

ВПЛИВ ГОСТРОГО СТРЕСУ НА ЖОВЧОУТВОРЮВАЛЬНУ ФУНКЦІЮ ПЕЧІНКИ ЗА УМОВ ЛОКАЛЬНОЇ КРІОДЕСТРУКЦІЇ ШКІРИ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

У тварин з локальною кріодеструкцією 10 % поверхні шкіри без ксенодермопластики гострий стрес істотно поглиблює порушення жовчоутворювальної функції печінки за величинами вмісту загальних жовчних кислот та ступеня кон'югації білірубіну в жовчі, мінімум яких відзначають швидше – через 7 діб, тоді як у нестресованих щурів – через 14 діб. У подальшому показники зростають і в нестресованих тварин досягають рівня контрольної групи. На тлі кріотравми із застосуванням ксенодермопластики у стресованих щурів показники досягають мінімального рівня через 7 діб посттравматичного періоду. В подальшому вони збільшуються і через 28 діб нормалізуються. У нестресованих тварин показники поступово знижуються з 1 до 21 доби. У цей термін вони досягають мінімальної величини і стають істотно меншими, ніж у стресованих щурів. До 28 доби показники не досягають рівня контролю.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гострий стрес, кріодеструкція шкіри, ліофілізований ксенодермотрансплантат, жовчоутворювальна функція печінки.

ВСТУП. Загальновідомо, що стрес – неспецифічна реакція організму на дію пошкоджувальних факторів. Суть цієї реакції визначає метаболічна перебудова, спрямована на утворення додаткової кількості енергії, необхідної для нейтралізації пошкоджувального агента і виживання організму. Разом з тим, при тривалій і потужній пошкоджувальній дії стрес-реакція може перетворюватися на фактор патогенезу [8]. За цих умов надлишково підвищується активність гіпоталамо-гіпофізарно-наднирковозалозної осі й спостерігається гіперактивність кортизолу, що супроводжується схильністю до вазоконстрикції, зниження варіативності серцевого ритму, гіперактивацією та гіперагрегацією тромбоцитів, зростанням частоти серцевих скорочень, артеріальною гіпертензією, збільшенням вмісту С-реактивного білка і прозапальних цитокінів – інтерлейкіну-1 і -6.

Однією з провідних патогенетичних ланок у реакціях організму на дію стресорного фактора є активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ). Активацію ПОЛ за умов стресу спричиняють модифікація клітинних мембран внаслідок накопичення легкоокиснюваних ліпідів, надлишкове утворення радикальних продуктів у результаті порушення мікроциркуляції та дисбалансу станів “гіпоксія-гіпероксія”, поступове виснаження біоантиоксидантів, інгібіція активності суперок-

© О. Б. Сван, 2015.

сиддисмутази радикалами та продуктами ПОЛ, автоокиснення катехоламінів і генерація ними вільних радикалів [11].

За даними багатьох досліджень, активація ПОЛ при стресі призводить до пошкодження мембран гепатоцитів і розвитку дистрофічно-некротичних порушень у тканині печінки [9, 10]. Подібні порушення виникають і на тлі локальної кріодеструкції шкіри в експерименті [5]. Комбінацію таких уражень на сьогодні вивчено недостатньо, що викликає серйозні проблеми в комплексному лікуванні тяжкої травми. Не досліджено особливості формування поліорганної дисфункції в зазначених умовах і вибір адекватних патогенетично обґрунтованих методів.

Метою даної роботи було з'ясувати вплив гострого стресу на жовчоутворювальну функцію печінки за умов кріодеструкції шкіри і застосування ксенодермопластики в експерименті.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Експерименти виконано на 60 нелінійних білих щурах-самцях масою 170–180 г. У 1-й дослідній групі проводили кріодеструкцію шкіри, у 2-й – додатково моделювали гострий холододовий стрес, у 3-й і 4-й – спричиняли аналогічні пошкодження з наступною корекцією ураженої шкіри ксенодермотрансплантатом. Контролем слугували інтактні тварини.

Дослідження проводили відповідно до санітарно-гігієнічних норм та принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [12].

Локальну кріодеструкцію шкіри (10 % від загальної площі) виконували за умов знеболювання за методикою I. Gunas та ін. (1997) [13]. Гострий холодний стрес моделювали, помістивши іммобілізованих тварин у холодильну камеру на 2 год при температурі +4 °C [4].

Через 1 добу після кріодеструкції під тіопентало-натрієвим наркозом (40 мг·кг⁻¹ маси тіла) у 3-й і 4-й дослідних групах з дотриманням правил асептики й антисептики видаляли некротизовані тканини шкіри та підшкірної клітковини. Одержаний дефект покривали ліофілізованими ксенотрансплантатами шкіри свині (ПМП "Комбустіолог", м. Тернопіль, Україна) відповідного розміру, які підшивали до країв рани, і додатково накладали стерильну пов'язку. В 1-й і 2-й дослідних групах некротомію не виконували, на рану накладали стерильну пов'язку. З 3-ї доби експерименту рани вели відкритим способом. Тварин утримували ізольовано одна від одної.

Функціональний стан печінки оцінювали за показниками жовчоутворювальної функції печінки через 3, 7, 14, 21 і 28 днів експерименту. Під тіопентало-натрієвим знеболюванням (60 мг·кг⁻¹) у тварин катетеризували загальну жовчну протоку і проводили забір жовчі протягом 1 год. В одержаній порції жовчі визначали вміст загальних жовчних кислот, холестеролу, загального і прямого білірубину [3]. На основі отриманих результатів розраховували холато-холестеролове співвідношення та відсоток кон'югованого (прямого) білірубину [7]. З експерименту тварин виводили шляхом швидкої декапітації.

Отриманий цифровий матеріал обробляли методом варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Як видно з рисунка 1, А, на тлі кріотравми через 3–21 доби вміст у жовчі загальних жовчних кислот ставав істотно нижчим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Через 14 і 21 доби показник був статистично вірогідно меншим, ніж через 3 доби (відповідно, на 18,3 та 10,8 %, $p < 0,05$). Через 28 днів він досягав рівня контролю ($p > 0,05$) і ставав статистично вірогідно більшим порівняно із 14 та 21 добами спостереження ($p < 0,05$).

На тлі гострого стресу і кріотравми ступінь зниження вмісту загальних жовчних кислот у жовчі був більшим. Протягом усього терміну спо-

стереження показник виявився істотно меншим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Через 7 днів він був істотно меншим порівняно з 3 добою спостереження і залишався таким до 14 доби ($p < 0,05$). Через 21 добу вміст жовчних кислот у цій групі зростав і виявився істотно більшим порівняно з 7 та 14 добами спостереження ($p < 0,05$), а також порівняно з групою тварин без гострого стресу – на 9,9 % ($p < 0,05$).

За умов виконання ксенодермотрансплантації (рис. 1, Б) у тварин із кріотравмою вміст у жовчі загальних жовчних кислот в усі терміни спостереження теж був істотно нижчим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Звертає на себе увагу той факт, що через 21 добу він істотно знижувався, що виявилось статистично вірогідно меншим, ніж на 3, 7 і 14 добу спостереження ($p < 0,05$). В подальшому, на 28 добу, вміст загальних жовчних кислот у жовчі підвищувався і був істотно більшим порівняно тільки з 21 добою спостереження.

У тварин із гострим стресом і кріотравмою показник через 3–21 доби був істотно меншим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$), а через 28 днів – нормалізувався. Його мінімальний рівень

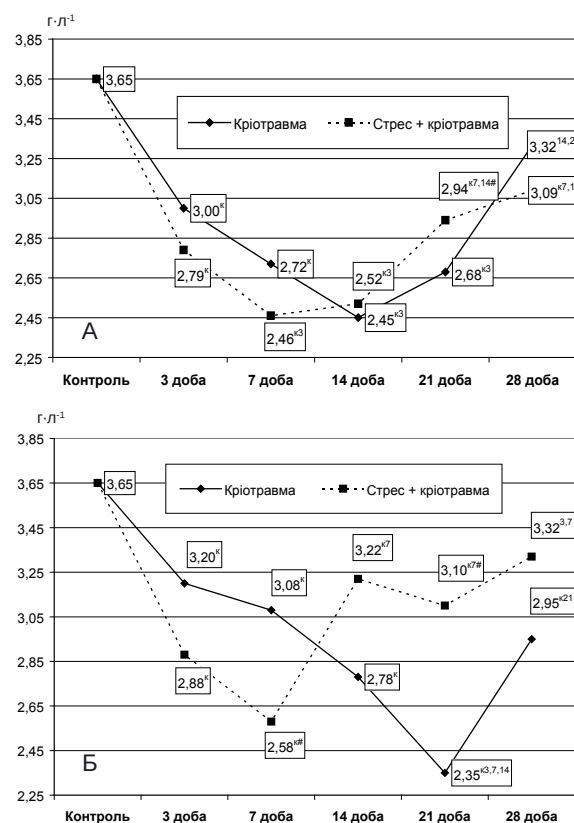


Рис. 1. Вплив гострого стресу на динаміку вмісту жовчних кислот у жовчі на тлі кріотравми (А) та застосування ліофілізованих ксенодермотрансплантатів (Б). Тут і на рисунку 2: # – відмінності між стресованими і нестресованими тваринами статистично вірогідні ($p < 0,05$); *, 3, 7, 14, 21 – відмінності стосовно 3, 7, 14 і 21 днів спостереження статистично вірогідні ($p < 0,05$); * – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні ($p < 0,05$).

відзначали на 7 добу. Хоча ця величина істотно не відрізнялася від попереднього терміну спостереження, проте виявилася статистично вірогідно меншою, ніж у тварин, яких не піддавали стресу, – на 16,3 % ($p < 0,05$). В подальшому рівень загальних жовчних кислот у групі щурів із гострим стресом та кріотравмою зростав і був на 21 добу істотно більшим, ніж у тварин без моделювання стресу, – на 31,9 % ($p < 0,05$).

Подібною була і динаміка ступеня кон'югації білірубіну (рис. 2, А). У тварин без ксенодермопластики кріотравма зумовлювала поступове зниження величини досліджуваного показника з 3 до 14 діб. У цей термін спостереження він був статистично вірогідно меншим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$), та порівняно з 3 добою (на 22,8 %, $p < 0,05$). В подальшому досліджуваний показник зростав і через 21 добу виявився істотно вищим, ніж через 14 діб (на 28,9 %, $p < 0,05$). Через 28 діб величина ступеня кон'югації білірубіну нормалізувалася і була статистично вірогідно більшою, ніж на 7 і 14 доби ($p < 0,05$).

У тварин із гострим стресом кріотравма (рис. 2, А) вже через 3 доби зумовлювала більш виражене зниження досліджуваного показника, ніж у щурів без гострого стресу. Протягом 7, 14 і 21 діб величина ступеня кон'югації білірубіну практично залишалася на однаковому рівні ($p > 0,05$), проте була істотно меншою, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Через 28 діб

досліджуваний показник зростав і досягав рівня контролю ($p > 0,05$), проте вірогідно не відрізнявся від аналогічних в інші терміни спостереження ($p > 0,05$).

На тлі застосування ксенодермопластики (рис. 2, Б) у тварин із кріотравмою ступінь кон'югації білірубіну поступово знижувався, досягаючи мінімуму через 21 добу спостереження. За цих експериментальних умов величина досліджуваного показника була статистично вірогідно меншою, ніж через 3 доби спостереження (на 27,6 %, $p < 0,05$). Протягом 7–21 доби він виявився істотно меншим, ніж у контрольній групі ($p < 0,05$). Через 28 діб ступінь кон'югації білірубіну зростав, так і не досягаючи величини контрольних тварин ($p < 0,05$), проте був істотно більшим, ніж на 21 добу спостереження ($p < 0,05$).

На тлі моделювання гострого стресу відмічали більш стрімке зниження цього показника через 3 доби посттравматичного періоду, яке, на відміну від тварин без гострого стресу, вірогідно відрізнялось від контрольної величини ($p < 0,05$). Через 7–14 діб відзначали відносну стабілізацію даного показника. Через 21 добу він зростав і, порівняно зі щурами без гострого стресу, виявився статистично вірогідно більшим – на 28,6 % ($p < 0,05$). В подальшому, через 28 діб, у стресованих тварин ступінь кон'югації білірубіну продовжував зростати, ставав статистично вірогідно більшим, ніж на 7 і 14 доби спостереження ($p < 0,05$), та досягав рівня контролю ($p > 0,05$).

Таким чином, за умов гострого стресу вміст загальних жовчних кислот і ступінь кон'югації білірубіну порушувались швидше як у тварин із самою кріотравмою шкіри, так і в щурів, яким проводили корекцію ксенодермопластиком. У нестресованих тварин без ксенопластики показники через 28 діб досягали рівня контролю. За умов ксенопластики в нестресованих щурів кріотравма зумовлювала максимальне зниження вмісту загальних жовчних кислот і ступеня кон'югації білірубіну через 21 добу посттравматичного періоду, що можна розцінити як феномен “загострення”. При цьому гострий стрес попереджував його виникнення і супроводжувався через 28 діб нормалізацією досліджуваного показника. Можна припустити, що відсутність даного феномену зумовлена специфічним впливом гострого стресу на імунну систему. Як свідчать дані літератури, гострий стрес характеризується зменшенням маси надниркових залоз, числа лімфоцитів, зростанням рівня катехоламінів і глюкокортикоїдів у крові, редукцією лімфоїдних органів [2]. Окремі автори вказують на зміну співвідношення між субпопуляціями лімфоцитів,

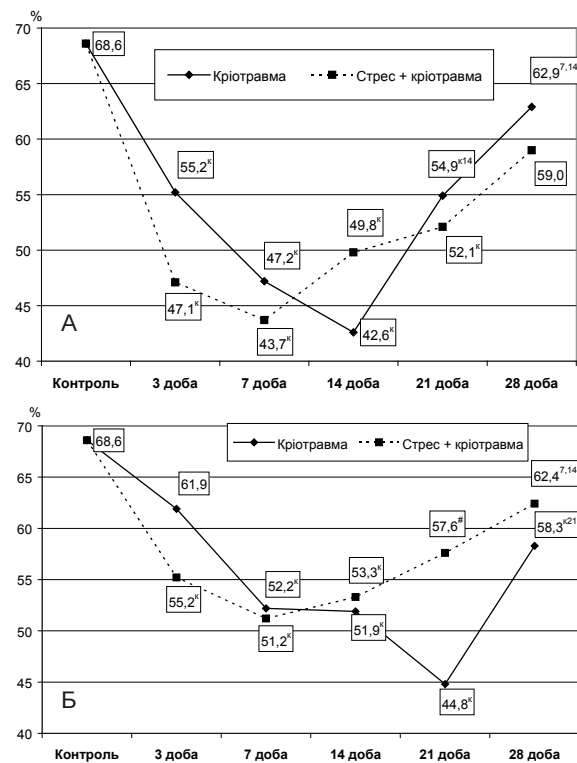


Рис. 2. Вплив гострого стресу на динаміку вмісту жовчних кислот у жовчі на тлі кріотравми (А) та застосування ліофілізованих ксенодермотрансплантатів (Б).

нерідко зі зниженням вмісту CD4+Т-лімфоцитів і підвищенням – CD8+–лімфоцитів [6]. При цьому відмічають пригнічення проліферативної активності лімфоцитів у відповідь на стимуляцію, зменшення активності натуральних кілерів, цитотоксичних лімфоцитів, продукції антитіл, зміну продукції цитокінів. Підвищується вироблення цитокінів гострої фази запалення і знижується тих, які забезпечують імунну відповідь [8]. Гострий стрес може викликати зменшення рівня імуноглобулінів і антитіл, значно порушується фагоцитарна ланка імунної відповіді – знижується фагоцитарна активність нейтрофілів [1]. Отже, феномен “загострення”, очевидно, зумовлений реакцією відторгнення ксенодермотрансплантата, що вказує на доцільність його застосування до 14 доби посттравматичного періоду, а його відсутність – імуносупресивною дією модельованого стресу. У зв'язку з цим, у постраждалих із пошкодженням шкірних покривів, яким з метою корекції накладають ксенодермотрансплантати, необхідно враховувати ступінь стресу, зумовленого травмою. Від цього залежать ефективність їх застосування і вірогідність виникнення феномену “загострення” через 21 добу посттравматичного періоду.

ВИСНОВКИ. 1. У тварин з локальною кріодеструкцією 10 % поверхні шкіри без ксенодермопластики гострий стрес істотно поглиблює порушення жовчоутворювальної функції печінки за величинами вмісту загальних жовчних кислот та ступеня кон'югації білірубину в жовчі, мінімум яких відзначають швидше – через 7 діб, тоді як у нестресованих тварин – через 14 діб. У подальшому показники зростають і в нестресованих щурів досягають рівня контрольної групи.

2. На тлі кріотравми із застосуванням ксенодермопластики у стресованих тварин показники досягають мінімального рівня через 7 діб посттравматичного періоду. В подальшому вони збільшуються і через 28 діб нормалізуються. У нестресованих щурів показники поступово знижуються з 1 до 21 доби. В цей термін вони досягають мінімальної величини і стають істотно меншими, ніж у стресованих тварин. До 28 доби показники не досягають рівня контролю.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно розширити спектр досліджень для встановлення механізмів феномену “загострення” на тлі ксенодермопластики та його попередження за умов гострого стресу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Галеев Ф. С. Взаимосвязь изменений гормонов гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы и щитовидной железы у различных по тяжести и исходу больных с тяжелой травмой / Ф. С. Галеев, Р. М. Габдулхаков // Девятый съезд Федерации анестезиологов и реаниматологов. – Иркутск, 2004. – С. 61–62.

2. Гураль К. А. Реакции адаптации и травматический шок / К. А. Гураль // Политравма. – 2007. – № 2. – С. 35–41.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.

4. Иммуномодулирующее действие препаратов витамина К и его усиление рибоксином при остром холодовом стрессе / Н. А. Быстрова, И. Л. Бровкина, Л. Г. Прокопенко, Б. С. Утешев // Эксперим. и клинич. фармакол. – 2000. – № 5. – С. 50–53.

5. Маєвський О. Є. Ультроструктурні зміни в печінці щурів в різні терміни після кріодеструкції шкіри та на фоні попереднього введення мексидола / О. Є. Маєвський // Вісн. морфології. – 2003. – 9, № 2. – С. 233–235.

6. Меерсон Ф. З. Генерализованное накопление стресс-белков при адаптации организма к стрессорным воздействиям / Ф. З. Меерсон, И. Ю. Малышев,

А. В. Замотринский // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1993. – 116, № 9. – С. 231–233.

7. Методические рекомендации по экспериментальному изучению желчегонной, холеспазмолитической, холелитиазной и гепатопротекторной активности новых лекарственных веществ / С. М. Дроговоз, С. И. Сальникова, Н. П. Скакун, В. В. Слышков. – К. : ФКМЗ Украины, 1994. – 46 с.

8. Назаров И. П. Стресспротекция в хирургии повышенного риска / И. П. Назаров, Ю. А. Дыхно, Д. В. Островский. – Красноярск, 2003. – 374 с.

9. Структура печени у крыс в динамике иммобилизационного стресса / И. С. Выборова, У. Хаджав, Л. С. Васильева, Н. Г. Макарова // Сибир. мед. журн. – 2005. – № 3. – С. 31–35.

10. Хаджав У. Стресс-индуцированная альтерация печени у крыс / У. Хаджав, И. С. Выборова, Л. С. Васильева // Паллиативная медицина и реабилитация : материалы 7 конгресса с международ. участием. – 2005. – № 2. – С. 96.

11. Яковлева Л. В. Оцінка стресспротективної активності нових фармакологічних засобів адаптогенної дії на моделі гострого іммобілізаційного стресу / Л. В. Яковлева, О. Я. Міщенко // Вісн. фармації. – 2006. – № 2. – С. 60–63.

12. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasbourg : Council of Europe, 1986. – № 123. – 52 p.

13. Gunas I. Method of thermal burn trauma correction by means of cryoinfluence / I. Gunas, I. Dov-

gan, O. Masur // Verhandlungen der Anatomischen Gesellschaft. 92. In Olsztyn vom 24. Bis 27. Mai 1997: bipartitemeeting /zusammen mit der Polish Anatomical Society with the participation of the Association des Anatomistes. – 1997. – P. 105.

О. Б. Сван

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО

ВЛИЯНИЕ ОСТРОГО СТРЕССА НА ЖЕЛЧЕОБРАЗУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ ЛОКАЛЬНОЙ КРИОДЕСТРУКЦИИ КОЖИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Резюме

У животных с локальной криодеструкцией 10 % поверхности кожи без ксенодермопластики острый стресс существенно углубляет нарушение желчеобразующей функции печени по величинам содержания общих желчных кислот и степени конъюгации билирубина в желчи, минимум которых отмечают быстрее – через 7 суток, в то время как в нестрессированных крыс – через 14 суток. В дальнейшем показатели растут и в нестрессированных животных достигают уровня контрольной группы. На фоне криотравмы с применением ксенодермопластики в стрессированных крыс показатели достигают минимального уровня через 7 суток посттравматического периода. В дальнейшем они увеличиваются и через 28 суток нормализуются. У нестрессированных животных показатели постепенно снижаются с 1 до 21 суток. В этот срок они достигают минимальной величины и становятся существенно меньше, чем в стрессированных крыс. До 28 суток показатели не достигают уровня контроля.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: острый стресс, криодеструкция кожи, лиофилизированный ксенодермотрансплантат, желчеобразующая функция печени.

O. B. Svan

I. YA. HORBACHEVSKY TERNOPIIL STATE MEDICAL UNIVERSITY

INFLUENCE OF ACUTE STRESS ON BILIGENIC FUNCTION OF THE LIVER IN THE CONDITIONS OF LOCAL SKIN CRYODESTRUCTION IN THE EXPERIMENT

Summary

In animals with local cryodestruction 10 % of the surface of the skin without xenodermoplast acute stress significantly deepens the violation of biligenic liver function values of total bile acids and the degree of conjugation of bilirubin in the bile, which is faster at least – after 7 days, whereas animals in non-stress – after 14 days. Further performance increases and non-stress animals reach the level of the control group. Amid cryotrauma using xenodermoplast in stress animals reach a minimum level of performance in 7 days post-traumatic period. Subsequently, they increased and normalized in 28 days. In non-stress animal figures are gradually declining from 1 to 21 days. At the time they reach minimum value and are significantly lower than in stress animals. Before 28 days indexes do not reach the level of control.

KEY WORDS: acute stress, skin cryodestruction, liophilized xenodermotransplant, biligenic liver function.

Отримано 14.05.15

Адреса для листування: О. Б. Сван, Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, м. Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна.