

tissue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R.N. Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – Vol.25, - №1. -P. 192-205.

10. Taylor, S.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / S.L. Taylor, M.P. Lamden, A.L. Tappel // Lipids. – 1976. - Vol. 11, № 7. - P. 530-538.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В НАДПОЧЕЧНИКАХ В УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОДПЕЧЕНОЧНОГО ХОЛЕСТАЗА

**Кизюкевич Л.С., Гуляй И.Э., Дричиц О.А., Амбрушкевич Ю.Г.,
Левэ О.И., Кизюкевич Д.Д., Шишко В.В.**

Гродненский государственный медицинский университет

Заболевания желчевыводящих путей, осложненные холестазом, вызывают изменения деятельности эндокринной системы – ведут к усилению надпочечниковой активации, а тяжелое их течение приводит к резкому истощению функции коры надпочечников [1; 5]. Комплексная оценка метаболических и функциональных нарушений, развивающихся в корковом веществе надпочечников крыс через 24 часа от начала моделирования острого подпеченочного холестаза показала, в криостатных срезах коркового вещества надпочечников (клубочковой пучковой и сетчатой зонах) отмечается снижение активности оксидоредуктаз, при этом увеличивается активность кислой фосфатазы [6; 10]. Нарушения в гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе отражают факт развития развития полиорганной недостаточности [2].

Познание основ структурной перестройки эндокринных органов может значительно расширить наши представления о динамике развития полиорганной недостаточности. Представляет несомненный интерес выяснения патофизиологического влияния высоких концентраций основных компонентов желчи (желчных кислот, билирубина) на состояние свободнорадикальных процессов в тканях надпочечников, что придает данной проблеме особую актуальность.

Цель исследования – дать сравнительную оценку состояния процессов ПОЛ и антиоксидантной защиты в надпочечниках крыс в остром периоде экспериментального обтурационного подпеченочного холестаза.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен в соответствии с

Хельсинской Декларацией о гуманном отношении к животным. В работе использован материал от 40 беспородных белых крыс самцов массой 250 ± 30 г. Всего было поставлено 2 серии опытов. С целью изучения влияния обтурации общего желчного протока (ОЖП) на состояние тканевого гомеостаза паренхиматозных элементов надпочечников была использована модель подпеченочного обтурационного холестаза, при этом задействованных в эксперименте животных разделили на две группы. У опытных животных 1-й (10 крыс) и 2-й (10 крыс) групп под эфирным наркозом обтурационный подпеченочный холестаз, продолжительностью 1-, 3 суток соответственно, моделировали путем перевязки ОЖП в его проксимальной части, области впадения в последний долевых печеночных протоков, с последующим его пересечением между двумя шелковыми лигатурами. У крыс контрольной группы ($n = 20$) производилась ложная операция (ОЖП оставался интактным). Все оперированные животные содержались в индивидуальных клетках со свободным доступом к воде и пище. В сыворотке крови по окончании эксперимента энзимо-колориметрическим методом определяли концентрацию общих желчных кислот. В гомогенатах надпочечников активность свободнорадикальных процессов оценивали по содержанию первичных (диеновые конъюгаты) и третичных (триеновые конъюгаты) [7], вторичных – малонового диальдегида [3] продуктов ПОЛ, а также факторы антиоксидантной защиты: активность фермента антиоксидантной защиты – каталазы [4], концентрацию α -токоферола и ретинола [9] и восстановленного глутатиона [8]. Статистическую обработку результатов исследований проводили с использованием пакетов статистических программ GraphPad Prism v.6.0 и StatSoft STATISTICA 8.0. Данные представлены в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое в выборочной совокупности, m – стандартная ошибка среднего. Нормальность распределения выборки оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Значимость различий исследуемых несвязанных выборочных данных определяли при помощи дисперсного анализа с последующим тестом Бонферрони и теста средневзвешенного Тьюки. Различия между группами считали статистически значимыми, если вероятность ошибочной оценки не превышала 5% ($p < 0,05$)

Результаты исследований показали, что спустя 24 часа эксперимента у опытных крыс с подпеченочным обтурационным холестазом концентрация общих желчных кислот в сыворотке крови

увеличивается в 74 раза ($p < 0,001$). При этом в гомогенатах надпочечников таких животных на фоне снижения содержания основного природного антиоксиданта – α -токоферола (до $14,98 \pm 0,77$ мкмоль/г ткани, относительно $21,13 \pm 1,37$ мкмоль/г ткани в контроле; $p < 0,001$) и увеличения активности каталазы (до $41,12 \pm 2,39$ ммоль H_2O_2 /мин/г.ткани, относительно $19,00 \pm 1,84$ ммоль H_2O_2 /мин/г.ткани в контроле; $p < 0,001$) наблюдается стабилизация процессов пероксидации – незначительно увеличивается содержание МДА (до $8,68 \pm 0,37$ мкмоль/г.ткани, относительно $6,76 \pm 0,39$ мкмоль/г.ткани у контрольных крыс; $p > 0,05$) и ДК (до $7,70 \pm 0,46$ Ед/г ткани, относительно $7,20 \pm 0,51$ Ед/г ткани у контрольных крыс; $p > 0,05$).

Спустя 72 часа эксперимента у опытных крыс с подпеченочным обтурационным холестазом концентрация общих желчных кислот в сыворотке крови увеличивается в 56,6 раз ($p < 0,001$). На фоне высокой и относительно продолжительной холатемии в гомогенатах надпочечников крыс отмечается резкое увеличение содержания МДА (до $12,97 \pm 0,67$ мкмоль/г.ткани, относительно $6,63 \pm 0,38$ мкмоль/г.ткани у контрольных крыс; $p < 0,001$) и уровня ДК (до $26,40 \pm 1,50$ Ед/г ткани, относительно $9,12 \pm 0,63$ Ед/г ткани у контрольных крыс; $p < 0,001$). Параллельно с этим и происходит активация антиоксидантных процессов, что сопровождается незначительным снижением активности каталазы (до $17,91 \pm 1,35$ ммоль H_2O_2 /мин/г.ткани, относительно $22,67 \pm 0,91$ ммоль H_2O_2 /мин/г.ткани в контроле; $p > 0,05$) при выраженном увеличении концентрации основного природного антиоксиданта – α -токоферола (до $29,45 \pm 0,91$ мкмоль/г ткани, относительно $19,63 \pm 0,86$ мкмоль/г ткани в контроле; $p < 0,001$).

Таким образом, спустя 24 часа от начала моделирования подпеченочного обтурационного холестаза на фоне резкого увеличения в сыворотке крови концентрации общих желчных кислот в ткани надпочечников опытных крыс отмечается лишь тенденция к увеличению содержания первичных и вторичных продуктов ПОЛ, что сопровождается значительным увеличением активности каталазы и снижением концентрации α -токоферола. Через 72 часа экспериментального холестаза на фоне относительно продолжительной холатемии в гомогенатах надпочечников опытных животных наблюдается резкое увеличение содержания малонового диальдегида и уровня диеновых конъюгатов. Активация свободнорадикальных процессов сопровождается избыточным

использованием и, как следствие, некоторым снижением активности каталазы и резким увеличением концентрации природного антиоксиданта – α -токоферола, который является основным восстановителем пероксильных радикалов в мембранах клеток млекопитающих, образующихся при протекании процессов перекисного окисления липидов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашрафов, А.А. Функциональное состояние коры надпочечников при калькулезном холецистите, осложненном механической желтухой, у больных пожилого возраста / А.А. Ашрафов // Вестник хир. им. И.И. Грекова. – 1978. – № 5. – С. 28-31.
2. Золотухин, С.Е. Активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы на этапах формирования полиорганной недостаточности при травматическом токсикозе / С.Е. Золотухин // Ортопедия, травматол., и протезир. – 2000. – № 1. – С. 41-44.
3. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: в 2 т / В.С. Камышников. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т 1. – 495 с.
4. Метод определения активности каталазы / М.А. Королук [и др.] // Лаб. дело. -1988.-№1.-С. 16-19.
5. Минина, К.З. Печеночная недостаточность при механической желтухе – органные и гомеостатические механизмы развития. Интенсивная терапия: Автореф. дисс. ... док. мед. наук: 14.00.27, 14.00.37 / К.З. Минина. – Киев, 1988. – 40 с.
6. Ранние морфофункциональные сдвиги в органах при экспериментальном холестазе / А.А. Туревский [и др.] // Материалы международной научной конференции. – Гродно, 1993. – Ч. 2. – С. 480-481.
7. Сопоставление различных подходов к определению продуктов ПОЛ в гептан-изопропанольных экстрактах крови / И.А. Волчегорский [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1989. – Т. 35, № 1. – С. 127-131.
8. Sedlak, J. Estimation of total, protein-bound, and protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent / J. Sedlak, R.N. Lindsay // Anal. Biochem. – 1968. – Vol.25, - №1. -P. 192-205.
9. Taylor, S.L. Sensitive fluorometric method for tissue tocopherol analysis / S.L. Taylor, M.P. Lamden, A.L. Tappel // Lipids. – 1976. - Vol. 11, №
10. The metabolic changes in adrenal cortex during the modelling of acute cholestasis / D.L. Kiziukevich [et al.] // European J. of Medical Research. – 2007. – Vol. 12, № 7, suppl. IV. – P. 6-7.