

**ВПЛИВ ДЕКОМПРЕСІЇ ЖОВЧОВИВІДНИХ ШЛЯХІВ НА ДИНАМІКУ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ, АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ І ЦИТОЛІЗУ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТРИДОБОВОГО ХОЛЕСТАЗУ**

ВПЛИВ ДЕКОМПРЕСІЇ ЖОВЧОВИВІДНИХ ШЛЯХІВ НА ДИНАМІКУ ПРОЦЕСІВ ЛІПОПЕРОКСИДАЦІЇ, АНТИОКСИДАНТНОГО ЗАХИСТУ І ЦИТОЛІЗУ ПІСЛЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТРИДОБОВОГО ХОЛЕСТАЗУ – Позапечінковий холестаза належить до актуальних проблем сучасної абдомінальної хірургії. Найменш дослідженими продовжують залишатися особливості відновлення морфофункціонального стану печінки після декомпресії загальної жовчної протоки. В експериментах на нелінійних білих щурах моделювали обтураційний холестаза шляхом перев'язки загальної жовчної протоки. Через 3 доби пасаж жовчі відновлювали й оцінювали інтенсивність процесів ліпідної пероксидації, антиоксидантного захисту та цитолізу через 1, 3, 5 і 7 дб. Встановлено, що через добу після реканалізації загальної жовчної протоки відмічається погіршення метаболічних процесів у печінці, яке завдяки стимуляції механізмів саногенезу, через 7 дб приводить до їх відновлення, зокрема нормалізації інтенсивності процесів ліпідної пероксидації, зниження явищ цитолізу. Провідним компенсаторним механізмом є збільшення активності антиоксидантних ферментів супероксиддисмутази і каталази та основного антиоксиданта крові – церулоплазміну, які продовжують бути підвищеними через 7 дб експерименту.

ВЛИЯНИЕ ДЕКОМПРЕССИИ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ НА ДИНАМИКУ ПРОЦЕССОВ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ, АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ И ЦИТОЛИЗА ПОСЛЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ТРЕХСУТОЧНОГО ХОЛЕСТАЗА – Внепечёночный холестаза принадлежит к актуальным проблемам современной абдомінальной хирургии. Наименее исследованными продолжают оставаться особенности восстановления морфофункционального состояния печени после декомпрессии общего желчного протока. В экспериментах на нелинейных белых крысах моделировали обтурационный холестаза путем перевязки общего желчного протока. Через 3 дня пасажа желчи восстанавливали и оценивали интенсивность процессов липидной пероксидации, антиоксидантной защиты и цитолиза через 1, 3, 5 и 7 суток. Установлено, что через сутки после реканализации общего желчного протока отмечается ухудшение метаболических процессов в печени, которое благодаря стимуляции механизмов саногенеза, через 7 суток приводит к их восстановлению, в частности нормализации интенсивности процессов липидной пероксидации, снижения явлений цитолиза. Ведущим компенсаторным механизмом является увеличение активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутази и каталазы и основного антиоксиданта крови – церулоплазмину, которые продолжают быть повышенными через 7 суток эксперимента.

DECOMPRESSION INFLUENCE OF BILIARY TRACTS ON THE DYNAMICS OF LIPOPEROXIDATION PROCESSES, ANTIOXIDANT PROTECTION AND CYTOLYSIS AFTER THE EXPERIMENTAL THREE DAY CHOLESTASIS – Extrahepatic cholestasis is one of the urgent problem of modern abdominal surgery. The peculiarities of recovering of morpho-functional liver state after the decompression of bile duct remain less studied. In experiments on non-linear white rats we modeled an obturation cholestasis by the way of bile duct bandaging. In three days the passage of bile recovered and estimated the intensity of lipid peroxidation processes, antioxidant protection and cytolysis in 1, 3, 5 and 7 days. It was established that in one day after the recanalization of common bile duct we noticed the worsening of metabolic processes in liver which due to stimulation of sanogenesis mechanisms in 7 days leads to their recovering in particular normalization of lipid peroxidation processes intensity,

the cytolysis decrease. The leading compensatory mechanism is an increase of activity of antioxidant enzymes of superoxide dismutase and catalase and the main blood antioxidant – ceruloplasmin, which continue to be increased in 7 days after the experiment.

**Ключові слова:** позапечінковий холестаза; жовчна протока; печінка; цитоліз; церулоплазмін.

**Ключевые слова:** внепечёночный холестаза; желчный проток; печень; цитолиз; церулоплазмин.

**Key words:** extrahepatic cholestasis; bile duct; liver; cytolysis; ceruloplasmin.

**ВСТУП** Позапечінковий холестаза належить до актуальних проблем сучасної абдомінальної хірургії. В його основі лежить порушення відтоку жовчі, зумовлене механічною обтурацією позапечінкових жовчних проток. Найчастішою причиною позапечінкового холестаза є жовчнокам'яна хвороба. В хірургічній клініці хворі на жовчнокам'яну хворобу займають провідне місце серед пацієнтів із захворюваннями органів черевної порожнини [2].

Ефективність хірургічного лікування, навіть на тлі застосування малоінвазивних технологій, залежить від тривалості позапечінкового холестаза. В численних експериментальних дослідженнях показано, що повна обтурація загальної жовчної протоки спричиняє запальні, некробіотичні й дистрофічні процеси в печінці, які супроводжуються ендогенною інтоксикацією, посиленням процесів ліпідної пероксидації і холестатичних явищ. Початкова стадія цих порушень відмічається з 3 до 7 дб холестаза, стадія компенсації – до 15 дб, декомпенсації – з 16 доби [4, 5, 12].

Проте дотепер залишаються маловивченими морфофункціональні порушення печінки після декомпресії жовчних проток та відновлення функціонального стану органа. Це суттєво впливає на ефективність хірургічного лікування, яке навіть при впровадженні малоінвазивних технологій нерідко відбувається у два етапи: перший – декомпресія жовчних шляхів і другий – видалення запального жовчного міхура [13, 15].

Поодинокі дослідження, присвячені термінам відновлення функціонального стану печінки після декомпресії жовчних шляхів, суперечливі. На думку ряду авторів, декомпресія сприяє посиленню ураження печінки з розвитком її недостатності [6]. Наші попередні дослідження показали, що експериментальна обтураційна жовтяниця супроводжується морфологічними змінами печінки, які мають дистрофічно-деструктивний характер і залежать від її тривалості. При цьому холестаза тривалістю 3–7 дб супроводжувався збільшенням кількості уражених печінкових клітин через 24 год після декомпресії. При його тривалості 14 дб, навіть після відновлення пасажу жовчі, деструктивні зміни печінкової паренхіми посилюються [11]. Поглиблення порушень морфофункціонального стану печінки після відновлення відтоку жовчі спонукає до комплексного вивчення в динаміці маркерів гепатопатії залежно від тривалості обтурації жовчних шляхів та термінів після відновлення їх прохідності.

Метою роботи стало з'ясувати вплив декомпресії жовчовивідних шляхів на динаміку процесів ліпоперокси-

дації, антиоксидантного захисту і цитолізу після експериментального тридобового холестазау.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ** Дослідження виконано на 36 білих нелінійних щурах-самцях масою 200–220 г. Усіх тварин поділили на шість груп: контрольну і п'ять дослідних. У дослідних групах моделювали обтураційну жовтяницю [16]. Під тіопентало-натрієвим знеболюванням 50 мг·кг<sup>-1</sup> із дотриманням правил асептики й антисептики виконували серединну лапаротомію і здійснювали перев'язку загальної жовчної протоки монофіламентною ниткою, що не розсмоктується, фірми GORETEX у нижній третині загальної жовчної протоки. Першу дослідну групу виводили з експерименту через 3 доби після моделювання обтураційного холестазау. В другій-п'ятій дослідних групах у цей термін проводили релапаротомію та пересікання нитки з подальшим відновленням відтоку жовчі. Тварин виводили з експерименту через 1, 3, 5 і 7 діб після відновлення пасажу жовчі в умовах знеболювання шляхом тотального кровопускання з серця. Контрольну групу склали інтактні тварини. Всі маніпуляції з ними виконували, дотримуючись вимог щодо поводження з піддослідними хребетними тваринами.

Для дослідження використовували сироватку крові та печінку піддослідних тварин, з якої готували 10 % гомогенат. Для оцінки інтенсивності процесів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) у гомогенаті печінки визначали вміст дієнових кон'югатів (ДК) і ТБК-активних продуктів ПОЛ [7]. Стан антиоксидантної системи визначали за активністю у печінці супероксиддисмутази (СОД) [14], каталази [9] та вмістом у сироватці крові церулоплазміну (ЦП) [8]. На основі співвідношення "активність каталази / вміст ТБК-активних продуктів ПОЛ" встановлювали антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ), який свідчить про баланс процесів ліпопероксидації та антиоксидантного захисту [1]. Для оцінки процесів цитолізу в сироватці крові визначали активність маркерних ферментів: аланін- і аспартатамінотрансфераз (АлАТ, АсАТ) уніфікованим методом для аналізатора біохімічного Humalyzer 2000.

Отримані цифрові дані обробляли статистично. Вірогідність відмінностей між дослідними і контрольною групами та в динаміці між дослідними групами оцінювали з використанням програми STATISTICA ("StatSoft, Inc.", США) на основі непараметричного критерію Манна-Уїтні.

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ**  
Як видно з таблиці, через 3 доби після перев'язки загальної жовчної протоки у печінці відмічалися метаболічні порушення, які вказували на активацію процесів ліпідної пероксидації: суттєво підвищувався вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ: ДК – у 3,05 раза (p<0,05), ТБК-активних продуктів – у 2,32 раза (p<0,05). Ці процеси відбувалися на тлі підвищення в печінці активності антиоксидантних ферментів СОД та каталази (відповідно на 60,4 і 79,5 %, p<0,05), що, очевидно, носило компенсаторний характер. Незважаючи на це, величина АПІ суттєво знижувалася (на 22,4 %, p<0,05), що вказувало на недостатність антиоксидантного захисту і домінування прооксидантних механізмів. У сироватці крові зростає вміст ЦП (на 48,4 %, p<0,05), що носило як компенсаторний характер, так і свідчило про розвиток запального процесу в печінці, оскільки ЦП належить до білків гострої фази [3]. Посилення процесів ліпопероксидації закономірно супроводжується ураженням клітинних, що призводить до накопичення у сироватці крові ферментів цитолізу. Так, активність АлАТ у сироватці крові збільшилася у 3,87 раза (p<0,05), АсАТ – у 2,08 раза (p<0,05). Виявлені порушення в цілому відповідають сучасним уявленням про механізми ураження печінки в умовах обтураційного холестазау [3, 4].

Після відновлення пасажу жовчі через добу більшість показників статистично вірогідно не відрізнялася від рівня тварин із холестазом, проте мало місце суттєве підвищення в печінці вмісту ДК (на 16,7 %, p<0,05), та відмічалася тенденція до підвищення в печінці вмісту ТБК-активних продуктів, активності СОД і каталази та вмісту в сироватці крові ЦП (p>0,05). Отриманий результат вказує на посилення ураження гепатоцитів через добу після реканалізації загальної жовчної протоки.

**Таблиця. Динаміка показників ліпопероксидації, антиоксидантного захисту і цитолізу після декомпресії жовчовивідних шляхів (M±m)**

Контроль (n=6)	Холестаз, 3 доба (n=6)	Термін після декомпресії			
		1 доба (n=6)	3 доби (n=6)	5 діб (n=6)	7 діб (n=6)
ДК, ум. од.·кг <sup>-1</sup>					
0,96±0,06	2,93±0,13*	3,42±0,15**	1,98±0,10*#1	1,41±0,06*#1,3	1,12±0,05*#1,3,5
ТБК-активні продукти ПОЛ, мкмоль·кг <sup>-1</sup>					
3,02±0,12	7,00±0,27*	7,63±0,30*	4,44±0,19*#1	3,53±0,17*#1,3	3,26±0,09*#1,3
СОД, мккат·кг <sup>-1</sup>					
0,263±0,013	0,422±0,010*	0,436±0,014*	0,341±0,013*#1	0,316±0,014*#1	0,313±0,008*#1
Каталаза, мккат·кг <sup>-1</sup>					
0,44±0,02	0,79±0,04*	0,89±0,03*	0,59±0,01*#1	0,52±0,01*#1,3	0,50±0,01*#1,3
АПІ, ум. од.					
0,147±0,005	0,114±0,005*	0,118±0,007*	0,133±0,007	0,149±0,008*#1	0,154±0,004*#1,3
ЦП, мг·л <sup>-1</sup>					
7,59±0,36	11,26±0,28*	11,40±0,45*	9,60±0,35**	8,68±0,32*#1	8,98±0,21*#1
АлАТ, Од·л <sup>-1</sup>					
108,4±3,5	420,0±17,9*	359,3±25,1*	281,1±18,6*#1	191,9±7,5*#1,3	123,1±6,6*#1,3,5
АсАТ, Од·л <sup>-1</sup>					
191,0±5,4	398,0±22,4*	377,5±18,9*	250,9±8,9*#1	219,9±11,3*#1,3	205,1±9,8*#1,3

Примітки: 1) \* – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p<0,05);

2) # – відмінності стосовно групи тварин із тридобовим холестазом статистично вірогідні (p<0,05);

3) 1,3,5 – відмінності стосовно показників 1, 3 і 5 діб статистично вірогідні (p<0,05).

У подальшому вміст первинних і вторинних продуктів ПОЛ істотно знижувався, проте через 3 і 5 днів продовжував бути більшим від контролю (ДК – відповідно на 106,2 і 46,2 %,  $p < 0,05$ ; ТБК-активні продукти – відповідно на 47,0 і 16,9 %,  $p < 0,05$ ). Через 7 днів показники продовжували знижуватися й досягали рівня контрольної групи ( $p > 0,05$ ).

У свою чергу, активність СОД і каталази печінки теж знижувалася, проте до 7 доби не досягала рівня контролю й залишалася підвищеною (відповідно на 19,0 і 13,6 %,  $p < 0,05$ ). Внаслідок цього величина АПІ вже з 3 доби досягала рівня контрольної групи ( $p > 0,05$ ), а через 5–7 днів статистично вірогідно перевищувала величину тварин із холестазом (відповідно на 30,7 і 35,1 %,  $p < 0,05$ ).

Вміст ЦП починав суттєво знижуватися, починаючи з 3 доби, і виявився статистично вірогідно меншим, ніж у тварин із холестазом (через 3 доби – на 14,7 %,  $p < 0,05$ ; через 5 днів – на 22,9 %,  $p < 0,05$ ; через 7 днів – на 20,2 %,  $p < 0,05$ ). Незважаючи на це, протягом усього терміну обстеження показник продовжував залишатися статистично вірогідно більшим, ніж у контролі ( $p < 0,05$ ).

Аналогічно, починаючи з 3 доби, у сироватці крові наставало істотне зниження, порівняно із тваринами з холестазом активності АсАТ і АлАТ ( $p < 0,05$ ), які до 7 доби досягали рівня контролю ( $p > 0,05$ ) й були суттєво меншими, ніж у попередні терміни спостереження.

Отримані результати свідчать про те, що інтенсивність метаболічних порушень через добу після відновлення пасажу жовчі посилюється, зокрема за рахунок підвищення утворення первинних продуктів ліпопероксидації. Можна припустити, що в цей термін відмічається тимчасова недостатність компенсаторних механізмів (утилізації активних форм кисню, перекисів ліпідів, ендотоксинів), яка в подальшому стає стимулятором механізмів саногенезу. З іншого боку, сама реканалізація загальної жовчної протоки за рахунок зниження тиску жовчі у печінці й збільшення припливу крові, ймовірно, стає фактором патогенезу за рахунок механізмів реперфузії [10, 17]. Підтвердженням цього є результати наших попередніх досліджень, в яких після реканалізації загальної жовчної протоки відмічалася помірна дилатація і повнокров'я судин та помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація [11].

Однак до 7 доби після реканалізації загальної жовчної протоки в печінці настає швидке відновлення досліджуваних метаболічних процесів. Більшість показників досягає рівня контрольної групи, за винятком антиоксидантних ферментів СОД і каталази та основного антиоксиданта сироватки крові – ЦП. Можна припустити, що саме завдяки підтриманню активності цих ферментів на високому рівні досягається реалізація одного із основних механізмів саногенезу – утилізації активних форм кисню, які очевидно, продовжують утворюватися внаслідок посилення детоксикаційної функції печінки та завдяки активації нейтрофілів і макрофагів, зокрема клітин Купфера, проліферація яких відмічається на тлі обтураційного холестазу [12].

Таким чином, на тлі триденного обтураційного холестазу відновлення метаболічних процесів у печінці настає через 7 днів після реканалізації загальної жовчної протоки, що є теоретичним підґрунтям для вибору оптимальних термінів повторного операційного втручання з мінімальним ризиком розвитку печінкової недостатності.

**ВИСНОВКИ** 1. У випадку обтураційного холестазу тривалістю 3 доби через добу після реканалізації загальної жовчної протоки відмічається погіршення метаболічних процесів у печінці, яке, завдяки стимуляції механізмів саногенезу, через 7 днів призводить до їх відновлення, зокрема нормалізації інтенсивності процесів ліпідної пероксидації, зниження явищ цитолізу.

2. Провідним компенсаторним механізмом у випадку реканалізації загальної жовчної протоки після тридобо-

вого холестазу є збільшення активності антиоксидантних ферментів СОД і каталази та основного антиоксиданта крові – ЦП, які продовжують бути підвищеними через 7 днів експерименту.

**Перспективи подальших досліджень** У перспективі доцільно визначити терміни відновлення морфофункціонального стану печінки після холестазу з різною тривалістю.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Антиоксидантно-прооксидантний індекс сироватки крові щурів з експериментальним стоматитом і його корекція зубними еліксирами / А. П. Левицький, В. М. Почтар, О. А. Макаренко, Л. І. Гридіна // Одеський мед. журн. – 2006. – № 1. – С. 22–25.
2. Бадретдинова А. Р. Анализ возрастного-половой структуры больных желчекаменной болезнью, идущих на плановую холецистэктомию / А. Р. Бадретдинова // Практическая медицина. – 2011. – № 50. – С. 60.
3. Белова С. В. Ферментный иммуномодулятор в терапии экспериментального аутоиммунного артрита / С. В. Белова // Тихоокеанский мед. журн. – 2009. – № 3. – С. 70–73.
4. Борисенко В. Б. Динамика морфологических изменений холедоха, печени и других внутренних органов при моделировании механической желтухи в эксперименте / В. Б. Борисенко, С. Г. Белов, Н. И. Горголь // Харківська хірургічна школа. – 2012. – № 1. – С. 46–52.
5. Влияние инфузионного гепатопротектора ремансол на функцию печени крыс на модели обтурационной желтухи / Н. Г. Смирнова, С. Г. Чефу, А. Л. Коваленко, Т. Д. Власов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2010. – Т. 73, № 9. – С. 24–27.
6. Гнатюк М. С. Морфологичні зміни печінки та їх корекція призмодельованій обтураційній жовтяниці / М. С. Гнатюк, І. М. Кліщ, М. М. Галей // Шпитальна хірургія. – 2008. – № 4. – С. 78–82.
7. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації; за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. – К.: Авіценна, 2001. – 528 с.
8. Колб В. Г. Справочник по клинической химии / В. Г. Колб, В. С. Камышников. – Минск: Беларусь, 1982. – 311 с.
9. Королюк М. А. Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова, В. Е. Токарев // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
10. Нагорная Н. В. Оксидативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки / Н. В. Нагорная, Н. А. Четверик // Здоров'я дитини. – 2010. № 2. — [режим доступу]. – <http://www.mif-ua.com/archive/article/12762>
11. Орел Ю. М. Структурні зміни печінкової тканини в умовах змодельованого холестазу і після його ліквідації / Ю. М. Орел, О. І. Дзюбановський, Л. В. Шкробот // Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука. – 2016. – № 2. – С. 45–49.
12. Ратчик В. М. Клініко-лабораторні особливості експериментального холестазу / В. М. Ратчик, А. В. Косинський, Н. В. Пролом // Клінічна хірургія. – 2007. – № 2. – С. 81.
13. Ткачук О. Л. Печінкові дисфункції після хірургічної декомпресії у хворих на обтураційні жовтяниці / О. Л. Ткачук, І. М. Шевчук, В. А. Месоєдова // Харківська хірургічна школа. – 2005. – № 21 (17). – С. 107–109.
14. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, И. Сокей // Лаб. дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.
15. Шевчук М. Г. Постдекомпресійні дисфункції печінки у хворих на обтураційні жовтяниці / М. Г. Шевчук, О. Л. Ткачук, І. М. Шевчук. – Івано-Франківськ: Вид-во Івано-Франківського державного медичного університету, 2006. – 212 с.
16. Comparative study of macro- and microsurgical extrahepatic cholestasis in the rat // М. А. Aller, М. Duran, L. Ortega, J. L. Arias // Microsurgery. – 2004. – Vol. 24, No. 6. – P. 442–447.
17. Leukocytes and the inflammatory response in ischemiareperfusion injury / I. Francischetti, J. V. Moreno, M. Scholz, W. Yoshida // Rev. Bras. Cir. Cardiovasc. – 2010. – Vol. 25 (4). – P. 575–584.

Отримано 04.10.16