

Влияние гептрала на состояние ткани печени после ее резекции

В.Д.ЗАТОЛОКИН, А.А.ПЕРЬКОВ, Н.В.ЛУНЕВА

Influence of heptral on the condition of the liver tissue after its resection

V.D.ZATOLOKIN, A.A.PERKOV, N.V.LUNEVA

Орловский государственный университет

В опытах на 37 кроликах изучено влияние управляемой ишемии печени на ее морфофункциональное состояние при введении гептрала, принадлежащего к фармакологической группе гепатопротекторов. Проведено три серии экспериментов с пережатием печеночно-двенадцатиперстной связки на 20 и 30 минут и резекцией левой наружной доли печени. Показано, что операции без введения гептрала сопровождаются увеличением содержания продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и в ткани печени при этом происходят выраженные структурные изменения. Установлено, что гептрал уменьшает выраженность структурно-функциональных изменений в условиях длительной ишемии органа до 30 минут, обладает антиоксидантными свойствами, способствуя снижению интенсивности процессов ПОЛ.

Ключевые слова: гептрал, ишемия печени, гепатопротекторы, резекция печени

In experiments on 37 rabbits studied the influence of a controlled ischemia of the liver on its morphology and function when administered heptral, belonging to the pharmacological group hepatoprotectors. Three series of experiments with ligation hepatoduodenal ligament for 20 and 30 minutes and resection of the left outer lobe of the liver. It is shown that operation without the introduction of heptral are accompanied by increased content of lipid peroxidation (LPO) in liver tissue at the same time there are pronounced structural changes. Established that heptral reduces the severity of structural and functional changes in the liver in conditions of prolonged ischemia body up to 30 minutes, has antioxidant properties, helping to reduce the intensity of the processes LPO.

Key words: heptral, liver ischemia, hepatoprotectors, liver resection

Профилактика и лечение ишемического поражения печени при ее резекции в условиях обескровливания продолжает оставаться одной из наиболее актуальных проблем хирургической гепатологии. Основное место в патогенезе данной патологии занимает нарушение энергосинтезирующей функции дыхательной цепи митохондрий, вследствие ограничения аэробного образования энергии прогрессирующим дефицитом кислорода. Вследствие этого накапливаются активные формы кислорода с образованием свободных радикалов, истощаются запасы эндогенных антиоксидантов и активируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран, что в итоге приводит к повреждению и разрушению клеток органа [1, 2, 7]. Лечение ишемических расстройств, которые также могут возникать после пережатия печеночно-двенадцатиперстной связки (ПДС) во время резекции печени, достаточно сложно и не всегда бывает успешным. В связи с этим, возникает потребность в использовании веществ, способных тормозить ПОЛ, защищая тем самым печень от негативного воздействия гипоксии [3, 6].

Перспективным является применение гепатопротекторных и антиоксидантных препаратов, которые уменьшают образование активных форм кислорода и перекисных радикалов, оказывающих прямое по-

вреждающее действие на гепатоциты, улучшают энергообмен печени в условиях ишемии, повышая жизнеспособность органа [6, 10]. Однако многие препараты, используемые в борьбе с гипоксией, не всегда бывают достаточно эффективны и, поэтому, данная проблема еще далека от своего окончательного решения [12, 14].

Одним из наиболее перспективных препаратов является гептрал. Он обладает выраженными гепатопротекторными свойствами, для него также характерна антигипоксическая активность, ограничивающая перекисное окисление липидов при различных патологических процессах. Эти свойства открывают новые возможности в профилактике и борьбе с последствиями окислительного стресса [6, 9, 11].

Также имеется настоятельная потребность в изучении и разработке средств и способов продления безопасных сроков обескровливания печени в условиях оперативного лечения, поскольку до настоящего времени нет единого мнения о безопасных сроках выключения печени из кровообращения, после которого возникают морфофункциональные изменения в ней [4, 5, 13].

Целью работы явилось изучение влияния сроков обескровливания печени на ее морфофункциональное состояние без применения препаратов, защищающих паренхиму органа, и при введении гептрала.

Материалы и методы

Эксперименты выполнены на 37 кроликах обоего пола породы «Шиншилла» весом от 2,5 до 3 кг. В течение 7 суток они содержались на стандартном рационе вивария с целью адаптации к новой обстановке и выявления заболеваний. За 1 сутки до операции для подготовки желудочно-кишечного тракта животных прекращали кормить. Первая – контрольная - серия экспериментов состояла из одной группы интактных животных в количестве 5 особей. Вторая серия экспериментов (16 кроликов) включала в себя две группы опытов, в которых производили резекцию левой наружной доли печени в условиях обескровливания без применения гептрала. В первой группе (8 кроликов) пережимали ПДС на 20 минут, во второй группе (8 животных) блокировали ПДС на 30 минут. В третьей серии экспериментов (16 животных), состоявшей из двух групп опытов по 8 кроликов в каждой, производили резекцию левой наружной доли печени в условиях обескровливания с применением исследуемого препарата. Всем животным третьей серии за 1 час до операции внутривенно в краевую вену уха вводили гептрал в дозе 10 мг/кг веса. Внутривенное введение гептрала в дозе 10 мг/кг 1 раз в сутки продолжали на протяжении последующих 11 дней после операции. В первой группе опытов моделировали ишемию печени путем пережатия ПДС на 20 минут, во второй - на 30 минут. Верхнесрединную лапаротомию во второй и третьей сериях экспериментов выполняли под внутривенным гексеналовым наркозом (30 мг/кг). После пережатия ПДС производили резекцию левой наружной доли печени. Животных выводили из опыта через 30 минут после окончания операции в остром опыте и на 1, 3, 7, 14, 30-е сутки - в хроническом, путем передозировки анестетиков. У всех животных определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в гомогенате ткани печени по методу И.Д.Стальной с соавт. (1977) в модификации M.Uchiyama, M.Mihare (1978), производили гистологическое исследование препаратов печени [8]. Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средних арифметических (М) и средних ошибок средних (m). Достоверными считали различия при вероятности ошибки менее 5% ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Гистологическое исследование ткани печени у животных контрольной серии выявило, что гепатоциты несколько увеличены в размерах, имеют отчетливые границы, межбалочные пространства в виде узких щелей, пусты; цитоплазма клеток прозрачна, содержит многочисленные эозинофильные гранулы.

После 20-минутного сдавления ПДС без введения гептрала уже через 30 минут реперфузии содержание ДК увеличилось в 1,69 раза, а МДА в 1,78 раза (рис. 1, 2), достигая максимальных значений на 3-4 сутки после операции. По сравнению с контрольными данными

повышение значений ДК на этом сроке составляло 2,12 раза, МДА - 2,47 раза. Начиная с 7-х суток появлялась устойчивая тенденция к снижению содержания продуктов ПОЛ в гомогенате ткани печени, на рубеже 14-х суток эти показатели заметно уменьшались вплоть до исходных значений к 30-м суткам.

В этой группе опытов через 30 минут реперфузии отмечалось расширение синусоидов печеночных долек, умеренное полнокровие центральных вен с зонами зернистой дистрофии вокруг них и отек интерстиция в зоне триад, по периферии долек наблюдались единичные клетки в состоянии гидропического перерождения. Содержание гликогена в цитоплазме гепатоцитов на протяжении первых 3-х суток неуклонно снижалось вплоть до полного его отсутствия (рис. 3), центральные вены были расширены, с участками вакуольной дистрофии вокруг них, сохранялся межбалочный отек, продолжались процессы дисконфлексии долек.

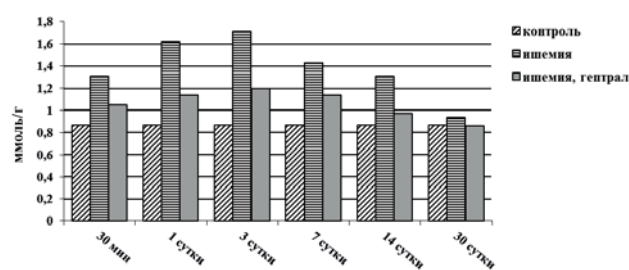


Рис. 1. Изменение содержания ДК после 20-минутной ишемии печени.

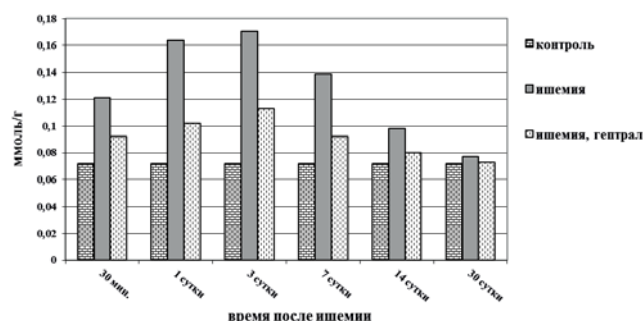


Рис. 2. Изменение содержания МДА после 20-минутной ишемии печени.

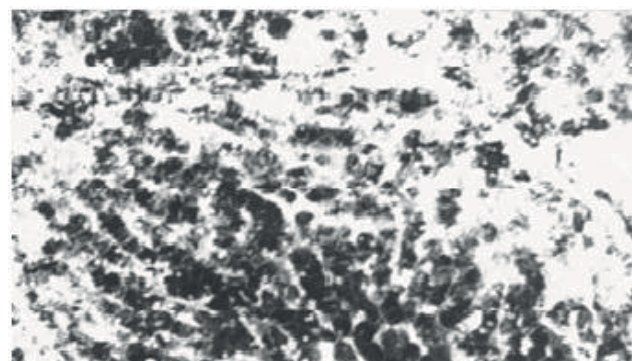


Рис. 3. Печень. Потеря гликогена. Пережатие ПДС на 20 минут. 1-е сутки после ишемии. Окраска по Мак-Манусу. Увеличение 500х.

Полнокровие сосудов, отмечавшееся в триадах, к 7-м суткам наблюдения купировалось. Начиная с 7-х суток эксперимента постепенно увеличивалось количество ШИК-положительных веществ, при этом на 14-е сутки встречались отдельные участки с явлениями зернистой дистрофии. К 30-м суткам ткань печени восстанавливалась.

После пережатия ПДС на 30 минут без введения гептрала через 30 минут реперфузии содержание ДК и МДА в гомогенате ткани печени по отношению к контрольным цифрам увеличивалось 2,32 и 2,67 раза, к концу первых суток достигало уже 4,48- и 4,36-кратных изменений, соответственно (рис. 4, 5).

Такое усиление интенсивности ПОЛ свидетельствовало о тяжелом ишемическом поражении печеночной ткани.

При морфологическом исследовании через 30 минут после снятия зажима с ПДС были выявлены признаки выраженных структурных изменений: неравномерное кровенаполнение центральных вен и синусоидов, нечеткие границы гепатоцитов, анизоцитоз ядер с деформацией многих из них, появление ишемизированных участков паренхимы. При дальнейшем наблюдении, вплоть до летального исхода экспериментальных животных, отмечалось резкое снижение содержания гликогена в гепатоцитах, множественные кровоизлияния по периферии долек с появлением участков некроза ткани печени различной величины (рис. 6).

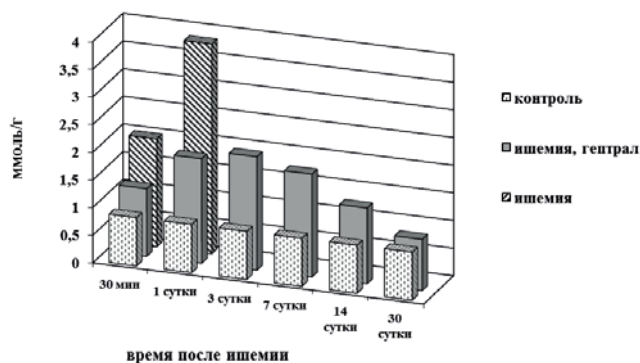


Рис. 4. Изменение содержания ДК после 30-минутной ишемии печени.

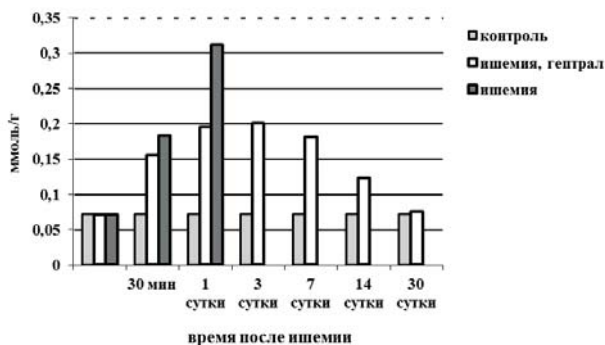


Рис. 5. Изменение содержания МДА после 30-минутной ишемии печени.

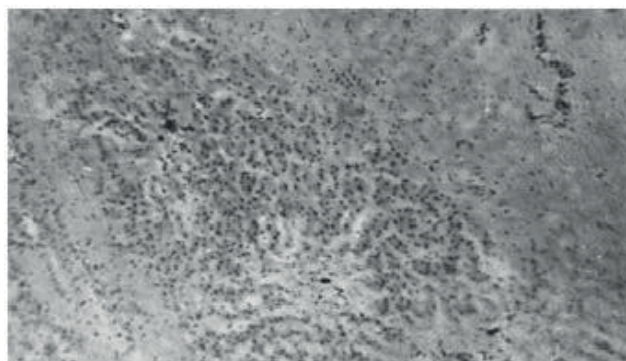


Рис. 6. Печень. Некроз гепатоцитов. Пережатие ПДС на 30 минут. 1-е сутки после ишемии. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение 280х.

После 20-минутной ишемии печени на фоне введения гептрала изменения уровня накопления продуктов ПОЛ в печеночной ткани при всех сроках наблюдения характеризовались более низким содержанием ДК и МДА по сравнению с данными, полученными в таких же условиях, но без использования препарата (рис.1, 2). Так, через 30 минут реперфузии показатели ДК и МДА были, соответственно, в 1,24 и 1,37 раза ниже аналогичных значений без гепатопротекторной поддержки. На 3-е сутки разрыв в показаниях вырос уже до 1,48 (ДК) и 1,62 (МДА) раз. Этому же периоду соответствуют максимальные числовые значения исследуемых продуктов ПОЛ. При сравнении с контрольными данными обращает на себя внимание положительное воздействие гептрала: содержание ДК увеличивалось лишь в 1,46 раза, МДА – в 1,69 раза. Это свидетельствует о том, что интенсивность процессов ПОЛ с применением препарата была менее выражена. Начиная с 7-х суток была выражена динамика нормализации рассматриваемых показателей, а с 14-х суток их значения были сопоставимы с исходными данными. К 30-м суткам наблюдения содержание ДК и МДА возвратилось к исходным значениям.

На фоне введения гептрала после 20-минутной ишемии печени на протяжении первых 3-х суток отсутствовали зоны вакуольной дистрофии, характерными были в значительной мере сохранность гранул гликогена в клетках и ускоренное восстановление его запасов с более быстрым накоплением ШИК-положительных веществ, появление в зоне триад единичных круглоклеточных инфильтратов, уменьшение количества участков зернистой дистрофии, отсутствие некротических изменений в гепатоцитах. Уже к 7-м суткам после операции содержание гликогена в гепатоцитах было достаточно высоким (рис. 7). На 14-е сутки ткань печени восстанавливала свою первоначальную структуру.

После 30-минутной ишемии на фоне введения гептрала содержание продуктов ПОЛ (рис. 4, 5) также возрастало: через 30 минут после устранения блокады ПДС количество ДК и МДА увеличилось, соответственно, в 1,45 и 2,18 раза, а к концу 1-х суток было

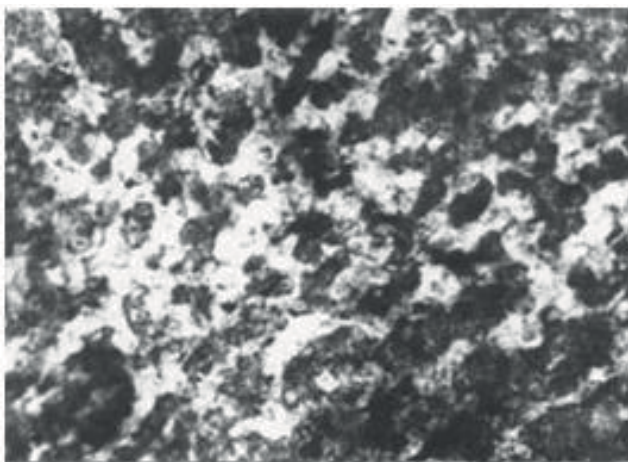


Рис. 7. Печень. Накопление гликогена. Ишемия 20 минут. Введение гептрала. 7-е сутки после пережатия ПДС. Окраска по Мак-Манусу. Увеличение 500х.

зафиксировано уже 2,29- и 2,76-кратное превышение исходных значений. Однако, несмотря на ощутимую интенсификацию ПОЛ, накопление его продуктов все же шло медленнее в 2,07 (ДК) и 1,64 (МДА) раза по сравнению с экспериментами при том же сроке ишемии, но без введения гептрала. Наиболее высокие значения продуктов ПОЛ в данной группе были получены на 3-и сутки: максимальное увеличение диеновых конъюгатов составило 2,49 раза, МДА - 2,88 раза. К 7-м суткам количество ДК и МДА начало постепенно снижаться, однако все еще оставалось достаточно высоким – отличие от исходных значений составляло 2,17 и 2,61 раза. В дальнейшем содержание продуктов ПОЛ в гомогенате ткани печени продолжало уменьшаться и к 30-м суткам числовые значения были сопоставимы с исходными.

Морфологические изменения в ткани печени после 30-минутной аноксии с применением гептрала отличались более медленным расходом энергетического запаса клеток по сравнению с соответствующей группой экспериментов без введения препарата, зон некроза и кровоизлияний по периферии долек выявлялось значительно меньше, анизоцитоз ядер встречался в единичных случаях, четкие границы у многих гепатоцитов отсутствовали, гидропическая и зернистая дистрофии занимали значительные площади печеночной паренхимы, кровенаполнение центральных вен и синусоидов было неравномерным. На протяжении первых трех суток большое количество лейкоцитов располагалось между печеночными дольками и балками, дисциркуляторные расстройства в ткани печени проявлялись дилатацией и полнокровием сосудов, ШИК-положительные вещества отсутствовали (рис. 8).

Однако зоны некроза не расширялись, количество их не увеличивалось. К 7-м суткам эксперимента выраженная вакуолизация в цитоплазме клеток все еще сохранялась, но начиная с этого срока на периферии печеночных долек появлялась жировая инфильтрация гепатоцитов и начинал накапливаться глико-

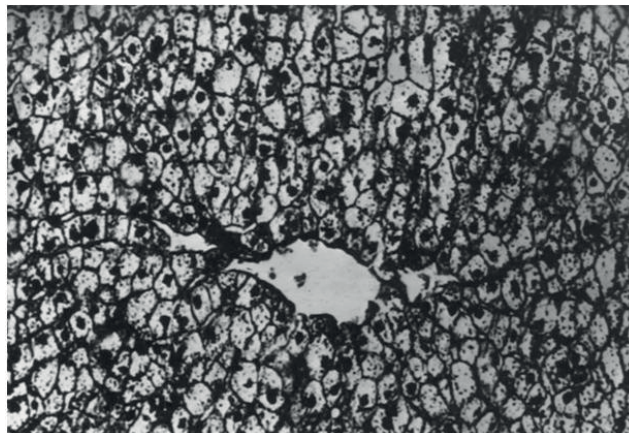


Рис. 8. Печень. Пережатие ПДС на 30 минут. Вакуольная дистрофия, отсутствие ШИК-положительных веществ. Введение гептрала. 3-е сутки после ишемии. Окраска по Мак-Манусу. Увеличение 500х.

ген. На 14-е сутки количество участков гидропической и зернистой дистрофии уменьшалось, в цитоплазме продолжалось накопление гранул гликогена вплоть до 30-х суток наблюдения.

Таким образом, введение гептрала при 20- и 30-минутной ишемии печени снижало интенсивность процессов ПОЛ на протяжении всего периода наблюдения и способствовало их нормализации, что препятствовало развитию тяжелых ишемических изменений в органе, значительно уменьшало степень поражения ткани печени вследствие гипоксии и обеспечивало как превентивный, так и лечебный эффекты.

Выводы

1. Гептрал обладает антиоксидантными свойствами, способствуя выраженному снижению интенсивности процессов ПОЛ.

2. Применение гептрала значительно уменьшает выраженность структурно-функциональных изменений в печени в условиях длительной ишемии органа до 30 минут.

3. Введение гептрала в дозировке 10 мг/кг веса животного позволяет производить резекцию печени в условиях ее обескровливания на срок до 30 минут.

Список литературы

1. *Биленко М.В.* Теоретические и экспериментальные обоснования применения антиоксидантной терапии для профилактики острых ишемических повреждений в органах. В кн: *Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии.* М.: Медицина. 1982; 195-213.
2. *Биленко М.В.* Ишемическое и реперфузионное повреждение органов. В кн: *Молекулярные механизмы и пути предупреждения и лечения.* М.: Медицина. 1989; 157.
3. *Болдырев А.А.* Окислительный стресс и мозг. *Соросовский образовательный журнал.* 2001; 7: 21-27.

4. *Веронский Г.И.* О методах резекции печени. *Анналы хирургической гепатологии.* 2006; 11: 1: 85-88.
5. *Вишневский В.А., Кубышкин В.А., Чжао А.В., Икрамов Р.З.* Операции на печени. Руководство для хирургов. М.: Миклош. 2003; 156.
6. *Горбаков В.В., Калинин А.В., Галик В.П., Каршиева А.В.* Гептрал – новое средство лечения диффузных заболеваний печени. *Рос. журн. гастроэнтеролог., гепатол., колопроктол.* 1998; 8: 4: 98-102.
7. *Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б.* Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологические аспекты. М.: МАИК «Наука/Интерпериодика». 2001; 343.
8. *Камышников В.С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике (в 2-х томах). Минск. 2000; 463.
9. *Курпатов В.И., Курпатова Н.П.* Применение антидепрессантов в общей медицинской практике. *Terra Medica.* 2000; 3: 23-25.
10. *Панин Л.Е., Шалбуева Н.И., Максимов В.Ф., Поляков Л.М. и др.* Структурные изменения и особенности окислительного фосфорилирования в митохондриях печени крыс линии ОХYS. *Биол. мембраны.* 2004; 1: 21: 32–37.
11. *Яковенко Э.П., Григорьев П.Я., Агафонова Н.А. и др.* Внутривеночный холестаза – от патогенеза к лечению. *Практикующий врач.* 1998; 13: 2: 20-24.
12. *Berk P.D., Jansen P.L.M.* Hepatic transporters, hepatic transport and its diseases. *Semin. Liver Dis.* 2000; 20: 247-408.
13. *Kokevling F., Schwartz S.I.* Liver surgery. GmbH. 2001; 232.
14. *Volff A.A., Rotmensch H.H., Stanley W.C., Ferrari R.* Metabolic approaches to the treatment of ischemic heart disease: the clinician's perspective. *Heart Failure Reviews.* 2002; 7: 187-203.

Поступила 12.10.2011 г.

Информация об авторах

1. Затолокин Василий Данилович - д.м.н., проф., зав. кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии с курсом факультетской хирургии медицинского института Орловского государственного университета, заслуженный деятель науки РФ, академик АМТН РФ; e-mail: anperkov@yandex.ru
2. Перьков Андрей Алексеевич – к.м.н., соискатель кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии с курсом факультетской хирургии медицинского института Орловского государственного университета; e-mail: anperkov@yandex.ru
3. Лунева Наталья Васильевна – к.м.н., старший преподаватель кафедры пропедевтики Курского государственного медицинского университета; e-mail: anperkov@yandex.ru