

**ПОВТОРНЕ ОКСИДАНТНЕ УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ПАНКРЕОНЕКРОЗІ У ЩУРІВ**

Стаття присвячена вивченню оксидантного ураження печінки при експериментальному гострому гепатиті та панкреонекрозі у щурів. Встановлено, що на тлі змодельованих патологічних процесів через 48 год після ініціації захворювань спостерігаються повторне погіршення функціонального стану печінки, зростання активності перекисного окиснення ліпідів та ферментативної ланки антиоксидантного захисту.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: експериментальний панкреонекроз, експериментальний гепатит, оксидантне ураження печінки.

ВСТУП. Захворювання печінки та підшлункової залози займають одне з провідних місць за частотою виникнення та летальністю серед населення [3, 12]. Незважаючи на достатню глибину класичних досліджень механізмів уражень цих органів, в їх патогенезі залишається багато невивчених аспектів, зокрема щодо зв'язків між кисневим обміном, активністю перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантного захисту (АОЗ) і функціональним станом на різних стадіях захворювання та етапах його лікування.

Розвиток токсичного гепатиту супроводжується активацією як дегенерації, так і регенерації печінки, й співвідношення цих процесів має вирішальний вплив на результат лікування захворювання. Швидкість регенерації залежить від того, наскільки ефективний енергетичний метаболізм гепатоцитів. Останній залежить від обміну кисню як у печінці, так і в організмі в цілому. Питання щодо локального та загального кисневого балансу при токсичних гепатитах досліджено недостатньо, отримані результати мають суперечливий характер [13]. Нез'ясованими залишаються аспекти хронофізіології та хронофармакології токсичних гепатитів [9].

Досить схожим до токсичного гепатиту є ураження печінки, яке виникає при панкреонекрозі [3]. Проблеми патогенезу та лікування останнього не вирішено, про що свідчить надзвичайно високий рівень летальності серед пацієнтів з панкреонекрозом, який сягає

в середньому 70 %. Стан кисневого обміну та взаємозв'язки між ПОЛ, АОЗ, функціональним станом печінки при цій патології потребують подальшого дослідження.

Метою роботи було з'ясувати особливості оксидантного ураження печінки в динаміці експериментального гепатиту та панкреонекрозу в щурів.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. У 54 нелінійних білих щурів-самців масою 160–180 г викликали експериментальний токсичний гепатит шляхом внутрішньошлункового одноразового введення 50 % олійного розчину CCl_4 у дозі 0,2 мл на 100 г маси чистої речовини [4]. У такій же кількості тварин викликали панкреонекроз за методикою М. Ф. Мосенцева (2000) [1]. Остання передбачає обробку підшлункової залози хлоретилом після виконання лапаротомії під кетаміновим наркозом. У цьому випадку гострий панкреатит переходить у панкреонекроз приблизно через 20 год після ураження хлоретилом. Контрольну групу склали 10 інтактних тварин. Після ініціації захворювань щури вільно рухались, їм давали пити. Щурів з гепатитом годували, а тварини з панкреонекрозом мали доступ тільки до води (для забезпечення функціонального спокою підшлункової залози). Піддослідних тварин поділили на чотири групи, їх обстежували через 12, 24, 36 і 48 год після моделювання досліджуваних патологічних процесів. Під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг на кілограм маси) визначали сатурацію крові в стегновій та портальній венах [10]. За допомогою метаболічного візка досліджували споживання кисню тваринами.

© Ю.І. Сушко, Р.М. Ляхович, О.В. Олійник, А.А. Гудима, 2011.

Після цього забирали кров і тканину печінки для біохімічних досліджень. У гомогенатах печінки визначали концентрацію ТБК-активних продуктів ПОЛ [6] та вміст SH-груп [2], у сироватці крові встановлювали вміст дієнових і триєнових кон'югатів (ДК і ТК) [5], активність супероксиддисмутази (СОД) [11], каталази (КТ) [7], а також активність аспартат- та аланінамінотрансфераз (АЛАТ та АСАТ) за методиками для біохімічного аналізатора Humalyzer-2000. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою пакета програм STATISTIKA. Експеримент відповідав вимогам біоетики.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як свідчать дані, наведені в таблиці й на рисунках 1 і 2, динаміка змін досліджуваних показників через 12, 24, 36 та 48 год після моделювання токсичного гепатиту та панкреонекрозу була дуже подібною. Різниця полягала в тому, що на тлі моделювання токсичного гепатиту максимальне погіршення більшості досліджуваних показників спостерігали через 12–24 год після ініціації патології, на фоні панкреонекрозу – через 24–36 год.

При порівнянні показників насичення гемоглобіну киснем у всіх тварин з обома видами патології видно, що в портальній вені вони нижчі, ніж у стегновій. Це можна пояснити пришвидшенням метаболізму в органах шлунково-кишкового тракту за умов патології травної системи порівняно з таким у м'язах стегна, які під час експерименту перебували в стані спокою.

Через 12 год після ініціації гепатиту спостерігали зменшення споживання кисню та зростання насичення гемоглобіну киснем у крові стегнової вени в 1,35 раза ($p < 0,001$), що свідчить про пригнічення основного обміну через 12 год після ініціації гострого токсичного ураження печінки.

На фоні обох патологічних моделей відбувалось достовірне зростання ПОЛ. Максимальні значення ТБК-активних продуктів ПОЛ спостерігали через 24 год після ініціації обох видів патології. При гепатиті зростання становило 513,5 % ($p < 0,001$), при панкреонекрозі – 237,1 % ($p < 0,001$).

Максимальний рівень ДК за умов гепатиту зростав у 2,92 раза через 24 год ($p < 0,001$), панкреонекрозу – в 3,55 раза через 12 год ($p < 0,001$).

Таблиця – Показники функціонального стану печінки, перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту в щурів з панкреонекрозом і токсичним гепатитом ($M \pm m$)

Показник	Патологія	Здорові тварини	Час від початку моделювання захворювання			
			12 год	24 год	36 год	48 год
Sv, стегнова вена, %	гепатит	55,0 \pm 3,5	74,5 \pm 2,5*	64,3 \pm 4,2	62,3 \pm 3,5	63,7 \pm 3,8
	панкреонекроз		55,6 \pm 4,3	59,0 \pm 3,5	61,0 \pm 3,0	61,3 \pm 2,4
Sv, ворітна вена, %	гепатит	49,3 \pm 3,8	47,3 \pm 3,5	41,3 \pm 3,6	42,2 \pm 3,5	33,0 \pm 2,0*
	панкреонекроз		45,0 \pm 2,4	44,5 \pm 2,5	44,7 \pm 2,0	24,7 \pm 1,5*
Споживання кисню, мл·кг ⁻¹ ·хв ⁻¹	гепатит	5,00 \pm 0,62	4,25 \pm 0,32	5,42 \pm 0,35	5,41 \pm 0,30	5,79 \pm 0,25
	панкреонекроз		4,60 \pm 0,25	4,50 \pm 0,15	5,05 \pm 0,25	5,86 \pm 0,25
АЛАТ, од·л ⁻¹	гепатит	84,6 \pm 5,0	236,2 \pm 7,4*	684,6 \pm 24,8*	488,9 \pm 16,8*	544,6 \pm 15,6*
	панкреонекроз		245,2 \pm 9,9*	300,1 \pm 10,2*	257,4 \pm 12,4*	291,5 \pm 12,3*
АСАТ, од·л ⁻¹	гепатит	148,2 \pm 6,2	320,6 \pm 10,8*	526,6 \pm 12,8*	394,6 \pm 14,6	462,8 \pm 11,4*
	панкреонекроз		300,1 \pm 16,1*	342,1 \pm 10,1*	290,3 \pm 9,8*	321,1 \pm 12,6*
SH-групи, мкмоль·г ⁻¹	гепатит	0,49 \pm 0,02	0,98 \pm 0,03*	5,15 \pm 0,02*	1,15 \pm 0,02*	0,62 \pm 0,03
	панкреонекроз		0,57 \pm 0,02	1,14 \pm 0,02*	1,05 \pm 0,03*	0,66 \pm 0,04

Примітка. * – результати достовірні ($p < 0,001$) стосовно здорових тварин.

У відповідь на зростання ПОЛ відбувалась активація обох ланок АОЗ. Через 24 год після ініціації токсичного гепатиту активність КТ максимально підвищувалась у 9,0 разів ($p < 0,001$), СОД – у 26,7 раза ($p < 0,001$); при панкреонекрозі – відповідно у 4,9 раза через 36 год ($p < 0,001$) та у 49,2 раза через 24 год ($p < 0,001$). Кількість SH-груп збільшувалась до найвищих значень через 24 год на тлі обох захворювань, а потім поступово зменшувалась до величин, що достовірно не відрізнялись від контрольних через 48 год після початку досліджу.

Таким чином, отримані дані свідчать про розвиток гіпоксичних процесів у портальній системі на фоні обох видів патології, зростання ПОЛ та компенсаторної відповіді організму на ці процеси у вигляді активації АОЗ.

Відомо, що гіпоксія має провідне значення у механізмах розвитку захворювань печінки. При цьому одним із несприятливих її проявів є активація ПОЛ, яка призводить до пошкодження гепатоцитів на мембранному рівні [9, 12]. Інтенсивність ПОЛ залежить від багатьох факторів і пов'язана з активністю пато-

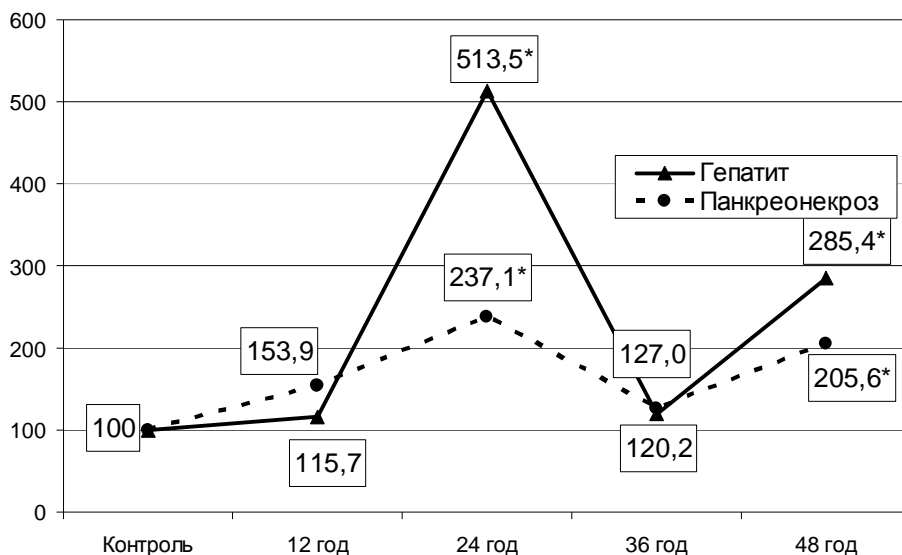


Рис. 1. Динаміка вмісту в сироватці крові ТБК-активних продуктів ПОЛ на тлі гострого гепатиту та панкреонекрозу (у відсотках до контрольної групи). * – зміни статистично достовірні ($p < 0,001$) стосовно контрольної групи.

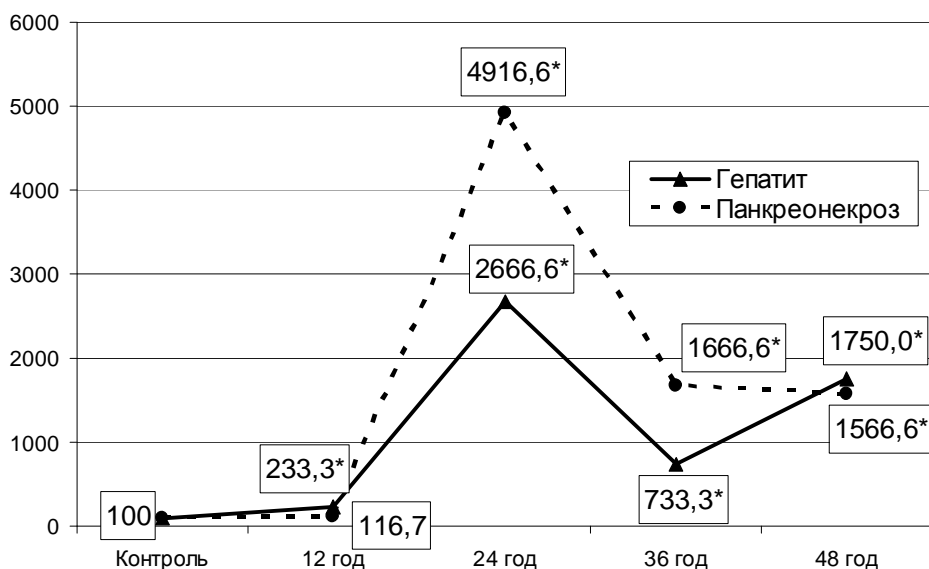


Рис. 2. Динаміка активності СОД у гомогенаті печінки на тлі гострого гепатиту та панкреонекрозу (у відсотках до контрольної групи). * – зміни статистично достовірні ($p < 0,001$) стосовно контрольної групи.

логічного процесу. Після утворення вільних радикалів у мембранах ендоплазматичного ретикулума їх надлишкова кількість ініціює аномальну активацію ПОЛ у біомембранах субклітинних структур гепатоцитів, що призводить до зміни фізико-хімічного стану ліпідного матриксу, зменшення гідрофобності ліпідного шару мембран, порушення білково-ліпідних і ліпідно-ліпідних взаємозв'язків, пригнічення активності ферментів, порушення проникності мембран для іонів, аж до загибелі гепатоцитів. Разом із тим, активація антиоксидантної системи викликає регресію процесів запалення в печінці, стабілізацію загального стану, нор-

малізацію або поліпшення функціонального стану гепатоцитів [14].

Отримані нами дані дають можливість аналізувати досі не досліджені аспекти патогенезу гепатиту та панкреонекрозу. Одержані результати показали, що найгірші значення більшості показників, які характеризували кисневий обмін (сатурація, споживання кисню), ПОЛ (ДК, МДА, ТК), АОЗ (КТ, СОД, SH-групи), функціональний стан печінки (АлАТ, АсАТ), спостерігались через 24 год після виникнення захворювання. Через 36 год більшість показників змінювалась у бік норми, а через 48 год знову погіршувалась. Звертає на себе

увагу достовірне в 1,5 та 1,9 раза (гепатит і панкреонекроз відповідно) ($p < 0,001$) зменшення сатурації крові у ворітній вені через 48 год після ініціації захворювань. На думку одного з авторитетних дослідників кисневого обміну П. Марино, цей факт може свідчити про зростання енергетичних процесів в органі, звідки відтікає кров, у даному випадку – в кишках [8]. Відомо, що при багатьох патологічних станах відбувається централізація кровообігу. За умов розвитку патології печінки можна думати про збільшення печінкового кровотоку у відповідь на зростання функціонального навантаження на цей орган. Після деякої нормалізації функцій печінки через 36 год після ініціації захворювань ми спостерігали зростання енергетичного обміну в кишках і погіршення функцій печінки. Відомо, що на фоні панкреонекрозу та печінкової недостатності при погіршенні кровопостачання кишок у них відбуваються активізація патологічної флори, збільшення кількості продуктів її життєдіяльності та зростання системної інтоксикації. Останні зменшуються на фоні активації дезінтоксикаційної функції печінки. Достовірне зниження насичення гемоглобіну киснем у крові ворітної вени означає погіршення доставки кисню до печінки, оскільки більша частина

крові до цього органа потрапляє саме по системі ворітної вени. Це потребує додаткового навантаження на печінку, що супроводжується погіршенням показників, які характеризують її функціональний стан. Подібні процеси, тільки більш виражені, відбуваються в органах при їх реперфузійному пошкодженні. На думку авторів, значне зменшення сатурації портальної крові через 36 год від початку захворювання потребує корекції, яку, ймовірно, найпростіше було б проводити за допомогою методики ентеральної оксигенації. Проте таке припущення вимагає виконання додаткових досліджень.

ВИСНОВОК. У щурів на тлі змодельованих токсичного гепатиту та панкреонекрозу через 48 год після ініціації захворювань спостерігаються повторне погіршення функціонального стану печінки, зростання активності перекисного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту.

У перспективі планується дослідження коригувального впливу ентеральної оксигенації як патогенетично обґрунтованого чинника боротьби з гіпоксичним ураженням печінки за умов гострого токсичного гепатиту та панкреонекрозу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Величенко В. Острый панкреатит в эксперименте / В. Величенко. – Мн. : Беларусь, 1971. – 112 с.
2. Веревкина И. В. Колориметрический метод определения SH-групп и S-S-связей с белками при помощи 5,5'-дитиобис(2-нитробензойной) кислоты / И. В. Веревкина, А. И. Точилкин, Н. А. Попова // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1977. – С. 223–228.
3. Гостищев В. К. Панкреонекроз и его осложнения, основные принципы хирургической тактики / В. К. Гостищев, В. А. Глушко // Хирургия. – 2003. – № 3. – С. 50–54.
4. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 210–222.
5. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников – М. : Минск, 1982. – 311 с.
6. Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова // Лаб. дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
7. Королук М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королук, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
8. Марино П. Интенсивная терапия / П. Марино; пер. с англ. – М. : Гэотар Медицина, 1999. – 634 с.
9. Скакун Н. П. Влияние антиоксидантов на перекисное окисление липидов и состояние печени / Н. П. Скакун, Э. И. Блихар // Фармакол. и токсикол. – 1986. – № 5. – С. 112–114.
10. Утверидзе Г. А. Оксигенометрия в функциональном исследовании кровообращения / Г. А. Утверидзе. – Тбилиси, 1988. – 30 с.
11. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Сеней // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
12. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей / Ш. Шерлок ; пер. с англ. – М. : Гэотар Медицина, 2005. – 864 с.
13. Marino P. The ICU Book / P. Marino / 2nd ed. – Philadelphia Lippincott. – 1997. – 928 p.
14. Superoxide anion production by the mitochondrial respiratory chain of hepatocytes of rats with experimental toxic hepatitis / A. Shiryayeva, A. Arkadyeva, L. Emelyanova [et al.] // J. Bioenerg. Biomembr. – 2009. – 41. – P. 379–385.

ПОВТОРНОЕ ОКСИДАНТНОЕ ПОРАЖЕНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ И ПАНКРЕОНЕКРОЗЕ В КРЫС

Резюме

Статья посвящена изучению оксидантного поражения печени при экспериментальном остром гепатите и панкреонекрозе в крыс. Установлено, что на фоне смоделированных патологических процессов через 48 часов после инициации заболеваний наблюдаются повторное ухудшение функционального состояния печени, возрастание активности перекисного окисления липидов и ферментативного звена антиоксидантной защиты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: экспериментальный панкреонекроз, экспериментальный гепатит, оксидантное поражение печени.

Yu.I. Sushko, R.M. Liahovych, O.V. Oliynyk, A.A. Hudyma
I.YA. HORBACHEVSKY TERNOPIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

REPEATED OXIDANT LIVER DAMAGE AT EXPERIMENTAL HEPATITIS AND PANCREONECROSIS IN RATS

Summary

This paper is devoted to the study of oxidative liver damage at experimental acute hepatitis and pancreonecrosis in rats. It was stated that on the background of the simulated pathological processes in 48 hours after initiation of the diseases, we can observe redeterioration of liver dysfunction, an increase of the activity of lipid peroxidation and antioxidant enzyme level.

KEY WORDS: experimental pancreonecrosis, experimental hepatitis, oxidative liver damage.

Отримано 21.12.10

Адреса для листування: Ю.І. Сушко, вул. Шевченка, 370, кв. 9, Львів, 79069, Україна.