

© Черешнюк І.Л.

УДК: 616-076.5:599.323.4:591.484

Черешнюк І.Л.

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м.Вінниця, 21018, Україна)

## ЗАСТОСУВАННЯ ПРОТОЧНОЇ ЦИТОМЕТРІЇ ДЛЯ СКРИНІНГОВОЇ ОЦІНКИ ВМІСТУ ДНК В ЯДРАХ КЛІТИН НЕЙРОНАЛЬНОЇ СІТКІВКИ В ЩУРІВ

**Резюме.** У роботі представлено результати проточно-цитометричного дослідження вмісту ДНК в клітинах нейрональної сітківки інтактних щурів лінії Вістар. Вміст ДНК переважної частини ядер клітин нейрональної сітківки щурів становив  $2c$  ( $94,92 \pm 0,94\%$ ). Також в клітинах сітківки тварин виявлена присутність частки тетраплоїдних ядер (ДНК =  $4c$ ) -  $4,98 \pm 0,94\%$  і невеликого відсотку ядер з вмістом ДНК, характерним для S-фази -  $0,10 \pm 0,02\%$ , що не виключає наявності деякої синтетичної активності ДНК в ядрах клітин цієї структури ока в нормі. Фоновий показник фрагментації ДНК (відсоток об'єктів з фрагментованою ДНК) становив -  $0,43 \pm 0,11\%$ . Відсутність достовірної різниці між аналітичними показниками ДНК-гістограм клітин сітківки правих та лівих очей тварин, прийнятні коефіцієнти варіації піків G0G1 та висока точність, дозволяють застосовувати даний метод для об'єктивної скринінгової оцінки впливу фармакологічних засобів, різноманітних факторів або чинників на вміст ДНК у клітинах сітківки: фрагментацію ДНК, синтетичну активність ДНК, а також плоїдність.

**Ключові слова:** нейрональна сітківка, проточна цитометрія, вміст ДНК.

### Вступ

Як відомо метод проточної ДНК-цитометрії є загальноприйнятим в різноманітних наукових дослідженнях для визначення вмісту ДНК, кількісного її розподілу в різних популяціях клітин тканин організму тварин та людини завдяки своїм характерним перевагам: високій швидкості аналізу, високій точності, надійності та достовірності результатів, аналізу точності вимірювань, що недосяжно для абсолютної більшості цитологічних досліджень, великій роздільній здатності і чутливості методу, здатності визначати та аналізувати навіть мізерну концентрацію частинок та ін. [Шмаров, Козинец, 2004; Portier et al., 2006].

Існує досить велика кількість публікацій, в яких з успіхом використовували метод проточної ДНК-цитометрії і він є стандартом для визначення фрагментації ДНК (маркера апоптоза) та клітинного циклу клітин сітківки в монокультурі, тобто in vitro. Однак клітини в культурі набувають зовсім інших властивостей і не відображають реальної картини перебігу різноманітних процесів, притаманних клітинам, що перебувають в тканинах цілісного організму як в нормі, так і при патології.

В науковій літературі зустрічаються лише поодинокі публікації, в яких автори інформують про те, що метод проточної ДНК-цитометрії застосовували для дослідження клітин сітківки у тварин отриманого зі свіжого, або фіксованого матеріалу тканини. Так, зокрема Lane S.C. зі співавторами [1996] (USA, New Zealand) вивчали вміст ДНК в клітинах сітківки у овець, використовуючи клітинні суспензії, котрі були виготовлені із секцій парафінових блоків. Автори вказаної роботи навели дані щодо відсотку клітин сітківки з фрагментованою ДНК (субдиплоїдні ділянки ДНК-гістограм) у здорових овець та овець з нейродегенеративним захворюванням - хворобою Баттена, який становивив, відповідно, 10% та 21%. Однак навіть візуально, якість представлених у даній статті ДНК-гістограм є вкрай низькою, а фоновий

показник фрагментації ДНК у здорових тварин вочевидь значно завищений.

Для вивчення проліферації клітин сітківки метод проточної ДНК-цитометрії вперше було застосовано A.Velasco зі співавторами [2001], які досліджували клітинний цикл клітин сітківки риб родини корошових (як відомо, сітківка риб здатна до проліферації та регенерації). Що стосується застосування цього методу для дослідження вмісту ДНК у клітинах сітківки лабораторних тварин, зокрема щурів, будь-якої інформації щодо цього в доступній літературі відшукати не вдалось. Саме тому і виник інтерес до вивчення можливості застосування проточної ДНК-цитометрії для дослідження вмісту ДНК у клітинах сітківки в щурів, що дозволило б отримати додаткову інформацію про цю структуру ока як в нормальних, так і патологічних умовах, а також швидко і об'єктивно проводити скринінгову оцінку впливу фармакологічних засобів, різноманітних факторів або чинників на орган зору експериментальних тварин.

**Мета дослідження:** вивчити вміст ДНК в клітинах нейрональної сітківки методом проточної ДНК-цитометрії в інтактних щурів та оцінити якість отриманих ДНК-гістограм.

### Матеріали та методи

Експериментальне дослідження вмісту ДНК в ядрах клітин сітківки виконано на щурах-самцях лінії Вістар масою 160-180 г. на базі науково-дослідної лабораторії функціональної морфології та генетики розвитку науково-дослідного центру ВНМУ ім.М.І.Пирогова (свідоцтво МОЗ України про переатестацію №003/10 від 11 січня 2010 р.). Тварини знаходились у віварії ВНМУ ім.М.І.Пирогова на стандартному водно-харчовому раціоні при природному освітленні та вільному доступі до води та корму.

Утримання та маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ і вимог біоетики згідно до Національних "Загальних етич-

них принципів експериментів на тваринах" (2001), що відповідають положенням "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей" [Ляпунов и др., 1999; Simone, Serratos, 2005].

Після декапітації праві й ліві очі швидко підлягали енуклеації з подальшою промивкою холодним розчином 0,9% NaCl (+4°C - +8°C). Енуклеювані очні яблука шурів позбавляли залишок кон'юнктиви та м'язів і повторно промивали холодним розчином 0,9% NaCl. Під мікроскопом МБС-10 та за допомогою мікрохірургічного інструментарію видалявся передній відділ ока дещо нижче *ora serrata*, кристалик та склисте тіло. Залишок очного яблука розправлявся на листі фільтрувального паперу, розташованому в чашці Петрі таким чином, щоб до огляду було доступне усе очне дно. Парапапілярно за допомогою мікрохірургічного трепана діаметром 2 мм помічали і видаляли ділянку нейрональної сітківки, котра має здатність легко і практично повністю відшаруватися від пігментного епітелію [Wang et al., 1993]. З отриманих частинок сітківки негайно виготовлялись нуклеарні суспензії.

Вміст ДНК в ядрах клітин сітківки шурів визначався методом проточної цитометрії. Суспензії ядер з клітин сітківки отримували за допомогою спеціального розчину для дослідження ядерної ДНК CyStain DNA Step 1 (Partec, Німеччина), який дозволяє швидко маркувати ядерну ДНК діамідинофенілндолом (DAPI). У процесі виготовлення нуклеарних суспензій використовувались спеціальні одноразові фільтри CellTrics 50 мкм (Partec, Німеччина).

Якість промаркованих ядерних суспензій перевіряли за допомогою флуоресцентного мікроскопу ЛЮМАМ Р-8 (ЛОМО, СРСР) (ультрафіолетове збудження), цифрової камери TSVIEW (TUCSEN, Китай) з роздільною здатністю матриці 8 Мп. На рисунку 1 представлено цифрове фото ядерної суспензії клітин сітківки.

Проточний аналіз виконували на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі "Partec PAS" (Partec, Німеччина). Для збудження флуоресценції DAPI застосовували УФ-випромінювання. Із кожного зразка нуклеарної суспензії аналізували 20 тис. подій. Циклічний аналіз ДНК гістограм виконували засобами програмного забезпечення FloMax (Partec, Німеччина) у повній цифровій відповідності згідно математичної моделі, де визначались: G0G1 - відсоткове співвідношення клітин фази G0G1 до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК = 2с); S - відсоткове співвідношення фази синтезу ДНК до всіх клітин клітинного циклу (вміст ДНК > 2с та < 4с.); G2+M - відсоткове співвідношення фази G2 + M до всіх клітин клітинного циклу (ДНК=4с); IP - індекс проліферації, який визначається за сумою показників S + G2 + M; BP - блок проліферації, який оцінюється по співвідношенню S/(G2 + M) (збільшення числа клітин у фазі G2 + M при низьких значеннях S-фази свідчить про затримку проліферації в стадії G2 +

M).

Визначення фрагментації ДНК (апоптоз) виконано шляхом виділення SUB-G0G1 ділянки на ДНК-гістограмах RN1 перед піком G0G1, яка вказує на ядра клітин зі вмістом ДНК < 2с.

Статистична обробка отриманих результатів була проведена в пакеті "STATISTICA 6.1" із застосуванням непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним із отриманих варіаційних рядів, середні значення кожної ознаки, що вивчалася та стандартне квадратичне відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали за допомогою U-критерія Мана-Уїтні.

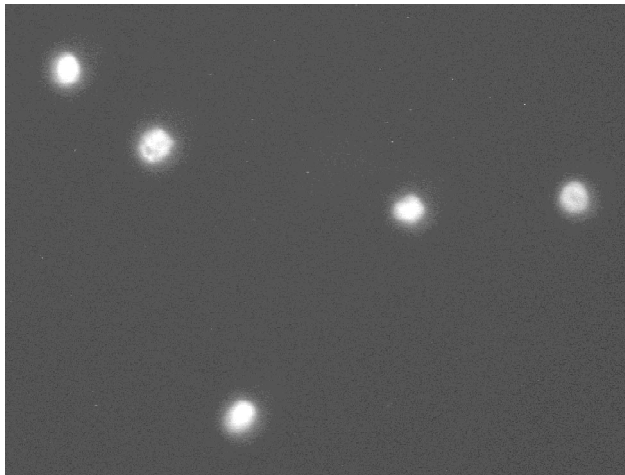
### Результати. Обговорення

За допомогою вищеприписаної методики вдалось отримати належної якості ДНК-гістограми з усіх зразків суспензій клітин сітківки шурів, про що засвідчував прийнятний коефіцієнт варіації, значення якого не перевищували 4,31% і становили в середньому  $4,10 \pm 0,16\%$ . Причому, усі середні значення аналогічних показників ДНК-гістограм (фрагментації ДНК, циклічного аналізу, спеціальних індексів та коефіцієнту варіації) зразків ядерних суспензій сітківки шурів правого (OD) та лівого ока (OS), отриманих за допомогою програмного забезпечення FloMax достовірно не відрізнялись ( $p < 0,05$ ). З одного боку це засвідчує про відсутність асиметрії між аналогічними середніми значеннями показників аналізу ДНК-гістограм ядерних суспензій клітин сітківки OD та OS, з іншого - вказувало на досить високу відтворюваність даної методики та належну точність отримуваних за допомогою неї результатів, тим більше, що кількість спостережень була невеликою (OD, n=5; OS, n=5). Оскільки за вмістом та розподілом ядерної ДНК клітини сітківки правого та лівого ока практично не відрізняються, у подальшому наведені та обговорюються середні значення показників аналізу ДНК-гістограм, отриманих при дослідженні усіх ядерних суспензій клітин сітківки обох очей (OU, n=10) тварин.

На рисунках 2 та 3 представлені приклади ДНК-гістограм ядерних суспензій клітин сітківки правого та лівого ока інтактного щура.

На ДНК-гістограмах чітко візуалізувалось два піки. Перший вищий пік (G0G1) відповідав ядрам клітин сітківки з вмістом ДНК=2с (рис. 1). Відсоток цих ядер клітин сітківки інтактних шурів становив в середньому  $94,92 \pm 0,94\%$ .

Другий, значно менший пік, відповідав об'єктам на ДНК-гістограмах зі вмістом ДНК=4с, частка яких становила в середньому  $4,98 \pm 0,94\%$ . Слід зауважити, що до другого піку могли належати і агрегати ядер (2с+2с), поліплоїдні ядра або, можливо, ядра клітин, які перебували у фазі G2+M. Як правило, між двома цими піками на ДНК-гістограмах проліферуючих клітин присутні об'єкти з вмістом ДНК > 2с і < 4с, тобто ті, що перебу-



**Рис. 1.** Приклад цифрового зображення флуоресценції ДАПІ в ядрах клітин сітківки щура у зразку готової для проточної ДНК-цитометрії суспензії. Об'єктів x40.

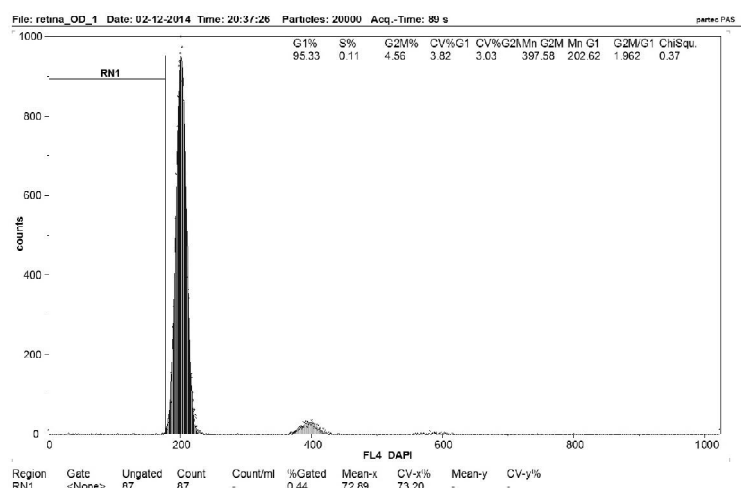
вають у так званій фазі синтезу ДНК (S-фазі). Згідно більшості наукових повідомлень у нормальній сітківці дорослих тварин та людини проліферація нервових клітин відсутня. Однак, у нашому випадку досліджувались клітини досить великого об'єму тканини сітківки, яка має складний клітинний склад у т.ч. містить клітини мікроглії. Крім того, відомо, що клітини, котрі не діляться, можуть подвоювати свої ядра (поліплоїдія) або вміст ДНК (ендополіплоїдія, ендорепродукція) і абсолютно виключати можливість проліферативних процесів як за рахунок нервових, так і інших популяцій клітин в нормальній сітківці, очевидно, неможливо. І у даному дослідженні, хоча і не очікувано, на усіх ДНК-гістограмах спостерігалась дуже невелика кількість об'єктів з вмістом ДНК > 2с і < 4с, що відповідають S-фазі, показник якої становив в середньому 0,10±0,02%.

Відомо, що фрагментація ДНК є найважливішою складовою апоптоза [Мушкамбаров, Кузнецов, 2007]. У нашому дослідженні показник фрагментації ДНК в ядрах клітин сітківки в щурів - так званий інтервал перед першим піком (син. Sub-G1, Sub-G0G1, субдиплоїдний інтервал), який вказував на об'єкти з вмістом ДНК меншим, ніж 2с, становив, у середньому, 0,43±0,11%. На відміну від цього, отриманий дослідниками Lane S.C. зі співавторами [1996] показник фрагментації ДНК клітин сітківки у овець становив близько 10%, що практично у 23 рази перевищувало наш результат. Це, очевидно, пов'язано з використанням клітинних суспензій, які автори вказаної наукової роботи отримували із секцій парафінових блоків, тобто фіксованого матеріалу. Тому навіть візуально, якість представлених в їх публікаціях ДНК-гістограм є вкрай низькою. Тим не менше, за нашими даними, це було єдине повідомлення про застосування проточної ДНК-цитометрії

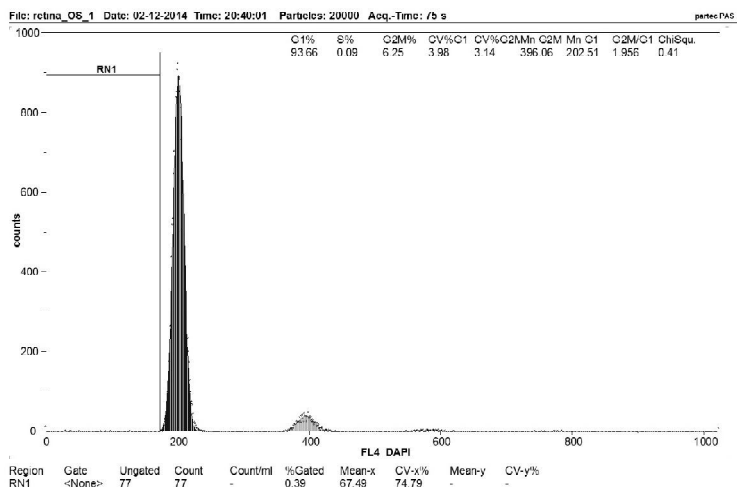
для дослідження фрагментації ДНК некультуральних клітин сітківки у тварин.

Отже, на відміну від результатів попередніх дослідників, отримані нами ДНК-гістограми клітин сітківки у щурів відрізнялись значно вищою якістю, про що засвідчував і прийнятний коефіцієнт варіації піку G0G1, і чітка візуалізація піку G2 + M (4с). Це, очевидно, пов'язано з тим, що у нашому випадку використовувався свіжий матеріал, з якого негайно і швидко виготовляли ядерні суспензії клітин сітківки, без застосування таких відносно довготривалих етапів як ферментативна дезагрегація, пермеабілізація розчином етилового спирту, застосування РНК-ази, центрифугування, ресуспендування та відмивання, які внаслідок надмірної руйнації клітин або їх ядер, вресіт-решт можуть призвести до спотворення результатів дослідження.

Для оцінки частки проліферуючих клітин за даною методикою, згідно консенсуса наукової конференції ще у 1992 р., рекомендовано використання показника саме S-фази, оскільки він має найнижчу варіабільність, ніж показник G2+M [Shankey et al., 1993]. Тим не менше, такі показники як індекс проліферації, блок проліферації та індекс ДНК також знайшли широке використання в аналізі ДНК-гістограм і застосовуються в наукових дослідженнях особливо для порівняння аналогічних показників різних експериментальних груп, наприклад в окулематології для оцінки проліферації клітин кісткового мозку, онкології для дослідження біопсійного матеріалу на активність онкопроцесу та інших експериментах на культурах клітин [Шмаров, Козинец, 2004]. Так, середнє значення індексу проліферації клітин сітківки в щурів становило 5,08±0,94%, а блоку проліферації 0,02±0,01. Звичайно, отримані середні значення цих індексів у нашому випадку велими умовні і не можуть відображати реальну проліферативну активність у сітківці, оскільки переважний



**Рис. 2.** Приклад обробленої засобами програмного забезпечення FioMax ДНК-гістограми ядерної суспензії клітин сітківки правого ока щура. RN1 - фрагментація ДНК (Sub-G1, апоптоз) = 0,44%. Синтез ДНК (S%) = 0,11%. G2 + M (4с) = 4,56%. CV = 3,82%.



**Рис. 3.** Приклад обробленої засобами програмного забезпечення FloMax ДНК-гістограми ядерної суспензії клітин сітківки лівого ока щура. RN1 - фрагментація ДНК (Sub-G1, апоптоз) = 0,39%. Синтез ДНК (S%) = 0,09%. G2 + M (4c) = 6,25%. CV = 3,98%.

відсоток ядер, що входить до G2+M це, очевидно, ендодіплоїдні ядра. Тим не менше, в даній роботі представлені нормальні значення і цих показників, які, можливо, можуть набувати інформативності при дослідженні тих чи інших процесів у сітківці лабораторних тварин, особливо за умов моделювання різноманітної патології.

Отже, результати проведеного дослідження методом проточної ДНК-цитометрії можуть свідчити як про деяку активність синтезу ДНК, так і про наявність певної кількості клітин з фрагментованою ДНК в нормальній тканині сітківки щура. В інших наукових дослідженнях, де вивчали подібні явища іншими методами, зокрема імуногістохімічними, апоптоза та синтетичної активності ДНК в нормі не виявлялось. Це, можливо, пов'язано з тим, що на відміну від інших методів, за допомогою проточної ДНК-цитометрії з одного зразка і за одне дослідження швидко можна проаналізувати на порядки більшу кількість клітин або ядер. Наприклад, для того щоб дослідити об'єм лише однієї сітківки подібній тому, що використовувався для отримання однієї ДНК-гістограми, за допомогою імуногістохімічних мет

торів або чинників на орган зору в експерименті.

### Список літератури

- Надлежащая производственная практика лекарственных средств /ред. Н. А. Ляпунов.- К.: МОРИОН, 1999.- С.508-545.
- Мушамбаров Н.Н. Молекулярная биология: Учебное пособие для студентов медицинских вузов /Н.Н.Мушамбаров, С.Л.Кузнецов.- М.: Медицинское информативное, 2007.- 536с.
- Шмаров Д.А. Лабораторно-клиническое значение проточно-цитометрического анализа крови /Д.А.Шмаров,

- Г.И.Козинец.- М.: Медицинское информативное, 2004.- 128с.
- Apoptosis as the mechanism of neurodegeneration in Batten's disease /S.C.Lane, R.D.Jolly, D.E.Schmechel [et al.] //J. Neurochem.- 1996.- Vol.67(2).- P.677-683.
- Portier B.P. Rapid assay for quantitative measurement of apoptosis in cultured cells and brain tissue /B.P.Portier, D.C.Ferrari, G.Tagliatela //J. Neurosc. Methods.- 2006.- Vol.15, 155(1).- P.134-142.
- Simone F. Biotechnology, animal health and animal welfare within the framework

- of European Union legislation /F.Simone, J.Serratosa //Rev. Sci. Tech. Oie.- 2005.- Vol.24, №1.- P.89-99.
- Guidelines for implementation of clinical DNA cytometry /T.V.Shankey, P.S.Rabinovitch, B.Bagwell [et al.] //International Society for Analytical Cytology and Cytometry.- 1993.- Vol.14.- P.472-477.
- Temperature induces variations in the retinal cell proliferation rate in a cyprinid /A.Velasco, E.Gid, J.Ciudad [et al.] //Brain Res.- 2001.- Vol.913.- P.190-194.
- A method for the isolation of retinal pigment epithelial cells from adult rats /N.Wang, C.A.Koutz, R.E.Anderson //Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.- 1993.- Vol.34(1).- P.101-107.

тодів необхідно було б виготовити і переглянути сотні секцій блоків товщиною 5 мкм кожний.

Також слід відмітити, що отримані за описаною методикою показники проточної ДНК-цитометрії хоча і не можуть відображати реальну (абсолютну) кількість ядер клітин з тим, чи іншим вмістом ДНК, особливо з фрагментованою ДНК, однак з успіхом можуть бути використані для порівняння і виявлення певних змін, зокрема - визначення рівня апоптотичного пошкодження, поліплоїдизації та посилення проліферативної активності, активності синтезу ДНК, ендорепродукції про що буде повідомлено в наступних публікаціях, зокрема при змодельованій ішемії-реперфузії сітківки у щурів.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Отримані за допомогою даної методики проточної ДНК-цитометрії дані аналізу ДНК-гістограм нормальних клітин нейрональної сітківки щурів свідчать про існування низької ДНК-синтетичної активності в цій структурі -  $0,10 \pm 0,02\%$  (S-фаза), наявність певного відсотку об'єктів з фрагментованою ДНК -  $0,43 \pm 0,11\%$  та ядер клітин з вмістом ДНК 4с -  $4,98 \pm 0,94\%$ .

2. Дозований спосіб забору матеріала та його необхідна невелика кількість дозволяє використовувати решту сітківки для інших, наприклад біохімічних досліджень, що дозволяє значно, практично в декілька разів, зменшити кількість експериментальних тварин, хоча, очевидно, можливим є оцінка вмісту ДНК у клітинах як різних зон сітківки, так і практично у клітинах усєї цієї структури.

Методика проточної ДНК-цитометрії клітин тканини сітківки у щурів, прийнятні коефіцієнти варіації піків G0G1 та відсутність достовірної різниці між аналітичними показниками ДНК-гістограм клітин сітківки правих та лівих очей тварин є об'єктивною і досить точною та може застосовуватись для скринінгової оцінки впливу фармакологічних засобів, різноманітних фак-

*Черешнюк И.Л.*

#### **ПРИМЕНЕНИЕ ПРОТОЧНОЙ ЦИТОМЕТРИИ ДЛЯ СКРИНИНГОВОЙ ОЦЕНКИ СОДЕРЖАНИЯ ДНК В ЯДРАХ КЛЕТОК НЕЙРОНАЛЬНОЙ СЕТЧАТКИ У КРЫС**

**Резюме.** В работе представлены результаты проточно-цитометрического исследования содержания ДНК в клетках нейрональной сетчатки интактных крыс линии Вистар. Содержание ДНК большей части ядер клеток нейрональной сетчатки сетчатки крыс составлял 2с ( $94,92 \pm 0,94\%$ ). Также в клетках сетчатки животных обнаружено присутствие доли тетраплоидных ядер (ДНК = 4с) -  $4,98 \pm 0,94\%$  и небольшого процента ядер с содержанием ДНК характерным для S-фазы -  $0,10 \pm 0,02\%$ , что не исключает наличие некоторой синтетической активности ДНК в ядрах клеток этой структуры глаза в норме. Фоновый показатель фрагментации ДНК (процент объектов с фрагментированной ДНК) составил -  $0,43 \pm 0,11\%$ . Отсутствие достоверной разницы между аналитическими показателями ДНК-гистограмм клеток сетчатки правых и левых глаз животных, приемлемые коэффициенты вариации пиков G0G1 и высокая точность, позволяют применять данный метод для объективной скрининговой оценки влияния фармакологических средств, различных факторов на содержание ДНК в клетках сетчатки: фрагментацию ДНК, синтетическую активность ДНК, а также плоидность.

**Ключевые слова:** нейрональная сетчатка, проточная цитометрия, содержание ДНК.

*Chereshnyuk I. L.*

#### **USE FLOW CYTOMETRY FOR SCREENING CONTENT RATINGS DNA IN THE NUCLEI OF CELLS IN THE NEURONAL RETINA IN RATS**

**Summary.** The paper presents the results of flow-cytometric study of DNA content in cells of neuronal retina intact Wistar rats. DNA content of the majority of retinal neuronal nuclei of rat retina was 2c ( $94,92 \pm 0,94\%$ ). Also in the cells of the retina animals revealed the presence of particles tetraploid nuclei (DNA = 4c) -  $4,98 \pm 0,94\%$  and the small percentage of nuclei containing DNA characteristic of S-phase -  $0,10 \pm 0,02\%$ , that does not exclude the presence of Some synthetic activity of the DNA in the nuclei of the structure of the eye is normal. Background DNA fragmentation index (the percentage of fragmented DNA sites) was -  $0,43 \pm 0,11\%$ . The absence of significant differences between the analytical performance of DNA histograms of cells in the retina of right and left eyes of animals, acceptable coefficients of variation peaks G0G1 and high accuracy in the application of this method to objectively assess the impact of screening drugs, various factors or factors on DNA content in cells of the retina: DNA fragmentation, DNA synthetic activity and ploidy.

**Key words:** neuronal retina, flow cytometry, DNA content.

Стаття надійшла до редакції 12.11.2014

Черешнюк Ігор Леонідович - к. мед. н., ст. наук. сп. науково-дослідного центру ВНМУ ім. М.І.Пирогова; vin19@yandex.ru

---

© Саволюк С.І.

УДК: 617-089:616-08:163:616.36-008.5

*Саволюк С.І.*

Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова, кафедра хірургії № 2 (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, 21018, Україна)

#### **ОПТИМІЗАЦІЯ МЕТОДІВ РЕЄСТРАЦІЇ ВИХІДНИХ ТА ПОСТДЕКОМПРЕСІЙНИХ ЗМІН ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ПЕЧІНКИ ПРИ НЕПУХЛИННІЙ ОБТУРАЦІЙНІЙ ЖОВТЯНИЦІ**

**Резюме.** В статті проаналізовані результати лабораторного моніторингу періопераційної курації 510 хворих з непухлинною обтураційною жовтяницею. Первинна база накопичених даних становила 62 метаболічних показники та 10 розрахункових традиційних індексів. При статистичній обробці отриманих даних виділено метаболічні предиктори ускладнень, які стали основою для розробки нових 22 методів та способів прямої та опосередкованої оцінки вихідних та постдекомпресійних змін функціональної активності печінки, котрі можуть бути використані для діагностики та моніторингу печінкової дисфункції не тільки в гепатобілярній хірургії, але й в умовах планової та ургентної абдомінальної хірургії.

**Ключові слова:** функціональна активність печінки, вихідні та постдекомпресійні зміни, непухлинна обтураційна жовтяниця, методи діагностики та моніторингу.

---

#### **Вступ**

Сучасний етап розробки та прогрес хірургічних технологій в гепатобілярній хірургії вимагають чіткості підходів щодо діагностики, реєстрації та динамічного моніторингу за функціональною активністю печінки на протязі періопераційного терміну спостереження за хворим [Русин, 2009]. Ці підходи відносяться не тільки для умов резекційних та трансплантаційних програм хірургічного лікування вогнищевої та органічної пато-

логії печінки [Вишне夫斯基, 2013], але й до окремих питань планової та ургентної абдомінальної хірургії - непухлинна обтураційна жовтяниця (НПОЖ) [Шевчук, 2006; Гальперин, 2011], гострий панкреатит [Філіп, 2008], гострий холецистит [Дробков, 2014], розповсюджені форми гострого перитоніту [Бондарев, 2009; Чурпій, 2009], коли прояви печінкової недостатності (ГПН) відіграють вирішальну роль в досягненні задов-