

УДК 577.1:612.015.32:591.2-001.6:616.37-002

В. А. Макарчук, Г. О. Ушакова

*Інститут гастроентерології НАМН України, Дніпропетровськ
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

**ДИНАМІКА ЗМІНИ ПОКАЗНИКІВ СИСТЕМИ ПОЛ-АОЗ,
ВУГЛЕВОДНОГО ТА ЛІПІДНОГО ОБМІНУ В КРОВІ
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ ЩУРІВ ПРИ ПЕРЕХОДІ
ГОСТРОГО ПАНКРЕАТИТУ У ХРОНІЧНУ ФОРМУ**

У результаті перев'язування щурам-самцям головного панкреатичного протоку у хвостовому відділі підшлункової залози у них спочатку розвивався гострий панкреатит, який поступово переходив у хронічну форму. У крові експериментальних тварин досліджено вміст показників перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), стан системи антиоксидантного захисту (АОЗ), вуглеводного та ліпідного обміну. У щурів із хронічним панкреатитом відбувається значна інтенсифікація процесів ліпопероксидації, пригнічення антиоксидантного захисту, гіперглікемія та гіперліпідемія.

В. А. Макарчук, Г. А. Ушакова

*Інститут гастроентерології НАМН України, Дніпропетровськ
Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара*

**ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ СИСТЕМЫ ПОЛ-АОЗ,
УГЛЕВОДНОГО И ЛИПИДНОГО ОБМЕНА В КРОВИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС ПРИ ПЕРЕХОДЕ
ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА В ХРОНИЧЕСКУЮ ФОРМУ**

В результате перевязывания крысам-самцам главного панкреатического протока в хвостовом отделе поджелудочной железы у них сначала развивался острый панкреатит, который постепенно переходил в хроническую форму. В крови экспериментальных крыс исследовано содержание показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ), состояние системы антиоксидантной защиты (АОЗ), углеводного и липидного обмена. Установлено, что у крыс с хроническим панкреатитом происходит значительная интенсификация процессов липопероксидации, угнетение антиоксидантной защиты, гипергликемия и гиперлипидемия.

V. A. Makarchuk, G. O. Ushakova

*Institute of Gastroenterology of NAMS of Ukraine, Dnipropetrovsk,
Oles Honchar Dniropetrovsk National University*

**DYNAMICS OF SYSTEMS POL-AOP, CARBOHYDRATE
AND LIPID METABOLISM IN BLOOD OF EXPERIMENTAL RATS
IN TRANSITION OF ACUTE PANCREATITIS IN CHRONIC FORM**

In consequence of ligation of the main duct in pancreatic tail section of male rats the acute pancreatitis had developed but it gradually turned into a chronic form. In the blood of experimental animals processes of lipid peroxidation (LPO), the state of antioxidant protection system (AOP), carbohydrate and lipid me-

tabolism were studied. In rats with chronic pancreatitis the significant intensification of lipid peroxidation, inhibition of antioxidant system, hyperglycaemia, and hyperlipidaemia were found.

Вступ

Підшлункова залоза відіграє унікальну роль в організмі людини. Вона виконує екзокринну та ендокринну функції – бере участь у процесі травлення та регуляції вуглеводного та інших видів обміну [4; 17; 25]. Встановлено чіткий взаємозв'язок між патологією підшлункової залози (хронічним панкреатитом) і порушенням ліпідного та вуглеводного метаболізму [6].

За останні роки в усьому світі та Україні спостерігається збільшення кількості хворих на гострий і хронічний панкреатит. У структурі шлунково-кишкового тракту ця патологія становить 5,1–9,0 % [13; 21]. Значний ріст захворюваності на гострий панкреатит, його трансформація у хронічну форму в 15–30 % випадків робить актуальними дослідження патогенетичних механізмів даної патології та пошук методів її корекції. Хронічний панкреатит – прогресуюче поліетіологічне запальне захворювання підшлункової залози, яке супроводжується розвитком її зовнішньо- та внутрішньо-секреторної недостатності. Ця патологія характеризується наявністю запального інфільтрату, прогресуючою деструкцією ацинарних клітин і фіброзом, що спричинює руйнування тканини залози [15; 28].

Роль біохімічних порушень у розвитку панкреатиту розкрита недостатньо. Не до кінця з'ясовано причини характерних змін інтенсивності ПОЛ у періоди загострення запального процесу у підшлунковій залозі та місце цих процесів у структурі факторів, що пошкоджують панкреатици [1]. Деякі автори вважають, що провідна роль у патогенезі гострого панкреатиту належить окиснювальному стресу [19], суть якого полягає у посиленні вільнорадикальних процесів за умов гострої локальної гіпоксії. При цьому протеолітичні та ліполітичні ензими, що містяться в неактивному стані всередині панкреатитів, можуть там само чи при виході із клітин підлягати атаці активних форм кисню та перетворюватися на свою активну форму. Подальше підтримання ПОЛ на значно вищому, ніж у нормі, рівні забезпечує гіпоксія тканини підшлункової залози та депресія системи АОЗ [18]. Таким чином, порушення балансу між активністю дії прооксидантних чинників і ефективністю антиоксидантної системи захисту організму, яке викликає окислювальний стрес, вважається універсальним механізмом розвитку багатьох захворювань [7; 26], у тому числі панкреатиту [18; 24].

Відмічено пряму залежність між ступенем морфологічних склеротичних змін паренхіми підшлункової залози та вираженістю функціональних порушень обміну глюкози [14; 27]. Вважається, що в основі розвитку цих змін лежить ураження клітин острівкового апарату залози, у результаті чого зменшується кількість і активність бета-клітин, а також число рецепторів інсуліну, розвивається інсулінорезистентність із поступовим порушенням вуглеводного та ліпідного метаболізму [16].

Мета цієї роботи – оцінити динаміку змін показників системи ПОЛ – АОЗ, вуглеводного та ліпідного обміну в крові експериментальних щурів при переході гострого панкреатиту у хронічну форму.

Матеріал і методи досліджень

Експеримент проводили на білих лабораторних щурах-самцях (вік – 6 місяців, 190–200 г) згідно з Положенням про використання тварин у біомедичних дослідках [5]. Щури перебували у стандартних умовах із природною зміною освітлення та дотриманням загальновіварійного раціону. В усіх тварин був вільний доступ до їжі та води.

За 20 годин до експерименту щурів піддавали харчовій депривації при вільному доступі до води. Для моделювання панкреатиту тваринам під наркозом (етамінал натрію, 85 мг/кг) шляхом хірургічного втручання здійснювали перев'язування (лігатуру) головного панкреатичного протоку у хвостовій частині підшлункової залози [20] ниткою «Кетгут», що не розсмоктується, 3/0. Операційну рану після маніпуляції зашивали пошарово.

Експериментальних тварин поділили на три групи (по шість у кожній): I група – із гострим панкреатитом (6-та доба після операції), II група – перехідна між гострим і хронічним панкреатитом (15-та доба після операції) та III група – із хронічним панкреатитом (30-та доба після операції). Контрольну групу склали 6 псевдооперованих щурів, яким здійснювали лише розтин шкірного покриву на череві та відразу його зашивали.

Після закінчення експерименту на 6, 15 і 30-ту добу тварин декапітували, попередньо увівши етамінал натрію. Гепаринізовану кров розділяли на плазму та червонокривці. Для оцінки інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові вміст малонового діальдегіду (МДА) визначали за інтенсивністю забарвлення триметилового комплексу, який утворюється в кислому середовищі при реагуванні МДА з 2-тіобарбітуровою кислотою [9]. Із метою оцінки стану ферментативної системи АОЗ у гемолізаті червонокривців активність глутатіонредуктази (ГР, КФ 1.8.1.7) визначали за зменшенням вмісту NADPH у пробі [10], глутатіонпероксидази (ГПО, КФ 1.11.1.9) – методом, в основі якого лежить розвиток кольорової реакції при взаємодії *SH*-групи з реактивом Елмана [11], концентрацію відновленого глутатіону (ВГ) – методом Елмана [3]. Концентрацію церулоплазміну (ЦП) у плазмі крові визначали модифікованим методом Равіна, що базується на ферментативному окисненні *n*-фенілендіаміну за участю ЦП [8], гіалуронової кислоти (ГК) – методом Голда [23], вміст глюкози, тригліцеридів (ТГ) і холестерину (ХС) – тест-наборами фірми «Філісіт-діагностика».

Статистично результати опрацьовували методами варіаційної статистики, реалізованими у пакеті SPSS for Windows 7.0. При цьому для показника визначали вибіркоче середнє значення (*M*) та похибку середнього (*m*). Відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Деструктивний процес у підшлунковій залозі експериментальних тварин супроводжувався зростанням концентрації вторинного продукту ПОЛ – МДА: в 1,2 раза у групі з гострим панкреатитом (I група, $t = 3,81$, $p < 0,01$), в 1,8 раза – у перехідній групі (II група, $t = 11,89$, $p < 0,001$) та в 1,4 раза – у групі щурів із хронічним панкреатитом (III група, $t = 5,68$, $p < 0,001$) порівняно з контролем. Вміст МДА у II групі тварин був вищим, ніж у I та III групах в 1,4 ($t = 9,98$, $p < 0,001$) та 1,3 раза ($t = 7,22$, $p < 0,001$) відповідно (табл. 1).

Надмірна інтенсифікація ліпопероксидації викликає порушення мікроциркуляції, обмінних процесів та розвиток гіпоксії, які самі по собі індукують ПОЛ. Формується «замкнене коло» із порушенням іонного гомеостазу, що у випадку тривалого функціонування призводить до пошкодження та смерті клітини. Таким ефектам вільних радикалів протидіє система АОЗ, яка запобігає утворенню, забезпечує зв'язування та модифікацію вільних радикалів, екранування функціональних груп білків [2]. Але в даному випадку накопичення продуктів ПОЛ в організмі сприяло інгібуванню глутатіонзалежних ензимів (ГПО, ГР), пригніченню відновного потенціалу ВГ, що свідчило про виражений окислювальний дисбаланс клітин, який розвивався вже на початковому етапі захворювання. Це погіршувало його перебіг. Вірогідне зни-

ження вмісту ВГ у всіх групах експериментальних тварин свідчило про виснаження компенсаторних можливостей глутатіонової ланки.

ГР відновлює окислений глутатіон у відновлений, необхідний для функціонування ГПО, що, у свою чергу, відновлює перекиси водню, нуклеїнових кислот, білків та ліпідів. Тому зниження активності цих ензимів – несприятливий фактор. У щурів із гострим панкреатитом спостерігалася тенденція до зниження активності ГПО, у II групі тварин активність цього ензиму була вже на 15,6 % нижчою за контрольний показник ($t = 3,29, p < 0,01$), а у групі із хронічним панкреатитом це зниження досягло 22,3 % ($t = 4,47, p < 0,01$). Слід відзначити, що між I та III групами експериментальних тварин різниця активності ензиму була достовірною ($p < 0,05$). Аналогічні зміни стосувалися і ГР (див. табл. 1): максимальне зниження її відбулося у групі тварин із хронічним панкреатитом (на 21,0 %, $t = 2,06, p > 0,05$ порівняно з контрольною групою).

Таблиця 1

Показники системи ПОЛ – АОЗ у крові щурів з експериментальним гострим і хронічним панкреатитом

Показник	Контроль (n = 6)	I група (n = 6)	II група (n = 6)	III група (n = 6)
МДА, нмоль/мл	4,50 ± 0,23	5,57 ± 0,16**	8,05 ± 0,19***	6,16 ± 0,18***###
ВГ, ммоль/л	2,34 ± 0,06	1,97 ± 0,06**	1,86 ± 0,12**	1,73 ± 0,06***
ГПО, мкмоль/л·хв	202,4 ± 5,3	193,4 ± 8,7	170,5 ± 8,1**	157,4 ± 8,5***
ГР, нмоль/гНв·хв	6,38 ± 0,54	5,75 ± 0,54	5,21 ± 0,22	5,04 ± 0,36*
ЦП, мг/мл	475,1 ± 40,4	638,6 ± 26,8**	596,2 ± 34,8*	516,4 ± 30,6

Примітки: МДА – малоновий діальдегід, ВГ – відновлений глутатіон, ГПО – глутатіонпероксидаза, ГР – глутатіонредуктаза, ЦП – церулоплазмін; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ при порівнянні аналогічних показників експериментальних груп щурів із контролем; • – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$ при порівнянні аналогічних показників групи щурів із ГП і перехідною групою і ГП та ХП між собою; ### – $p < 0,001$ при порівнянні аналогічних показників перехідної групи щурів і групи з ХП між собою.

Рівень ЦП у крові зростає при гострих і хронічних запальних процесах, у тому числі при панкреатиті. ЦП циркулює у плазмі та перехоплює вільнорадикальні форми кисню, уберігаючи від їх пошкоджувальної дії ліпідумісні біоструктури. ЦП здійснює «гасіння» вільних радикалів, що утворюються в макрофагах і лейкоцитах при фагоцитозі та розвитку ПОЛ в осередку запалення. Максимальне зростання концентрації ЦП спостерігалася у групі щурів із гострим панкреатитом ($t = 3,37, p < 0,01$), а мінімальне – із хронічним панкреатитом. У I групі тварин вміст цього білка гострої фази був в 1,2 раза вищим, ніж у III групі ($t = 3,00, p < 0,05$).

Панкреатичний фіброз – характерна гістопатологічна риса хронічного панкреатиту. Фіброгенез запускається за допомогою чисельних сигналів і здійснюється панкреатичними зірчастими клітинами, присутніми у періацинальному просторі. Результат цього процесу – збільшення продукції речовин екстрацелюлярного матриксу (елементів сполучної тканини) – ГК, протеогліканів, ламініну, колагену (переважно IV типу) [12; 22]. Вміст ГК у плазмі крові відображає ступінь прогресування фіброзу при даній патології. Для групи тварин із хронічним панкреатитом характерне максимальне зростання концентрації цього показника (в 1,5 раза, $t = 5,14, p < 0,001$ порівняно з контролем), що вказувало на значне фіброзування органа (табл. 2).

Оскільки вираженість порушення вуглеводного обміну залежить від ступеня фібротичних змін паренхіми підшлункової залози, закономірною була прогресуюча гіперглікемія у щурів із хронічним панкреатитом, що проявилася достовірним зростан-

ням концентрації глюкози у крові (в 1,7 раза, $t = 3,86, p < 0,01$). Рівень цього показника у III групі був в 1,6 раза вищим ($t = 4,07, p < 0,01$), ніж у тварин із гострим панкреатитом.

Таблиця 2

Вміст гіалуронової кислоти, показників вуглеводного, ліпідного обміну у крові щурів із гострим і хронічним панкреатитом

Показник	Контроль (n = 6)	I група (n = 6)	II група (n = 6)	III група (n = 6)
ГК, мг/мл	1,28 ± 0,06	1,43 ± 0,08	1,60 ± 0,12*	1,88 ± 0,10***
Глюкоза, ммоль/л	3,18 ± 0,42	3,42 ± 0,29	4,34 ± 0,30	5,37 ± 0,38***
ТГ, ммоль/л	1,00 ± 0,06	1,39 ± 0,17	1,55 ± 0,13**	1,63 ± 0,12***
ХС, ммоль/л	1,28 ± 0,09	1,46 ± 0,10	1,62 ± 0,07*	1,93 ± 0,15***

Примітки: ГК – гіалуронова кислота, ТГ – тригліцериди, ХС – холестерин; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ при порівнянні аналогічних показників експериментальних груп щурів із контролем; • – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$ при порівнянні аналогічних показників групи щурів із ГП і ХП між собою.

У результаті ураження тканини підшлункової залози внаслідок розвитку панкреатиту порушується не тільки метаболізм вуглеводів, а і транспорт ліпідів. У щурів із хронічним панкреатитом спостерігається гіперліпідемія у плазмі крові, переважно за рахунок гіпертригліцеридемії та гіперхолестеринемії: вміст ТГ та ХС зріс в 1,6 ($t = 4,69, p < 0,001$) та 1,5 раза ($t = 3,71, p < 0,01$) відповідно порівняно з контрольною групою. Виражене порушення ліпідного обміну відмічалось вже у перехідній групі.

Висновки

Отримані дані свідчать про порушення рівноваги між ПОЛ і системою АОЗ у бік активації процесів вільнорадикального окиснення на фоні зниження захисних механізмів у щурів з експериментальним панкреатитом. При гострому панкреатиті значно зростає вміст ЦП, який відображає активність запального процесу у підшлунковій залозі, а при хронізації процесу спостерігається поступове зниження концентрації цього білка. Про заміщення паренхіми залози фіброзною тканиною у III групі тварин свідчить зростання вмісту ГК. Порушення вуглеводного та ліпідного обміну при хронічному панкреатиті відображає значна гіперглікемія та гіперліпідемія у плазмі крові експериментальних тварин.

Бібліографічні посилання

1. **Воронкин Д. А.** Метаболические изменения в органах и крови при экспериментальном хроническом панкреатите. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук: 03.01.04 – биохимия. – Краснодар : Ростов. гос. мед. ун-т, 2011. – 24 с.
2. **Глушко Л. В.** Методи корекції метаболічних порушень у хворих на хронічний панкреатит при його поєднанні з метаболічним синдромом / Л. В. Глушко, В. В. Романуха // Буковин. мед. вісник. – 2011. – Т. 15, № 3 (59). – С. 18–21.
3. **Горячковский А. М.** Клиническая биохимия. – Одесса : Астропринт, 1998. – 608 с.
4. **Губергриц Н. Б.** Экзо- и эндокринная функции поджелудочной железы: один шаг от дуэта до дуэли / Н. Б. Губергриц, Н. В. Беляева // Суч. гастроентерологія. – 2006. – Т. 30, № 4. – С. 18–30.
5. **Етика** лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідях // Екперим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – № 2 (22). – С. 108–109.
6. **Корочина И. Э.** Гастроэнтерологические аспекты метаболического синдрома // РЖГТК. – 2008. – № 1. – С. 26–37.
7. **Костюшова Н. В.** Функціональна роль –SH і –S-S-груп у розвитку оксидативного стресу при гострому коронарному синдромі // Одеський мед. журнал. – 2010. – Т. 119, № 3. – С. 61–64.

8. **Методы** клинических лабораторных исследований / Под ред. В. С. Камышникова. – 4-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2011. – 752 с.
9. **Овсянникова М. М.** Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС / М. М. Овсянникова, С. М. Альохіна, О. В. Дробінська. – К., 1999. – 6 с.
10. **Пересльги́на И. А.** Активность антиоксидантных ферментов слюны у здоровых детей // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 20–23.
11. **Разыграев А. В.** Активность глутатионпероксидазы в ткани шишковидной железы крыс и ее изменения при старении // Успехи гастроэнтерологии. – 2010. – Т. 23, № 3. – С. 392–395.
12. **Сіренко О. Ю.** Панкреатичні зірчасті клітини як морфологічна основа розвитку фіброзу підшлункової залози // Морфологія. – 2010. – Т. 4, № 1. – С. 5–12.
13. **Склярів Є. Я.** Деякі аспекти діагностики хронічного панкреатиту / Є. Я. Склярів, Н. В. Курляк, І. В. Шалько // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2010. – № 2. – С. 79–83.
14. **Состояние** углеводного обмена после панкреатодуоденальных резекций у больных хроническим панкреатитом / А. Н. Лебедева, В. С. Демидова, А. Г. Кригер, Т. В. Шевченко // Хирургия. – 2011. – № 3. – С. 8–12.
15. **Фадеев Г. Д.** Селенсодержащие препараты в лечении больных хроническим панкреатитом / Г. Д. Фадеев, К. Ю. Дубров // Суч. гастроентерологія. – 2010. – Т. 55, № 5. – С. 69–75.
16. **Христич Т. Н.** Эндокринные нарушения как этиологический фактор развития панкреатита / Т. Н. Христич, Т. Б. Кендзерская // Consilium Medicum. Приложение. – 2008. – № 2. – С. 37–41.
17. **Чернобровий В. М.** Роль шлункової секреції в патогенезі хронічного панкреатиту / В. М. Чернобровий, І. В. Феджага // Буковин. мед. вісник. – 2008. – Т. 12, № 1. – С. 156–162.
18. **Чуанова Е. В.** Уровень свободнорадикального окисления в ферментативной фазе острого панкреатита и его прогностическое значение. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. – СПб, 2009. – 25 с.
19. **Abu-Hilal M.** Malondialdehyde and superoxide dismutase as potential markers of severity in acute pancreatitis / M. Abu-Hilal, M. J. McPhail, L. Marchand // Journal of the Pancreas. – 2006. – Vol. 2, N 7. – P. 185–192.
20. **An immunocytochemical** profile of the endocrine pancreas using an occlusive duct ligation model / B. J. Page, D. F. du Toit, C. J. F. Muller et al. // Journal of the Pancreas. – 2000. – Vol. 1, N 4. – P. 191–203.
21. **Animal** models for investigating chronic pancreatitis / A. A. Aghdassi, J. Mayerle, S. Christochowitz et al. // Fibrogenesis Tissue Repair. – 2011. – Vol. 1, N 4. – P. 26.
22. **Effect** of emodin on pancreatic fibrosis in rats / C.-H. Wang, Z.-Q. Gao, B. Ye et al. // World J. Gastroenterol. – 2007. – N 13. – P. 378–382.
23. **Gold E. W.** The quantitative spectrophotometric estimation of total sulfated glycosaminoglycan levels // Biochemica et Biophysica Acta. – 1981. – Vol. 673. – P. 408–415.
24. **Hackert T.** Antioxidant therapy in acute pancreatitis: Experimental and clinical evidence / T. Hackert, J. Werner // Antioxid Redox Signal. – 2011. – Vol. 10, N 15. – P. 2767–2776.
25. **Hereditary** chronic pancreatitis / J. Rosendahl, H. Bodeker, J. Mossner, N. Teich // Orphanet. J. Rare. Dis. – 2007. – Vol. 2, N 1. – P. 18–20.
26. **Packer L.** Oxidant and antioxidant revisited. New concept of oxidative stress / L. Packer, E. Cadenas // Free Rad. Research. – 2007. – N 9. – P. 951–952.
27. **Slezak L. A.** Pancreatic resection: Effect of glucose metabolism / L. A. Slezak, K. Dana, M. D. Andersen // World J. Surg. – 2001. – N 25. – P. 452–460.
28. **Tandon R. K.** Oxidative stress in chronic pancreatitis: Pathophysiological relevance and management / R. K. Tandon, P. K. Garg // Antioxid Redox Signal. – 2011. – Vol. 10, N 15. – P. 2757–2766.

Надійшла до редколегії 16.07.2012