

ДИНАМІКА ЗМІНИ ВІЛЬНОРАДИКАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ І РІВНЯ ЕНДОГЕННОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ ЗА УМОВ КОРОТКОЧАСОВОЇ ОКЛЮЗІЇ ПАНКРЕАТИЧНОЇ ПРОТОКИ

В. Макарчук

*Державна установа «Інститут гастроентерології НАМН України»
пр. імені Газети «Правда», 96, Дніпропетровськ 49074, Україна
e-mail: viktoriam7@gmail.com*

В експерименті на лабораторних щурах показано, що в результаті хірургічної оклюзії панкреатичної протоки лігатурою «Кетгут» 4/0 на 6 добу дослідження розвивався гострий панкреатит. Після розсмоктування лігатури (10 доба) відбувалося відновлення прохідності протоки підшлункової залози. На 30 добу експерименту спостерігалось відновлення ацинарної тканини та визначалися тільки незначні фіброзні зміни органа. На основі результатів морфологічного дослідження панкреатобіоптатів було встановлено на 6 добу дослідження запально-некротичну стадію гострого панкреатиту, на 15 добу – регенераторно-проліферативну стадію та на 30 добу – стадію відновлення. Визначення біохімічних маркерів фіброзу у крові щурів підтвердили результати морфологічного дослідження панкреатобіоптатів. Встановлено, що до кінця другого тижня експерименту відбувалася максимальна інтенсифікація процесів ліпопероксидації, що сприяло утворенню вторинних продуктів пероксидного окиснення ліпідів у крові. Відзначалося збільшення рівня ендогенної інтоксикації, виражене високим вмістом у плазмі крові щурів молекул середньої маси, зростанням нуклеарної, токсичної фракції та фракції ароматичних хромофорів.

Ключові слова: ТБК-активні продукти, молекули середньої маси, оксипролін білковозв'язаний, оксипролін вільний, підшлункова залоза.

У всьому світі зростає захворюваність на панкреатит, що пов'язано зі збільшенням споживання алкоголю, зростанням частоти куріння, поширенням ожиріння серед населення розвинених країн [1]. Тому моделювання панкреатиту на тваринах дає змогу більш детально досліджувати патогенетичні механізми даної патології.

Моделі панкреатиту на основі протокової обструкції не є загальними, тому мало досліджені морфологічні та біохімічні зміни підшлункової залози за цих умов [18, 19].

Вільнорадикальне окиснення, з одного боку, є невід'ємною частиною нормальної життєдіяльності організму, а з іншого – порушення цих процесів слугує раннім неспецифічним фактором ушкодження, що лежить в основі розвитку різних захворювань, у тому числі гострого та хронічного панкреатиту. Якщо враховувати низький рівень антиоксидантної активності тканини підшлункової залози, то вивільнення у кров продуктів вільнорадикального окиснення й ендотоксинів сприятиме формуванню синдрому ендогенної інтоксикації [13, 15].

У даний час дедалі більшого значення набуває вивчення маркерів ендотоксикозу різного походження [2]. Основна частина ендогенних токсинів належить до молекул середньої маси (МСМ), підвищення яких у крові, а також продуктів пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) при зниженні активності системи біотранспорту й біотрансформації ендотоксинів є неспецифічним тестом ендогенної інтоксикації [2, 6, 14]. Під МСМ слід розуміти пул речовин зі середньою молекулярною масою від 300 до 5000 Д, фрагменти

нуклеїнових кислот і ароматичні амінокислоти, накопичення яких відбувається при порушенні функціональної активності систем детоксикації та посиленому катаболізмі білків, що призводить до порушення фізико-хімічних властивостей клітинних мембран і робить їх більш доступними для різного роду пошкоджуючих впливів, включаючи процеси ПОЛ [2].

Оскільки МСМ здатні набувати властивостей вторинних токсинів і впливати на життєдіяльність усіх систем та органів, то їхнє накопичення в подальшому ускладнює перебіг патологічного процесу [12]. В результаті численних досліджень було встановлено, що підвищення рівня МСМ у крові спостерігається при різноманітних патологічних станах різної етіології та ступеня тяжкості, в тому числі і при гострому панкреатиті, панкреонекрозі, низці хірургічних захворювань (при панкреатиті) [6]. Проте на сьогодні недостатньо інформації про зміни рівня МСМ на різних етапах розвитку панкреатиту.

Виходячи з усього вищесказаного, метою дослідження було визначити динаміку змін показників вільнорадикального окиснення й ендогенної інтоксикації у щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки.

Матеріали та методи

Хірургічна оклюзія панкреатичної протоки. Експеримент проводили на білих лабораторних щурах-самцях (6 місяців, 190–210 г) згідно із Законом України № 3447-IV від 21.02.06 р «Про захист тварин від жорстокого поводження». Щурі перебували у стандартних умовах із природною зміною освітлення та дотриманням загального раціону віварію. За добу до експерименту щурів не годували, доступ до води залишався вільним. Під наркозом (кетамін гідрохлорид, 110 мг/кг) всім тваринам проводили лапаротомію, а дослідним щурам ще й здійснювали короткочасову оклюзію панкреатичної протоки лігатурою «Кетгут» 4/0 [17], розсмоктування якої відбувалося на 10 добу дослідження.

Експериментальні тварини були розділені на дві групи: I група (n=18) – псевдооперовані щурі, яким проводили лапаротомію та відразу розріз шкірного покриву на череві зашивали (контрольна група); II група (n=18) – щурі з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки. Після закінчення експерименту на 6 (n=6), 15 (n=6) та 30 (n=6) добу проводили декапітацію тварин обох груп після попереднього введення наркозу (110 мг/кг). Гепаринізовану кров розділяли на плазму й еритроцити.

Гістохімічний аналіз панкреатобіоптатів і метод комп'ютерної морфометрії. Для визначення у дослідних щурів стадійності перебігу панкреатиту проводили гістохімічне дослідження тканини підшлункової залози, яке включало стандартну її фіксацію в рідині Буена, зневоднення у спиртах зростаючої концентрації та заливку шматочків тканини в парафінові блоки, приготування зрізів і фарбування їх гематоксиліном-еозином (за загальноприйнятим у гістологічній практиці методом), пікрофуксином (за Ван-Гізоном: дає змогу вибірково фарбувати сполучну тканину в червоний колір) і трикольорове якісне фарбування за Малорі-Слінченко [11] з подальшим вивченням препаратів методом світлової мікроскопії. Для проведення комп'ютерної морфометрії, з метою оцінки фіброзних змін підшлункової залози при експериментальному панкреатиті, панкреатобіоптати, отримані інвазивним методом, фотографували та здійснювали вимірювання за допомогою програми ImageJ 1.45S (розроблена в «National Institutes of Health», USA).

Визначення біохімічних маркерів фіброзу. Концентрацію оксипроліну білковозв'язаного (ОПб/зв) і вільного (ОПв) визначали за методом [8]. Результати визначення у плазмі крові щурів контрольної групи на різних етапах дослідження вмісту ОПб/зв та ОПв не показали вірогідної відмінності, тому вважали за доцільне об'єднати їх в одну групу псевдооперованих тварин.

Визначення показників пероксидного окиснення ліпідів та ендогенної інтоксикації. Інтенсивність вільнорадикального окиснення оцінювали за зміною концентрації ТБК-активних продуктів у плазмі крові. Останні визначали за методом [7]. Рівень ендотоксемії оцінювали за вмістом МСМ у плазмі крові згідно зі стандартизованою методикою [5]. Концентрацію МСМ по білку визначали за методом [16]. Результати визначення МСМ по білку представлені в мг/л, результати для кожної довжини хвилі – в опт. од.

Статистичний аналіз. Статистичну обробку результатів здійснювали методами варіаційної статистики з використанням стандартного пакета прикладних програм SPSS 13.0 for Windows. Для показника визначали вибіркоче середнє значення (M) і помилку середнього (m). Досліджувані співвідношення вважали вірогідними при $P < 0,05$, $P < 0,01$, $P < 0,001$. Кореляційний аналіз проводили за Пірсоном [10].

Результати і їхнє обговорення

У результаті гістохімічного дослідження панкреатобіоптатів щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки було встановлено, що на 6 добу експерименту розвивалися зміни, характерні для гострого панкреатиту. Так, у хвостовій частині органа було виявлено розширення протоків різного калібру із застоєм секрету, осередки лімфоцитарної, нейтрофільної або еозинофільної інфільтрації, ознаки повнокрів'я внутрішньочасточкових судин. Визначалися осередки некрозу ацинарної тканини. Характерним було розростання фібробластів (рис. 1, А). Була встановлена запально-некротична стадія гострого панкреатиту. На 15 добу експерименту встановлено більш значне розширення внутрішньо- і міжчасточкових протоків із розвитком початкових ознак фіброзування навколо них, прогресуючими явищами повнокрів'я, вогнищевою внутрішньоклітинною інфільтрацією. Відмічалось сплюснення та дистрофія внутрішньопротокового епітелію, осередки склерозування. Наряду з цим відмічалось процеси відновлення структури ацинарної тканини. Осередки регенерації містились переважно в ділянці крупних протоків (рис. 1, Б). Була визначена регенераторно-проліферативна стадія.

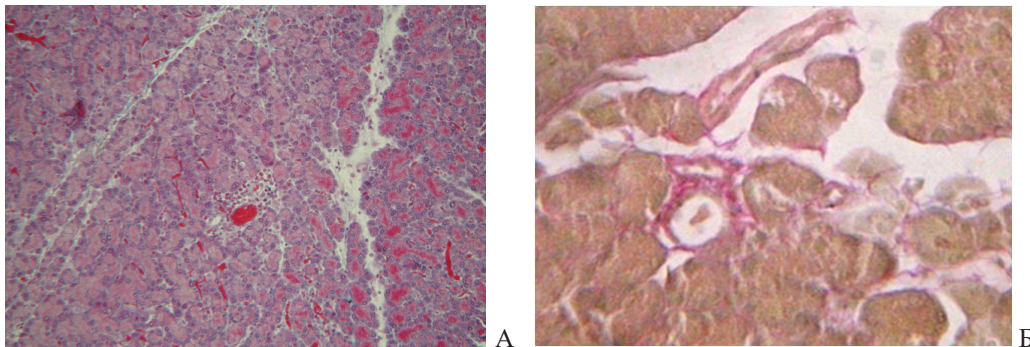


Рис. 1. Гістоструктура тканини підшлункової залози щура з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки на 6 добу (А) та 15 (Б) добу дослідження: А – забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 40$; Б – забарвлення за Ван-Гізоном, $\times 100$.

На 30 добу експерименту в хвостовій частині органа спостерігалася дистрофія ацинарної тканини в окремих дольках, склероз навколівнутрішньодолькових протоків з відокремленням поодиноких ацинусів. При забарвленні за Ван-Гізоном відзначався незначний рихлий перидуктальний фіброз (рис. 2, А). Спостерігалися ознаки відновлення ацинарної тканини підшлункової залози. Була встановлена стадія відновлення.

На всіх етапах експериментального дослідження у головці й тілі підшлункової залози гістохімічних змін тканини органа не спостерігалось.

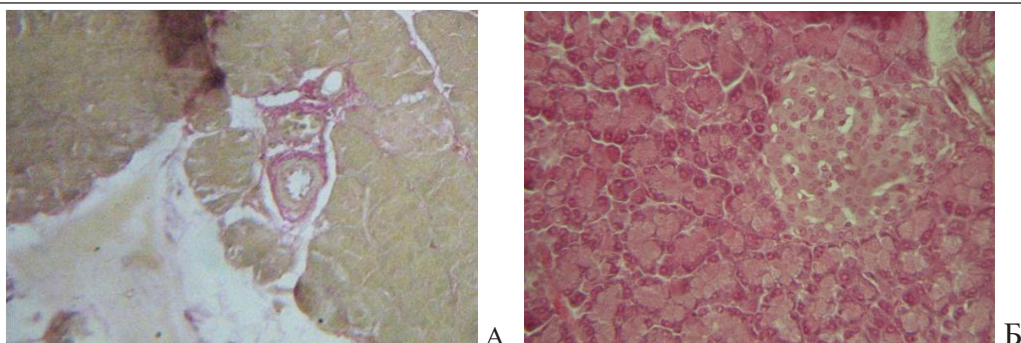


Рис. 2. Гістоструктура тканини підшлункової залози щура з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки на 30 добу дослідження (А). Забарвлення за Ван-Гізеном, $\times 100$. Зразок тканини підшлункової залози щура контрольної групи (Б). Забарвлення гематоксилином і еозином, $\times 100$.

Гістохімічний аналіз зразків тканини підшлункової залози щурів контрольної групи змін не виявив, серед екзокринної тканини розташовувалися острівці Лангерганса різної форми та розміру. Ацинуси мали нормальну структуру (рис. 2, Б).

З метою оцінки фіброзних змін підшлункової залози експериментальних щурів проводили комп'ютерну морфометрію панкреатобіоптатів, отриманих інвазивним методом. Комп'ютерний індекс фіброзу (КІФ – співвідношення фіброзної тканини до загальної площі біоптату) для контролю становив $0,50 \pm 0,07$ (не відрізнявся для псевдооперованих тварин на всіх етапах експерименту). На 6 добу експерименту КІФ дорівнював $1,06 \pm 0,34$, на 15 добу – $2,00 \pm 0,69$, а на 30 добу – $5,90 \pm 1,54$. На 30 добу експерименту КІФ в 11,8 разу ($P < 0,01$) перевищував контрольне значення, в 5,6 разу ($P < 0,05$) – аналогічний показник для 6 доби і в 3 рази – для 15 доби дослідження ($P < 0,05$). Проте слід відзначити, що для встановлення I ступеня фіброзу підшлункової залози КІФ має становити не менше 20, що в 3,4 разу більше отриманого нами результату на стадії відновлення у щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки.

Результати визначення у плазмі крові ОПб/зв та ОПв як показників метаболізму колагену, що дають важливу інформацію про біохімічні та патологічні особливості фіброзу, збігалися з результатами морфологічного дослідження. Так, про процеси посилення анаболізму сполучної тканини у щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки на запально-некротичній стадії гострого панкреатиту свідчила тенденція до зростання вмісту ОПб/зв, а про зниження катаболізму – зменшення вмісту ОПв щодо контролю. В подальшому на регенераторно-проліферативній стадії та на стадії відновлення дані процеси незначно поглиблювалися: рівень ОПб/зв зростав відповідно на 10,3 і 15,6%, а рівень ОПв знижувався відповідно на 11 і 17,9% щодо контролю (див. таблицю).

Біохімічні маркери фіброзу та коефіцієнти співвідношення ОПб/зв / ОПв ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=18)	Дослідна група, доба дослідження		
		6 доба (n=6)	15 доба (n=6)	30 доба (n=6)
ОПб/зв, мкМоль/л	166,69 \pm 9,24	177,62 \pm 10,39	183,89 \pm 11,48	192,77 \pm 11,53
кОПб/зв	1	1,07 \pm 0,06	1,10 \pm 0,07	1,16 \pm 0,07
ОПв, мкМоль/л	9,96 \pm 0,60	9,58 \pm 0,55	8,86 \pm 0,44	8,18 \pm 0,84
кОПв	1	0,96 \pm 0,06	0,89 \pm 0,04	0,82 \pm 0,08
кОПб/зв/кОПв	1	1,12 \pm 0,06	1,24 \pm 0,02	1,46 \pm 0,13*

Примітка. * – різниця вірогідна, порівняно з 6 добою дослідження, $P < 0,05$.

Розраховували коефіцієнти ОПб/зв (кОПб/зв) та ОПв (кОПв) і загальний коефіцієнт фіброзу кОПб/зв / кОПв, що дає змогу характеризувати прогресування фіброзних змін в організмі залежно від визначеної нами гістохімічної класифікації стадійності перебігу експериментального панкреатиту для короткочасової оклюзії панкреатичної протоки [9].

На 6 добу експерименту на запально-некротичній стадії гострого панкреатиту коефіцієнт співвідношення кОПб/зв / кОПв дорівнював $1,12 \pm 0,06$, на 15 добу експерименту на регенераторно-проліферативній стадії – $1,24 \pm 0,02$, на 30 добу експерименту на стадії відновлення – $1,46 \pm 0,13$ (при встановленій нормі 1 для псевдооперованих тварин). Коефіцієнт співвідношення кОПб/зв / кОПв у групі щурів на 30 добу дослідження був на 30,4% ($P < 0,05$) вищим, порівняно з аналогічним показником на 6 добу дослідження (див. таблицю).

Отже, результати гістохімічного дослідження панкреатобіоптатів свідчили про розвиток запально-некротичної стадії гострого панкреатиту у щурів на 6 добу експерименту. Після розсмоктування лігатури на 15 добу дослідження на встановленій регенераторно-проліферативній стадії спостерігалися тільки незначні фіброзні зміни підшлункової залози та відзначалися поодинокі осередки склерозування. На 30 добу експерименту на стадії відновлення спостерігалось поступове відновлення ацинарної тканини та відзначалися тільки незначні осередки фіброзної тканини. Визначення біохімічних маркерів фіброзу в крові щурів також показали незначні фіброзні зміни підшлункової залози на останньому етапі експериментального дослідження, що свідчить про відсутність хронічного панкреатиту у щурів, розвиток якого ми спостерігали при тривалій оклюзії панкреатичної протоки [3]. Це пов'язано з відновленням прохідності панкреатичної протоки у тварин після розсмоктування лігатури та, ймовірно, нормалізацією функціонування досліджуваного органа.

Для оцінки ступеня мембранної патології панкреатитів визначали вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові тварин і було встановлено його вірогідне збільшення у щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки на 6 добу дослідження на 28,2% ($5,91 \pm 0,23$ проти $4,61 \pm 0,40$ нМоль/мл; $P < 0,01$) щодо контролю, що свідчило про активацію процесів ліпопероксидації. На 15 добу спостерігалася максимальна інтенсифікація процесів ПОЛ – зростання рівня ТБК-активних продуктів щодо контролю на 43,1% ($6,44 \pm 0,24$ проти $4,50 \pm 0,33$ нМоль/мл; $P < 0,001$). На 30 добу експерименту відбувалося поступове «затухання» вільнорадикальних процесів, що виражалось відносно невисоким вмістом ТБК-активних продуктів у крові тварин. Отже, до кінця другого тижня хірургічної оклюзії відбувалася максимальна інтенсифікація процесів ліпопероксидації, що сприяло утворенню вторинних продуктів ПОЛ у крові.

Показано значний вплив ураження підшлункової залози на рівень МСМ, виражений збільшенням їхньої концентрації у плазмі крові щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки на 6 добу дослідження щодо контролю на 86,3% ($P < 0,001$), що свідчило про високий рівень ендогенної інтоксикації організму тварин. Трохи нижчий рівень МСМ відзначався на 15 добу експерименту, а був все ж вірогідно вищим на 49,1% ($P < 0,01$), порівняно з контролем. На стадії відновлення рівень МСМ значно знижувався, порівняно з попередніми показниками, на 6 (на 37,4%; $P < 0,01$) та 15 добу (рис. 3).

Накопичення ТБК-активних продуктів і МСМ у плазмі крові щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки, ймовірно, є взаємопов'язаним процесом, що підтверджується прямим кореляційним зв'язком між цими показниками ($r = 0,606$, $P < 0,05$).

Не виключено, що зміна фракцій МСМ при панкреатиті має безпосередній стосунок до розвитку патологічного процесу, тому спектр МСМ-230, МСМ-254, МСМ-280 можна

розглядати як об'єктивний критерій метаболічних порушень. Аналіз спектрів поглинання світла кислото-розчинної фракції плазми крові у діапазоні 230–280 нм показав, що всі фракції МСМ, які аналізувалися, в дослідних групах шурів перевищували контрольні показники. Так, середня концентрація МСМ, що містить переважно ендogenous патогени у вигляді білків-гістонів, продуктів руйнування ДНК, які вийшли з цитозолу в міжклітинне середовище і кров при порушенні цілісності клітинних мембран (нуклеарна фракція) та визначена при довжині хвилі 230 нм, у групі шурів з 6-добовою короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки вірогідно збільшилася на 102,3% ($P < 0,001$), з 15-добовою – на 44,9% ($P < 0,05$). Слід відзначити вірогідну різницю зниження рівня цього показника на 15 добу на 29,4% ($P < 0,05$) щодо 6 доби дослідження. Вміст МСМ-230 зростав у крові тварин групи з 30-добовою оклюзією панкреатичної протоки на 23,7% ($P < 0,05$), порівняно з контролем, але на 40,7% ($P < 0,05$) знижувався щодо 6 доби дослідження (рис. 4).

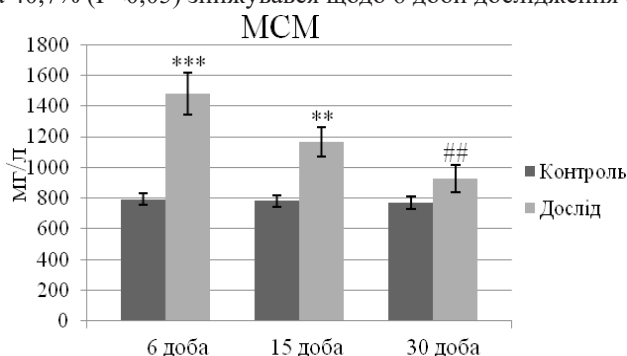


Рис. 3. Динаміка зміни вмісту молекул середньої маси у плазмі крові шурів: контроль – псевдооперовані тварини, $n=6$; дослід – шури з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки, $n=6$; **, *** – різниця вірогідна, порівняно з контролем, $P < 0,01$, $P < 0,001$ відповідно, $n=6$; ## – різниця вірогідна, порівняно з 6 добою дослідження, $P < 0,01$.

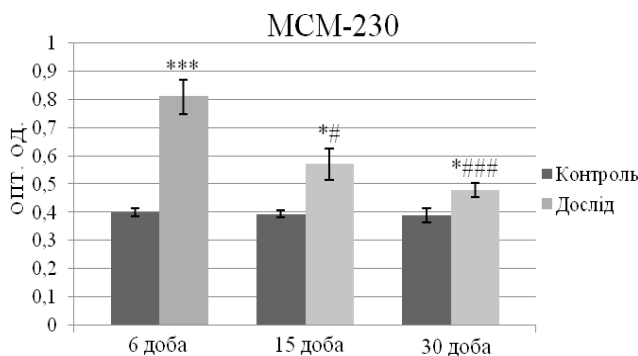


Рис. 4. Динаміка зміни вмісту МСМ-230 у плазмі крові шурів: контроль – псевдооперовані тварини, $n=6$; дослід – шури з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки, $n=6$; *, *** – різниця вірогідна, порівняно з контролем, $P < 0,05$, $P < 0,001$ відповідно, $n=6$; #, ### – різниця вірогідна, порівняно з 6 добою дослідження, $P < 0,05$, $P < 0,001$ відповідно, $n=6$.

Токсична фракція (визначається при довжині хвилі 254 нм) складається з гідрофобних токсинів, що мають високу спорідненість до біологічних структур, які містяться у плазмі в майже повністю зв'язаному стані у вигляді комплексів з альбуміном або ліпопротеїнами низької щільності, і змінюється менш суттєво. Вміст пептидної фракції МСМ-254 на 6 добу дослідження зростав на 129% ($P < 0,01$), порівняно з контролем (рис. 5).

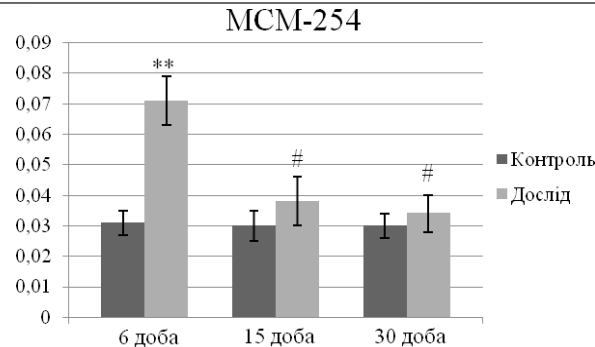


Рис. 5. Динаміка зміни вмісту МСМ-254 у плазмі крові щурів: контроль – псевдооперовані тварини, $n=6$; дослід – щури з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки, $n=6$; ** – різниця вірогідна, порівняно з контролем, $P<0,01$, $n=6$; #, ## – різниця вірогідна, порівняно з 6 добою дослідження, $P<0,05$, $P<0,01$ відповідно, $n=6$.

Вірогідних змін вмісту МСМ-254 у плазмі крові щурів з 15- і 30-добовою короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки, порівняно з контролем, не спостерігалось. Але слід зазначити вірогідну різницю зниження рівня даного показника на цих етапах експерименту порівняно з 6 добою дослідження: для 15 доби на 46,5% ($P<0,05$) і для 30 доби на 52,1% ($P<0,001$; рис. 5).

Середня концентрація МСМ-280 (фракція ароматичних хромофорів), визначена при довжині хвилі 280 нм у крові щурів на запально-некротичній стадії гострого панкреатиту, вірогідно збільшилася на 129,5% ($P<0,001$), порівняно з контролем. Вірогідного збільшення вмісту МСМ-280 щодо контролю не спостерігалось на 15 добу експерименту, проте цей показник знизився порівняно з відповідними вищевказаними значеннями на 6 добу дослідження на 49,5% ($P<0,001$). У щурів на стадії відновлення вміст МСМ-280 вірогідно знижувався на 54,5% ($P<0,001$), порівняно із запально-некротичною стадією гострого панкреатиту (рис. 6).

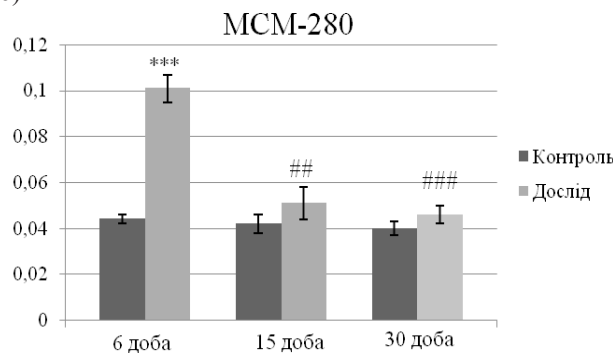


Рис. 6. Динаміка зміни вмісту МСМ-280 у плазмі крові щурів: контроль – псевдооперовані тварини, $n=6$; дослід – щури з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки, $n=6$; *** – різниця вірогідна, порівняно з контролем, $P<0,001$, $n=6$; #### – різниця вірогідна, порівняно з 6 добою дослідження, $P<0,001$, $n=6$.

Аналіз результатів показав визначальний вплив ураження підшлункової залози на рівень МСМ, що виражалось вірогідним збільшенням даного показника у плазмі крові щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки на 6 ($P<0,001$) та 15 ($P<0,01$) добу дослідження та свідчило про високий рівень ендотоксикації організму. На всіх етапах

дослідження виявлено вірогідне збільшення нуклеарної фракції МСМ-230 щодо контролю. Можливо, підвищення цієї фракції МСМ викликане збільшенням у крові залишків нуклеїнових кислот, що пов'язано з посиленням апоптозу панкреатитів, якому в останні роки відводиться істотне значення в патогенезі панкреатиту [4]. На 6 добу дослідження спостерігалось збільшення токсичної фракції МСМ-254, що складається з гідрофобних токсинів, і вірогідно ($P < 0,001$) підвищувалася фракція ароматичних хромофорів МСМ-280.

Отже, у щурів з короткочасовою оклюзією панкреатичної протоки на запально-некротичній стадії гострого панкреатиту й на регенераторно-проліферативній стадії відбувалося вірогідне збільшення у плазмі крові вмісту МДА і МСМ, що свідчить про розвиток неспецифічної ендогенної інтоксикації, та спостерігалось вірогідне збільшення нуклеарної фракції МСМ-230 і фракції ароматичних хромофорів МСМ-280.

На основі отриманих результатів сформульовані рекомендації щодо підвищення ефективності виявлення фіброзних змін у підшлунковій залозі: визначено інтервали коефіцієнтів співвідношення ОПб/зв до оксипроліну вільного ОПв (кОПб/зв / кОПв) для характеристики стадій панкреатиту.

Автор висловлює подяку завідувачу кафедри біофізики та біохімії Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара, професору Г.О. Ушаковій за допомогу в проведенні експериментальних досліджень і консультацію при написанні статті, а також завідувачу лабораторії патоморфології ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», докторові медичних наук Ю.А. Гайдару за допомогу у здійсненні гістохімічних досліджень панкреатобіоптатів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Губергриц Н. Б. Современные достижения европейской панкреатологии // Гастроентерология. 2013. Т. 47. № 1. С. 65–71.
2. Елеева М. А.-К. Состояние прооксидантной системы крови и уровень молекул средней массы у больных с инсультом // Вестн. новых медицинских технологий (Электронный журнал). 2013. № 1. 5 с.
3. Макарчук В. А., Ушакова Г. А. Содержание NSAM в головном мозге и поджелудочной железе крыс в условиях эндогенной интоксикации при экспериментальном хроническом панкреатите // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. Сер. біол., екол. 2014. Т. 22. № 2. С. 169–177.
4. Меринова Н. И., Козлова Н. М., Колесниченко Л. С. и др. Показатели перекисного окисления липидов и глутатионовой антиоксидантной защиты у больных с обострением хронического панкреатита // Saratov J. Med. Sci. Res. 2013. Vol. 9. N 2. P. 259–262.
5. Николайчик В. В., Моин В. М., Курковский В. В. и др. Способ определения «средних молекул» // Лабораторное дело. 1991. № 10. С. 13–18.
6. Никольская В. А., Данильченко Ю. Д., Меметова З. Н. Биохимический аспект рассмотрения роли молекул средней массы в организме // Ученые записки Таврич. ун-та. Сер. биол., хим. 2013. Т. 26(65). № 1. С. 139–145.
7. Овсяннікова Л. М., Альохіна С. М., Дробінська О. В. та ін. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: метод. рекомендації. К.: Чорнобильінтерінформ, 1999. 18 с.
8. Осадчук М. А. Методы исследования оксипролина в крови и моче // Лабораторное дело. 1979. № 8. С. 456–458.

9. Пат. 90510 Україна, МПК G 01 N 33/48. Спосіб біохімічної оцінки фіброзної трансформації підшлункової залози при запаленні, викликаному тривалою оклюзією панкреатичної протоки / В. А. Макарчук, Г.О. Ушакова, О.М. Бабій, Б.Ф. Шевченко, Н.Ю. Ошмянська. № u 2014 00484; заявл. 20.01.2014; опубл. 26.05.2014, Бюл. №10. 7 с.: іл.
10. *Петри А., Сэбин К.* Наглядная статистика в медицине: пособие. М.: Гэотар-Мед, 2003. 144 с.
11. *Сапожников А. Г., Доросевич А. Е.* Гистологическая и микроскопическая техника: руководство. Смоленск: САУ, 2000. 476 с.
12. *Тереценко О.А., Боташев А.А., Помещик Ю.В.* и др. Синдром эндогенной интоксикации и системной воспалительной реакции при желчном перитоните, осложненном абдоминальным сепсисом // Вестн. экспериментальной и клинической хирургии. 2012. Т. 5. № 4. С. 722–726.
13. *Тропина И. В., Морозов С. В., Долгих В. Т.* и др. Эндогенная интоксикация у больных с постнекротическими кистами поджелудочной железы // Вестн. ВолГМУ. 2010. Т. 33. № 1. С. 97–98.
14. *Шкловский В. М., Алферова В. В., Мисионжик Э. Ю.* и др. Значение синдрома эндогенной интоксикации для восстановления нарушенных функций после ишемического инсульта // Неврология. 2011. Т. 63. № 4. С. 27–30.
15. *Çöl C., Dinler K., Hasdemir O.* et al. Oxidative stress and lipid peroxidation products: effect of pinealectomy or exogenous melatonin injections on biomarkers of tissue damage during acute pancreatitis // Hepatobiliary Pancreat Dis. Int. 2010. Vol. 9. N 1. P. 78–82.
16. *Loury O. H., Rosenbrough N. J., Farr R. L., Randall R. J.* Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. N 2. P. 265–275.
17. *Page B. J., Toit D. F., Muller C. J. F.* et al. An immunocytochemical profile of the endocrine pancreas using an occlusive duct ligation model // J. Pancreas. 2000. Vol. 4. N 1. P. 191–203.
18. *Strate T., Yekebas E., Knoefel W. T.* et al. Pathogenesis and the natural course of chronic pancreatitis // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2002. Vol. 14. N 9. P. 929–934.
19. *Zhao J.-B., Liao D.-H., Nissen T. D.* Animal models of pancreatitis: Can it be translated to human pain study? // World J. Gastroenterol. 2013. Vol. 19. N 42. P. 7222–7230.

Стаття: надійшла до редакції 16.02.15

доопрацьована 12.05.15

прийнята до друку 29.05.15

DYNAMICS OF FREE-RADICAL PROCESSES AND THE LEVEL OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN RATS UNDER CONDITIONS OF SHORT-TERM OCCLUSION OF THE PANCREATIC DUCT

V. Makarchuk

*¹SI «Institute of Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»
96, Gazety "Pravda" Ave., Dnipropetrovsk 49074, Ukraine
e-mail: viktoriam7@gmail.com*

Experiment on laboratory rats showed that as a result of surgical occlusion of pancreatic duct by ligation with "Catgut" 4/0 on the 6th day of study acute pancreatitis has been developed. After resorption of ligatures (10 days) passability of the pancreatic duct was

restoring. On day 30th of the experiment the renewal of acinar tissue has been observed with only minor fibrotic changes in the organ. On the basis of morphological study all changes has been classified into three stages: inflammatory-necrotic stage of acute pancreatitis after 6 days, regenerative-proliferative stage after 15 days, and recovery stage after 30 days of experiment. Determination of biochemical markers of fibrosis in the rat blood confirmed the results of morphological studies. By the end of the second week of the experiment the maximum intensification of lipid peroxidation took place, which contributed to the formation of secondary products of lipid peroxidation in the blood. An increase in the level of endogenous intoxication has been shown, expressed by accumulation of medium-weight molecules in rat plasma, growth of nuclear, toxic fractions and fractions of chromophore.

Keywords: TBA-active products, molecules with average weight, protein-bound hydroxyproline, free hydroxyproline, pancreas.

ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ И УРОВНЯ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ОРГАНИЗМА КРЫС В УСЛОВИЯХ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ОККЛЮЗИИ ПАНКРЕАТИЧЕСКОГО ПРОТОКА

В. Макарчук

Государственное учреждение

«Институт гастроэнтерологии НАМН Украины»

пр. имени Газеты «Правда», 96, Днепропетровск 49074, Украина

e-mail: viktoriam7@gmail.com

В эксперименте на лабораторных крысах показано, что в результате хирургической окклюзии панкреатического протока лигатурой «Кетгут» 4/0 на 6 сутки развивался острый панкреатит. После рассасывания лигатуры (10 сутки) наблюдалось восстановление проходимости протока поджелудочной железы. На 30 сутки эксперимента определялись только незначительные фиброзные изменения органа. На основании результатов морфологического исследования панкреатобиоптатов была установлена на 6 сутки исследования воспалительно-некротическая стадия острого панкреатита, на 15 сутки – регенераторно-пролиферативная стадия и на 30 сутки – стадия восстановления. Определение биохимических маркеров фиброза в крови крыс подтвердили результаты морфологического исследования панкреатобиоптатов. Установлено, что к концу второй недели эксперимента происходила максимальная интенсификация процессов липопероксидации, что способствовало образованию вторичных продуктов ПОЛ в крови. Отмечалось увеличение уровня эндогенной интоксикации, выраженное высоким содержанием в плазме крови крыс молекул средней массы, ростом нуклеарной, токсической фракции и фракции ароматических хромофоров.

Ключевые слова: ТБК-активные продукты, молекулы средней массы, оксипролин белковосвязанный, оксипролин свободный, поджелудочная железа.