

ДИНАМІКА ЗМІН ПОКАЗНИКІВ КИСНЕВОГО ОБМІНУ, ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ НА ТЛІ ПОВТОРНОГО ОКСИДАНТНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕПАТИТІ У ЩУРІВ

ДИНАМІКА ЗМІН ПОКАЗНИКІВ КИСНЕВОГО ОБМІНУ, ПЕРОКСИДНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ТА АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ ЗАХИСТУ НА ТЛІ ПОВТОРНОГО ОКСИДАНТНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМУ ГЕПАТИТІ У ЩУРІВ – Встановлено, що в умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту (0,2 мл на 100 г маси) найбільші відхилення більшості показників, що характеризують кисневий обмін (сатурація і споживання кисню), пероксидне окиснення, антиоксидантний захист та функціональний стан печінки настають через 24 год після моделювання патології. Через 36 год більшість показників змінюється в бік норми, а через 48 год знову погіршуються з найбільшим (в 1,5 раза) зменшенням сатурації киснем крові воротної вени ($p < 0,001$). У перспективі планується дослідження коригувального впливу ентеральної оксигенації як патогенетично обґрунтованого чинника боротьби з гіпоксичним ураженням печінки за умов гострого токсичного гепатиту.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КИСЛОРОДНОГО ОБМЕНА, ПЕРОКСИДНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ЗАЩИТЫ НА ФОНЕ ПОВТОРНОГО ОКСИДАНТНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГЕПАТИТЕ У КРЫС – Установлено, что в условиях острого тетрахлорметанового гепатита (0,2 мл на 100 г массы) наибольшие отклонения большинства показателей, характеризующих кислородный обмен (сатурация и потребление кислорода), пероксидное окисление, антиоксидантная защита и функциональное состояние печени наступают через 24 ч после моделирования патологии. Через 36 ч большинство показателей изменяется в сторону нормы, а через 48 ч снова ухудшаются с наибольшим (в 1,5 раза) уменьшением сатурации кислородом крови воротной вены ($p < 0,001$). В перспективе планируется исследование корректирующего воздействия энтеральной оксигенации как патогенетически обоснованного фактора борьбы с гипоксическим поражением печени в условиях острого токсического гепатита.

DYNAMICS OF OXYGEN EXCHANGE, LIPID PEROXIDATION, AND ANTIOXIDATIVE SYSTEM OF DEFENSE ON THE BACKGROUND OF SECOND OXIDATIVE LIVER INJURY AT EXPERIMENTAL HEPATITIS OF RATS – It was found out that under the conditions of an acute carbon tetrachloride hepatitis (0.2 ml per 0.1 kg of bodyweight) the largest deviations of most indicators that characterize oxygen exchange (saturation and oxygen consumption), peroxidation, antioxidative defense and the functional state of the liver appear in 24 hours after the pathology modeling. In 36 hours the most indicators come to norm, but in 48 hours they get worse with the decrease of oxygen saturation of blood in portal vein. In the future research it is planned to investigate modificative influence of enteral oxygenation as a pathogenetically grounded factor fighting the hypoxic liver damage under an acute toxic hepatitis.

Ключові слова: експериментальний гепатит, оксидантне ураження печінки, кисневий обмін, пероксидне окиснення, антиоксидантний захист.

Ключевые слова: экспериментальный гепатит, оксидантное поражение печени, кислородный обмен, пероксидное окисление, антиоксидантная защита.

Key words: experimental hepatitis, oxidative liver injury, oxygen exchange, peroxidation, antioxidant defense.

ВСТУП Проблема гепатитів є актуальною в сучасній гастроентерології [1]. Незважаючи на достатню глибину класичних досліджень механізмів розвитку токсичних гепатитів [2, 3], в патогенезі цієї патології залишається багато не вивчених аспектів, зокрема щодо зв'язків між кисневим обміном, активністю пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), антиоксидантної системи захисту (АОСЗ) і функціональним станом печінки на різних етапах захворювання та його лікування. Деякі механізми токсичних уражень печінки потребують повторного аналізу. Це питання оксидантного стресу, апоптозу, регенерації та некрозу гепатоцитів [8, 9]. З'явилися роботи, в яких встановлено, що при дефіциті вільних радикалів у клітині, процеси фагоцитозу в ній не завершуються, тобто активізація ПОЛ в клітині може відігравати і позитивну роль [4, 10].

Розвиток токсичного гепатиту супроводжується активацією як дегенерації, так і регенерації печінки, й співвідношення цих процесів виявляє вирішальне значення на результат 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 локального та загального кисневого балансу при токсичних гепатитах досліджено недостатньо, отримані результати мають суперечливий характер [5, 6]. Не з'ясованими залишаються аспекти хронофізіології та хронофармакології токсичних гепатитів [7].

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

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ У 54 білих щурів-самців масою 160–180 г викликали експериментальний токсичний гепатит за допомогою внутрішньошлункового одноразового введення 50 % олійного розчину CCl_4 (0,5 мл/кг маси). Контрольну групу склали 10 інтактних тварин. Після ініціації захворювання щури вільно рухались, їм давали пити та їсти, поділивши на чотири групи. Щурів з першої групи усипляли за допомогою кетамінового наркозу через 12 год після ініціації патології, другої – через 24 год, третьої – через 36 год, четвертої – через 48 год від початку моделювання патологічного процесу. Відразу після введення в наркоз, оксиметром “Unistat” визначали сатурацію крові в стегновій та портальній венах [12]. За допомогою метаболічного візка досліджували споживання кисню тваринами [13]. Після цього щурам вводили надмірну дозу тіопенталу, що спричиняла смерть. В гомогенатах печінки досліджували концентрацію малонового діальдегіду (МДА) [14], дієнових кон'югатів [15], трієнових кон'югатів [15], активність супероксиддисмутази (СОД) [16], каталази (КТ) [17]. В крові визначали активність аспартат- та аланінамінотрансфераз (АлАТ та АсАТ) [15]. Статистичну обробку результатів виконували за допомогою пакета програм “STATISTIKA” [18]. Експеримент відповідав

вимогам Закону України № 3447-І від 21.02.06 р. “Про захист тварин від жорстокого поводження” [19].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Ми не спостерігали загибелі тварин після моделювання гепатиту. Проте відзначалось значне зниження активності тварин на тлі цього патологічного стану, яке спостерігали через 12–20 год після ініціювання патології. Колір шкірних покривів, слизових оболонок, маса тіла та внутрішніх органів, порівняно зі здоровими тваринами, не змінювались.

У таблиці відображено динаміку змін показників функціонального стану печінки, ПОЛ та АОЗ у щурів через 12, 24, 36 та 48 год після моделювання токсичного гепатиту, на тлі якого максимальне погіршення більшості досліджуваних показників спостерігали через 12–24 год від ініціації патології. Такі результати підтверджують дані М. П. Скакуна, 1988 [20] та М. Ф. Мосенцева, 2000 [11].

При порівнянні показників насичення гемоглобіну киснем у всіх тварин видно, що вони в портальній вені нижчі, ніж у стегновій. Це можна пояснити пришвидшенням метаболізму в органах шлунково-кишкового тракту на тлі патології травної системи, порівняно з таким у м'язах стегна, які під час експерименту знаходились у 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 тлі даної патологічної моделі відбувалось достовірне зростання ПОЛ. Максимальні значення ТБК – активних продуктів ПОЛ спостерігали через 24 год після ініціації гепатиту, при якому зростання цього показника становило 513,5 ($p < 0,001$), максимальний рівень ДК на тлі гепатиту зростав у 2,92 раза ($p < 0,001$).

У відповідь до зростання ПОЛ відбувалась активація обох ланок АОЗ. Через 24 год після ініціювання токсичного гепатиту активність КТ максимальна підвищувалась у 9,0 разів ($p < 0,001$), СОД – в 26,7 раза ($p < 0,001$). Кількість SH-груп збільшувалась до найвищих значень через 24 год, а потім поступово зменшувалась до величин, що достовірно не відрізнялись від контрольних через 48 год після початку досліджу.

Таким чином, отримані дані є свідченням розвитку гіпоксичних процесів у портальній системі на тлі змодельованого патологічного процесу, зростання ПОЛ та компенсаторної відповіді організму на цей процес у вигляді активації АОЗ.

На думку А. Ф. Блюгера 1978 [2], гіпоксія має провідне значення у механізмах розвитку захворювань печінки. При цьому одним з несприятливих її проявів є активація ПОЛ, що призводить до пошкодження гепатоцитів на мембранному рівні [1–4]. Інтенсивність ПОЛ залежить від багатьох факторів і корелює з активністю патологічного 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 мат-

Таблиця 1. Показники функціонального стану печінки, пероксидного окиснення ліпідів та антиоксидантної системи захисту щурів із токсичним гепатитом

Показник	Патологія	Здорові тварини	Час від початку моделювання захворювання			
			12 год	24 год	36 год	48 год
Sv, стегнова вена, %	гепатит	55,0±3,5	74,5±2,5	64,3±4,2	62,3±3,5	63,7±3,8
Sv, воротна вена, %	гепатит	49,3±3,8	47,3 ±3,5	41,3±3,6	42,2±3,5	33,0±2,0*
Споживання кисню, мл/кг/хв	гепатит	5,00±0,62	4,25±0,32	5,42±0,35	5,41±0,30	5,79±0,25
АЛТ, од./л	гепатит	84,06±4,97	236,2±7,4*	684,6±24,8*	488,9±16,8*	544,6±15,6*
АСТ, од./л	гепатит	148,2±6,2	320,6±10,8*	526,6±12,8*	394,6±14,6	462,8±11,4*
SH групи	гепатит	0,49±0,02	0,98±0,03	5,15±0,02	1,15 ±0,02	0,62±0,03

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

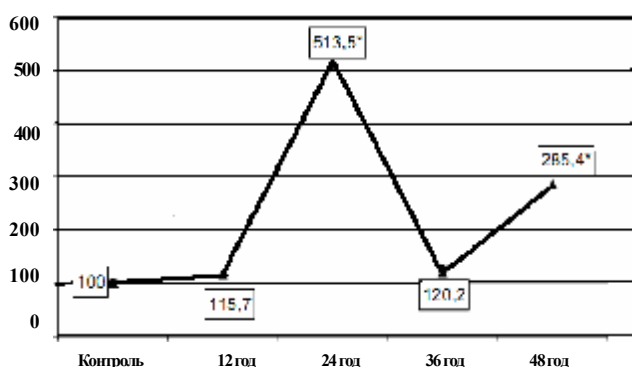


Рис. 1. Динаміка вмісту в сироватці крові ТБК-активних продуктів ПОЛ на тлі гострого гепатиту (у відсотках до контрольної групи).

Примітка. * – зміни статистично достовірні ($p < 0,001$) стосовно контрольної групи.

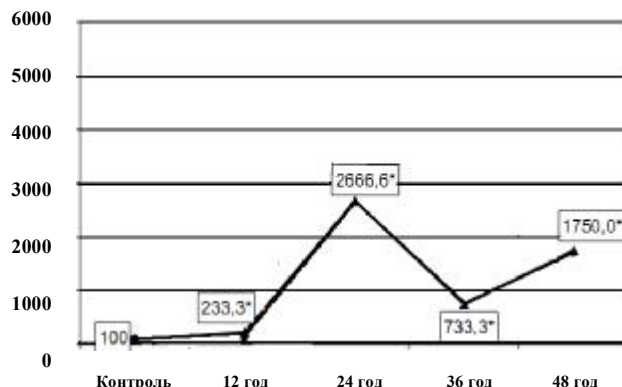


Рис. 2. Динаміка активності СОД у гомогенаті печінки на тлі гострого гепатиту (у відсотках до контрольної групи).

Примітка. * – зміни статистично достовірні ($p < 0,001$) стосовно контрольної групи.

риксу, 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 [1–4]. Водночас активація антиоксидантної системи викликає регресію процесів запалення в печінці, стабілізацію загального стану, нормалізацію або поліпшення функціонального стану гепатоцитів [4].

Отримані нами дані дають можливість аналізувати досі не досліджені аспекти патогенезу гепатиту. Як видно з даних таблиці 1, найгірші значення більшості показників, які характеризували кисневий обмін (сатурація, споживання кисню), активність ПОЛ (ДК, МДА, ТК), активність АОСЗ (каталаза, СОД, SH-групи), функціональний стан печінки (АЛТ, АСТ) спостерігались через 24 год після виникнення захворювання. Через 36 год більшість показників змінювалась в бік норми, а через 48 год знову погіршувалась. Звертає на себе увагу достовірне в 1,5 раза ($p < 0,001$) зменшення сатурації крові у воротній вені через 48 год після ініціації захворювання. 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 кишечнику [12]. Відомо, що при багатьох патологічних станах відбувається централізація кровообігу. В умовах 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 кишечнику і погіршення функцій печінки. Відомо, що на тлі печінкової недостатності при погіршенні кровопостачання кишків, у них відбуваються активізація патологічної флори, збільшення кількості продуктів її життєдіяльності та зростання загальних інтоксикаційних процесів організму. Останні зменшуються на тлі активації дезінтоксикаційної функції печінки. Достовірне зниження насичення гемоглобіну киснем в крові воротної вени означає погіршення доставки кисню до печінки, оскільки більша частина крові до цього органа поступає саме по системі воротної 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 всього було б проводити за допомогою методики ентеральної оксигенації. Проте таке припущення вимагає необхідності проведення додаткових досліджень.

ВИСНОВКИ 1. В умовах гострого тетрахлорметанового гепатиту (0,2 мл на 100 г маси) найбільші відхилення більшості показників, що характеризують кисневий обмін (сатурація і споживання кисню), пероксидне окиснення, антиоксидантний захист та функціональний стан печінки настають через 24 год після моделювання патології.

2. Через 36 год більшість показників змінюється в бік норми, а через 48 год знову погіршується з най-

більшим (в 1,5 раза) зменшенням сатурації киснем крові воротної вени ($p < 0,001$).

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей ; пер. с англ. / Ш. Шерлок. – М. : Гэотар Медицина, 2005.– 864 с.
2. Блюгер А. Ф. Вирусный гепатит / А. Ф. Блюгер. – М. : Мед. – 1978. – 360 с.
3. 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.
4. 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. – Vol. 41. – P. 379–385.
5. Davies A. The oxygen paradox / A. Davies, F. Ursini. – CLEUP University Press. – 1995. – 287 p.
6. Marino P. The ICU Book.– 2nd ed.– Philadelphia Lippincott.– 1997.– 928 p.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: метод. реком. / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – С. 210–222.
8. Андрейчин М. А. Інфекційна захворюваність в Україні: ілюзії та реалії / М.А. Андрейчин // Інфекційні хвороби. – 2008. – № 3. – С. 77–84.
9. Keefe E. В. Гепатит: тактика при неадекватності лечения / E. В. Keefe // Clin. Gastroenterol. Hepatol. Русское издание. – 2008. – Т.1, № 5. – С. 329–332.
10. Хронические вирусные гепатиты в Российской Федерации / И. В. Шахгильдян, П. А. Хухлович, В. В. Романенко [и др.] // Гепатология. – 2008. – № 1. – С. 58–65.
11. Мосенцев М. Ф. Порівняльна оцінка методів інтенсивної терапії гепатоспланхнічної ішемії та її наслідків у хворих на сепсис і поліорганну недостатність 2000 года : автореф. дис. на соискание наук. степени канд. мед. наук : 14.01.30/ М. Ф. Мосенцев. – Дніпропетр. держ. мед. акад. — Д., 2000.– 41 с.
12. Марино П. Интенсивная терапия : пер. с англ. / П. Марино. – М. : Гэотар Медицина, 1999. – 634 с.
13. Утвердзедзе Г. А. Оксигенометрия в функциональном исследовании кровообращения / Г. А. Утвердзедзе. – Тбилисси, 1988. – 30 с.
14. Колесова О. Е. Перекисное окисление липидов и методы определения продуктов липопероксидации в биологических средах / О. Е. Колесова // Лабораторное дело. – 1984. – № 9. – С. 540–546.
15. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – М. : Минск, 1982. – 311 с.
16. 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.
17. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16–18.
18. Гойго О. В. Практичне використання пакета STATISTIKA для аналізу медико-біологічних даних / О. В. Гойго. – К., 2004. – 76 с.
19. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко [та ін.]. – К. : Авіцена, 2002. – 156 с.
20. Скакун Н. П. Применение астрагала шерстистоцветкового при поражении печени / Н. П. Скакун, Э. И. Блихар, А. Н. Олейник // Врачеб. дело. – 1988. – № 6. – С. 51–54.

Отримано 15.02.13