

К вопросу о морфо-функциональных изменениях в печени при ее резекции на фоне антиоксидантной терапии

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

Features modification of proteometabolism as the extent hepatectomy

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

Медицинский институт Орловского государственного университета
Курский государственный медицинский университет

Изучено влияние сроков обескровливания печени на ее морфо-функциональное состояние при введении антиоксиданта мексикора. Проведено три серии экспериментов на 78 кроликах при пережатии печеночно-двенадцатиперстной связки на 20 и 40 минут и резекции левой наружной доли печени. Показано, что операции без введения мексикора сопровождаются увеличением содержания продуктов перекисного окисления липидов и в ткани печени при этом происходят выраженные структурные изменения.

Ключевые слова: резекция печени, мексикор®, ишемия печени, антиоксиданты

The study the effects on blood protein of extent hepatectomy under anatomic and atypical methods operation. In experiments on a 27 dogs was demonstrated that operative trauma oppressed proteometabolism, but anatomic liver resections impacting on modification of quantitative and qualitative changes of serum blood protein in a less degree.

Key words: hepatic resection, protein, proteometabolism, blood serum

Проблема профилактики и лечения ишемического поражения печени при ее резекциях в условиях обескровливания продолжает оставаться одной из наиболее актуальных задач современной хирургической гепатологии. В патогенезе данной патологии основное место занимает нарушение энергосинтезирующей функции дыхательной цепи митохондрий вследствие ограничения аэробного образования энергии прогрессирующим дефицитом кислорода.

В результате накапливаются активные формы кислорода с образованием свободных радикалов, истощаются запасы эндогенных антиоксидантов и активируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) клеточных мембран, что в конечном итоге приводит к повреждению и разрушению клеток органа [1, 2, 7].

Лечение ишемических расстройств, в том числе возникающих вследствие пережатия печеночно-двенадцатиперстной связки (ПДС) во время резекции печени, весьма сложно и не всегда бывает успешным. В связи с этим становится очевидной целесообразность использования веществ, способных тормозить ПОЛ и тем самым защищать печень от гипоксии [3].

Значительный интерес вызывает перспектива использования гепатопротекторных и антиоксидантных препаратов, которые улучшают энергообмен печени в условиях ишемии, тем самым повышая ее жизнеспособность, уменьшают образование активных форм кислорода и перекисных радикалов, оказывающих прямое повреждающее действие на гепатоциты [10].

Однако многие антиоксиданты, не всегда бывают достаточно эффективны и поэтому, несмотря на наличие широкого спектра препаратов, используемых в борьбе с гипоксией, данная проблема еще далека от окончательного решения [12, 14].

Наиболее перспективными препаратами этой группы оказались производные 3-оксипиридина, представителем которых является новый отечественный препарат мексикор. Он обладает выраженными антигипоксантами свойствами, способствует аэробному окислению глюкозы, предотвращает накопление свободных радикалов в тканях печени. Также для мексикора характерна выраженная антиоксидантная 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].

До настоящего времени также нет единого мнения о безопасных сроках выключения печени из кровообращения, после которого возникают морфо-функциональные изменения в ней [4, 5, 13]. Имеется настоятельная потребность в изучении и разработке средств и способов продления безопасных сроков обескровливания печени в условиях оперативного лечения.

Целью работы явилось изучение влияния сроков обескровливания печени на ее морфо-функциональное состояние без применения антиоксидантных препаратов и при введении мексикора.

Материалы и методы

Эксперименты были выполнены на 78 кроликах обоего пола весом от 2500 до 3000 грамм. 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 опытов (6 интактных животных). Вторая серия экспериментов (36 кроликов) включала в себя две группы опытов, в которых производили резекцию левой наружной доли печени в условиях обескровливания без применения мексикора. В первой группе из 18 кроликов производили пережатие ПДС на 20 минут, во второй группе, также состоявшей из 18 животных, блокировали ПДС на 40 минут. В третьей серии экспериментов (36 животных), состоявшей из двух групп опытов по 18 кроликов в каждой, производилась резекция левой наружной доли печени в условиях обескровливания с применением антиоксидантной поддержки. Всем животным третьей серии за 1 час до операции внутривенно струйно вводили мексикор в дозе 8 мг/кг веса. Введение мексикора в дозе 8 мг/кг 1 раз в сутки продолжали на протяжении последующих 10 дней после операции. В первой группе опытов моделировали ишемию печени путем пережатия ПДС на 20 минут, во второй группе - на 40 минут. Верхнесрединную лапаротомию во второй и третьей сериях экспериментов выполняли под внутривенным гексеналовым наркозом (30 мг/кг). После пережатия печеночно-двенадцатиперстной связки (ПДС) производили резекцию левой наружной доли печени. Животные выводились из опыта через 30 минут после окончания операции в остром и на 1, 3, 7, 14, 30 сутки в хроническом опыте путем передозировки анестетиков. У всех животных определяли содержание диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в гомогенате ткани печени, производили гистологическое исследование препаратов печени [8]. Статистическая обработка результатов исследования проводилась путем вычисления средних арифметических (M) и средних ошибок средних (m). Достоверными считали различия при вероятности ошибки менее 5% ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

У животных контрольной серии при гистологическом исследовании ткани печени выявлено следующее. Цитоплазма гепатоцитов прозрачна, содержит многочисленные эозинофильные гранулы. Клетки несколько увеличены в размерах, имеют отчетливые границы. Межбалочные пространства пусты, имеют вид узких щелей. В цитоплазме гепатоцитов большое количество ШИК-положительных веществ.

После 20-минутного блока ПДС без предварительного введения мексикора уже через 30 минут после восстановления кровотока содержание ДК увели-

чилось в 1,5 раза, а МДА в 1,7 раза (рис. 1, 2), достигая максимальных своих значений на третьи сутки после операции: по сравнению с контрольными данными повышение значений диеновых конъюгатов составляло 2 раза, малонового диальдегида - 2,4 раза. Начиная с 7-х суток проявлялась тенденция к устойчивому снижению содержания продуктов ПОЛ в гомогенате ткани печени, на середине отрезка наблюдения (14 суток) эти показатели заметно уменьшались вплоть до полного восстановления к 30-м суткам.

При гистологическом исследовании ткани печени в этой группе опытов через 30 минут реперфузии наблюдалось умеренное полнокровие центральных вен с зонами зернистой дистрофии вокруг них и отек интерстиция в зоне триад, расширение синусоидов печеночных долек и единичные клетки в состоянии гидропического перерождения по периферии долек. На протяжении первых трех суток содержание гликогена в цитоплазме гепатоцитов неуклонно снижалось вплоть до полного его отсутствия (рис. 3), продолжались процессы дисконформации долек, сохранялся межбалочный отек, центральные вены были расширены, с участками вакуольной дистрофии вокруг них. В триадах отмечалось полнокровие сосудов, которое к седьмым суткам наблюдения купировалось. Начиная с 7 суток эксперимента постепенно увеличивалось количество ШИК-положительных веществ, хотя и на 14

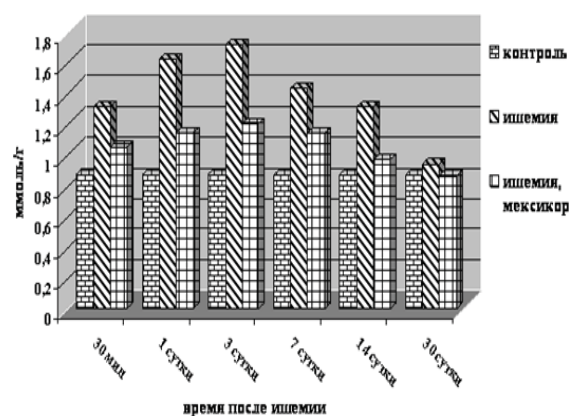


Рис. 1. Изменение содержания ДК под воздействием 20-минутной ишемии печени.

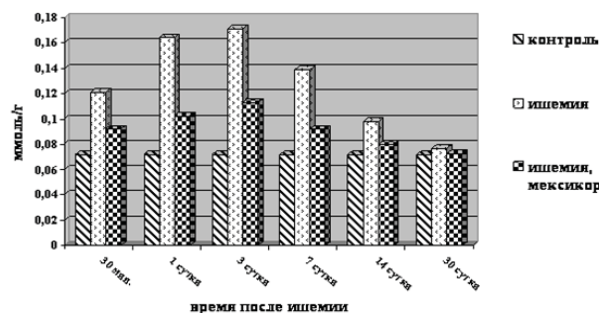


Рис. 2. Изменение содержания МДА под воздействием 20-минутной ишемии печени.

сутки встречались отдельные участки с явлениями зернистой дистрофии. К 30-м суткам ткань печени восстанавливалась.

После пережатия ПДС на 40 минут без антиоксидантной защиты через 30 минут реперфузии содержание ДК и МДА в гомогенате ткани печени по отношению к контрольным цифрам достоверно увеличивалось 2,2 и 2,6 раза, к концу первых суток достигало уже 4,4- и 4,3-кратных изменений соответственно (рис. 4, 5).

Подобное усиление интенсивности процессов ПОЛ свидетельствовало об усугублении состояния печеночной ткани, вызванного 40-минутным обескровливанием последней и о тяжелом ишемическом ее поражении.

Морфологическое исследование через 30 минут после операции выявило выраженные структурные изменения: нечеткие границы гепатоцитов, анизоцитоз ядер с деформацией многих из них, неравномерное кровенаполнение центральных вен и синусоидов, появление ишемизированных участков паренхимы. При дальнейшем наблюдении на протяжении первых суток, 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).

Изменения уровня накопления продуктов ПОЛ в ткани печени после 20-минутной ее ишемии на фоне

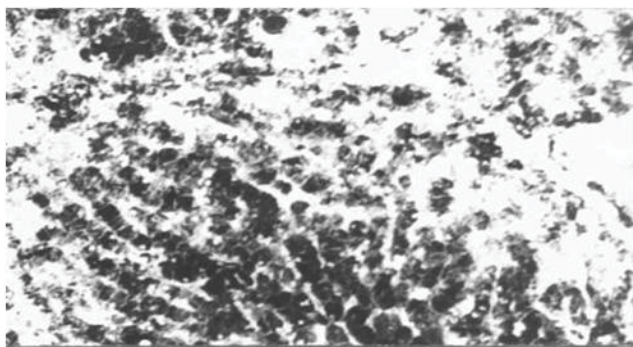


Рис. 3. Печень. Потеря гликогена. Пережатие ПДС на 20 минут. 1 сутки после ишемии. Окраска по Мак-Манусу. Увеличение 500х.

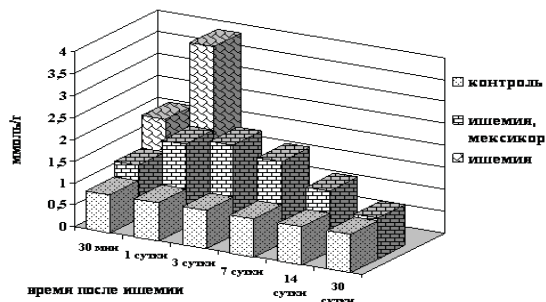


Рис. 4. Изменение содержания ДК под воздействием 40-минутной ишемии печени.

введения мексикора 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 ДК и МДА были соответственно в 1,2 и 1,3 раза ниже аналогичных значений без антиоксидантной поддержки. На 3 сутки разрыв в показаниях вырос уже до 1,4 (ДК) и 1,5 (МДА) раз. Этому же периоду соответствуют максимальные числовые значения исследуемых продуктов ПОЛ. Сравнение с контрольными данными выявило положительное воздействие мексикора: содержание ДК увеличивалось лишь в 1,4 раза, МДА – в 1,6 раза. То есть степень повышения интенсивности процессов ПОЛ с применением препарата была менее выражена. Начиная с 7-х суток динамика нормализации рассматриваемых показателей была заметной и уже начиная с 14-х суток их значения были сопоставимы с исходными данными. К 30-м суткам наблюдения содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов возвратилось к своим исходным значениям.

После 20-минутной ишемии печени на фоне введения мексикора на протяжении первых трех суток отсутствовали зоны вакуольной дистрофии, харак-

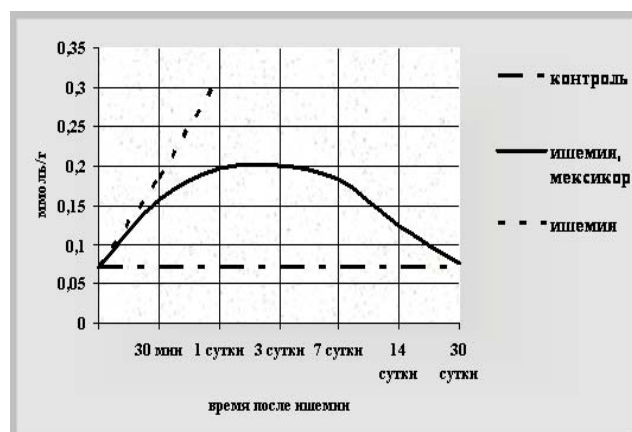


Рис. 5. Изменение содержания МДА под воздействием 40-минутной ишемии печени.

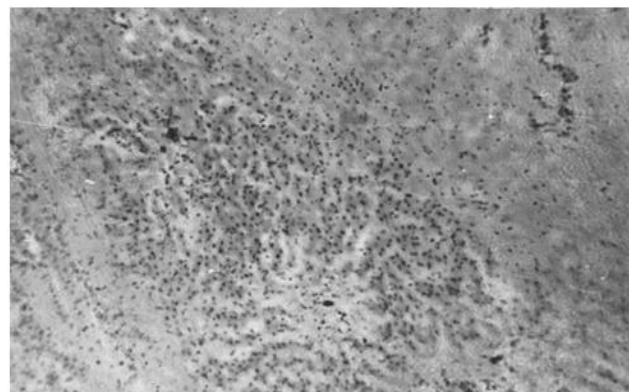


Рис. 6. Печень. Некроз гепатоцитов. Пережатие ПДС на 40 минут. 1 сутки после ишемии. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение 280х.

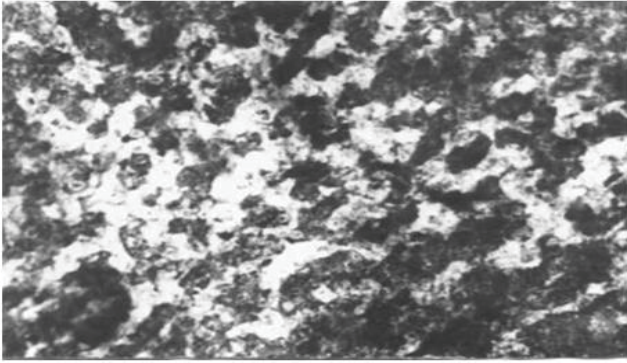


Рис. 7. Печень. Накопление гликогена. Ишемия 20 минут. Введение мексикора. 7-е сутки после пережатия ПДС. Окраска по Мак-Манусу. Ув. 500х.

терными 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 суткам после операции содержание гликогена в гепатоцитах было достаточно высоким (рис. 7). В итоге на 14 сутки эксперимента ткань печени восстанавливала свою первоначальную структуру.

На фоне 40-минутной ишемии после введения мексикора содержание продуктов ПОЛ (рис. 4, 5) возросло: через 30 минут после снятия блокады ПДС количество ДК и МДА увеличилось соответственно в 1,4 и 2,1 раз, а к концу 1-х суток значения составили уже 2,2- и 2,7-кратное превышение. Однако, несмотря на ощутимую интенсификацию ПОЛ, накопление его продуктов все же шло медленнее в 2,0 (ДК) и 1,6 (МДА) раза по сравнению с экспериментами при том же сроке ишемии, но без введения мексикора. Дальнейшее наблюдение показало, что наиболее высокие значения были получены на 3 сутки: максимальное увеличение диеновых конъюгатов составило 2,4 раза, малонового диальдегида - 2,8 раза. К 7 суткам количество ДК и МДА начало постепенно снижаться, однако все еще оставалось на достаточно высоких цифрах – отличие от исходных значений составляло 2,1 и 2,5 раза. В дальнейшем показатели ПОЛ медленно снижались и к 30-м суткам были сопоставимы с исходными.

Морфологические изменения в ткани печени после 40-минутной аноксии с применением мексикора отличались тем, что энергетический запас клеток расходовался медленнее, чем в соответствующей группе экспериментов без введения антиоксиданта, анизотоз ядер встречался в единичных случаях, зон некроза и кровоизлияний по периферии долек выявлялось значительно меньше, кровенаполнение центральных вен и синусоидов было неравномерным, четкие границы у многих гепатоцитов отсутствовали, гидропическая и зернистая дистрофии занимали значитель-

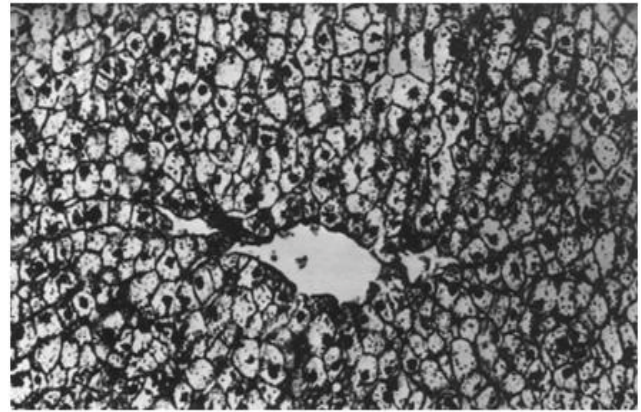


Рис. 8. Печень. Пережатие ПДС на 40 минут. Вакуольная дистрофия, отсутствие ШИК-положительных веществ. Введение мексикора. 3 сутки после ишемии. Окраска по Мак-Манусу. Увеличение 500х.

ные площади печеночной паренхимы. На протяжении первых трех суток определялось большое количество лейкоцитов 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. На 7 сутки эксперимента выраженная вакуолизация в цитоплазме клеток все еще сохранялась, но в этот период на периферии печеночных долек появлялась жировая инфильтрация гепатоцитов и начинал накапливаться гликоген. Начиная с 14 суток количество участков гидропической и зернистой дистрофии уменьшалось, в цитоплазме продолжалось накопление гранул гликогена. Эти процессы продолжались вплоть до 30-х суток наблюдения.

Таким образом, результаты данного исследования свидетельствуют о том, что введение мексикора при 20- и 40-минутной ишемии заметно снижало образование продуктов ПОЛ на протяжении всего периода наблюдения и способствовало быстрее их нормализации, что препятствовало развитию ишемических изменений в органе, значительно уменьшало риск возможного поражения печени вследствие гипоксии и обеспечивало как превентивный, так и лечебный эффекты.

Выводы

1. Введение мексикора значительно уменьшает степень структурно-функциональных изменений в печени, проявляя выраженную антиоксидантную и антигипоксическую активность в условиях длительной ишемии органа до 40 минут.
2. Применение мексикора способствует выраженному снижению интенсивности процессов ПОЛ.
3. Введение мексикора в дозировке 8 мг/кг веса животного позволяет производить резекцию печени в условиях ее обескровливания на допустимых сроках до 40 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. *Голиков А.П., Давыдов Б.В., Руднев Д.В. и др.* Влияние мексикора на окислительный стресс при остром инфаркте миокарда. Кардиология 2005; 7: 21–26.
7. *Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б.* Окислительный стресс. Биохимический и патофизиологические аспекты. М.: МАИК "Наука/Интерпериодика" 2001; 343.
8. *Камышиников В.С.* Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике (в 2-х томах). Минск 2000; 463.
9. *Клебанова Е.М., Балаболкин М.М., Креминская В.М. и др.* Липидснижающее и антиоксидантное действие мексикора у больных сахарным диабетом. Терапевтический архив. 2006; 78; 8: 1–4.
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 ОХУС. Биол. мембраны 2004; 1(21): 32–37.
11. *Сернов Л. Н., Смирнова Л. Д., Шапошникова Г. И., Гуранова Н.Н.* Клинико-экспериментальное исследование противоишемической и гиполлипидемической активности мексикора. Клини. исследования лекарственных средств в России 2004; 1: 24–28.
12. *Berk P.D. Jansen P.L.M.* Hepatic transporters, hepatic transport and its diseases. Semin. Liver Dis. 2000; 20: 247–408.
13. *Kokeyling 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 clinicians perspective. Heart Failure Reviews 2002; 7: 187–203.

Информация об авторах

1. Затолокин Василий Данилович – д.м.н., профессор, заслуженный деятель науки РФ, академик АМТН, заведующий кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии с курсом факультетской хирургии медицинского института Орловского государственного университета; e-mail: zatolokin@mail.ru
2. Перьков Андрей Алексеевич – 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: zatolokin@mail.ru

Поступила: 17.06.2010 г.