron level in the blood decreased, simultaneously with an increase in its level in the liver and bile. The accumulation of iron in the liver led to significant structural changes. The new data obtained by us on the violations of iron metabolism in experimental cholestasis open new perspectives in understanding the pathogenesis of pathology and allow us to scientifically substantiate new approaches to pathogenetic therapy.

Key words: *mechanical jaundice, iron exchange.*