

## ОБТУРАЦІЙНИЙ ХОЛЕСТАЗ: ДЕЯКІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ТА МОЖЛИВОСТІ ПОПЕРЕДЖЕННЯ РОЗВИТКУ ПЕЧІНКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

*Одеський державний медичний університет*

Проблема патологічних уражень жовчовивідних шляхів, які супроводжуються холестазом, постійно привертає увагу дослідників внаслідок значного поширення цього захворювання. Сьогодні патологією жовчовивідних шляхів охоплено 10–15 % населення світу [1], а пацієнти з гострим обтураційним холестазом становлять близько 30 % [2] від загальної кількості хворих із гострими хірургічними захворюваннями, при цьому післяопераційна летальність при обтураційних холестазах становить у середньому 6–9 %, а в людей старшого віку — 15–26 %. У зв'язку з цим хворих з обтураційним холестазом відносять до групи ризику щодо розвитку печінкової недостатності, яка нерідко розвивається або посилюється після виконання декомпресійної операції [3]. Сьогодні у літературі відсутня єдина точка зору щодо патогенезу печінкової недостатності, яка розвивається після операції декомпресії обтураційного холестазу [4]. Не зовсім з'ясованими досі залишаються і пускові метаболічні процеси, що становлять основу деструктивних процесів у печінці на морфологічному рівні. На нашу думку, одним із напрямків для розв'язання цієї проблеми є вивчення механізмів, що становлять основу репаративних процесів ушкоджених тканин печінки.

З огляду на вищесказане, метою нашої роботи було дослідження структурних та біохімічних аспектів розвитку де-

структивних та репаративних процесів тканин печінки як за умов холестазу, так і після його декомпресії.

Досліди проводили на статевозрілих щурах-самцях. Повний обтураційний холестаз тривалістю 12, 24 та 48 год спричинювали накладанням лігатури на загальну жовчну протоку на відповідний термін. Ці тварини утворили першу експериментальну групу. У тварин другої групи після моделювання холестазу такої ж тривалості проводили декомпресійну операцію, а матеріал для дослідження забирали через 12 год по тому. Для вивчення можливостей фармакологічної корекції деструктивних та репаративних процесів, що виникають у тканинах печінки внаслідок холестазу (3-тя група) та після його декомпресії (4-та група), було використано гепатопротекторний препарат гептрал, що вводився тваринам через 10 хв після перев'язування загальної жовчної протоки і потім кожні 6 год. Вибір гептралу (хімічна назва S-аденозил L-метіонін) обумовлено його вираженими антиоксидантними властивостями та здатністю бути донатором метильних груп [5].

Морфологічними, морфометричними та біохімічними методами досліджували структурні зміни паренхіматозних і стромальних елементів печінки та вміст у її тканинах і субклітинних структурах дієнових кон'югат (ДК) і малонового діальдегіду (МДА) як показників інтенсивності ПОЛ, цик-

лічних нуклеотидів, сульфгідрильних та дисульфідних груп, активність супероксиддисмутази (СОД) і каталази як показників стану АОС. Крім того, досліджували реакції фосфорилування і метилування білків хроматину ядер гепатоцитів.

За допомогою проведених досліджень встановлено, що гострий холестаз спричинює інтенсифікацію процесів ПОЛ, причому на початку експерименту лише за рахунок накопичення МДА; з 24-ї год збільшується також вміст ДК, а максимальних значень ці показники досягають на другу добу холестазу (відповідно в 2,3 і 2,0 разу вище норми). Паралельно з активацією процесів ПОЛ спостерігаються досить істотні зміни активності ключових ферментів АОС — супероксиддисмутази та каталази. Протягом першої доби активність СОД дещо зростає, але до кінця терміну спостереження вона різко гальмується як у мітохондріях, так і в цитозолі гепатоцитів і становить відповідно 63 і 72 % порівняно з контролем. Різкого зниження на цьому етапі дослідження зазнає й активність каталази (58 % — у мітохондріях і 55 % — у цитозолі від норми). Отож, ці факти є свідченням того, що гострий обтураційний холестаз спричинює надмірну інтенсифікацію процесів ПОЛ, яка впродовж першої доби супроводжується активацією СОД із подальшим її різким пригніченням, що, очевидно, є свідченням вичерпан-

ня потужності АОС. Виявлене при дослідженні зниження кількості сульфгідрильних груп та накопичення дисульфідних (відповідно на 55 % і 112 % порівняно з контролем в кінці спостереження) підтвердило таке припущення, оскільки, як відомо [6; 7], тіолові ферменти є складовою частиною АОС. Відповідних змін зазнавав і вміст циклічних нуклеотидів. Встановлено, що, починаючи з 12 год холестаза в печінці, спостерігається поступове зменшення вмісту цАМФ і збільшення кількості цГМФ, при цьому відзначається зниження коефіцієнта взаємовідношення між цими нуклеотидами, що свідчить про посилення катаболічних процесів у тканині печінки. Ці зміни вмісту циклічних нуклеотидів та їх взаємовідношень між собою протягом усього експерименту є свідченням того, що холестаз, навіть на ранніх етапах його розвитку, спричинює дезорганізацію та дестабілізацію цАМФ-залежного метаболізму у клітинах печінки. Однією із можливих причин зменшення вмісту цАМФ, очевидно, є пригнічення активності аденілатциклази.

Для утвердження цих припущень нами проведено дослідження активності реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину ядер клітин печінки, ферменти яких є цАМФ-залежними [8]. Встановлено, що через 12 год повної оклюзії жовчних шляхів активність реакцій метилування сумарних гістонів, індивідуальних гістонів Н1, Н2А, Н3 та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків є вірогідно нижчою порівняно з контролем. Активність метилування індивідуальних гістонів Н2В, Н4 і лабільно зв'язаних з ДНК негістонових білків переважає рівень контролю відповідно на 10,0, 30,0 і 25,0 % ( $P < 0,05$ ). Подібних змін зазнає й активність реакцій фосфорилювання гістонів та негістонових

білків хроматину клітин печінки, але за своєю глибиною вона зазнає більш виражених змін, ніж метилування. Особливо глибоких змін зазнає процес фосфорилювання гістону Н1 та Н3. Збільшення терміну холестаза різко посилює дезінтеграцію активності реакцій посттрансляційної модифікації хроматинових білків. Особливо значного пригнічення на цьому етапі зазнає активність реакцій метилування та фосфорилювання сумарних гістонів, індивідуальних гістонів Н1, Н2А та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків. У подальшому (48 год) активність більшості реакцій посттрансляційної модифікації як гістонів, так і негістонових білків змінює свій напрямок, посилюючи явища функціональної дезорганізації цих процесів.

Така перебудова механізмів посттрансляційних модифікацій сумарних гістонів хроматину ядер клітин печінки, очевидно, обумовлюється структурно-функціональними змінами у самих гепатоцитах та негативним впливом надмірної кількості продуктів ПОЛ, динаміка змін яких збігається з означеними порушеннями.

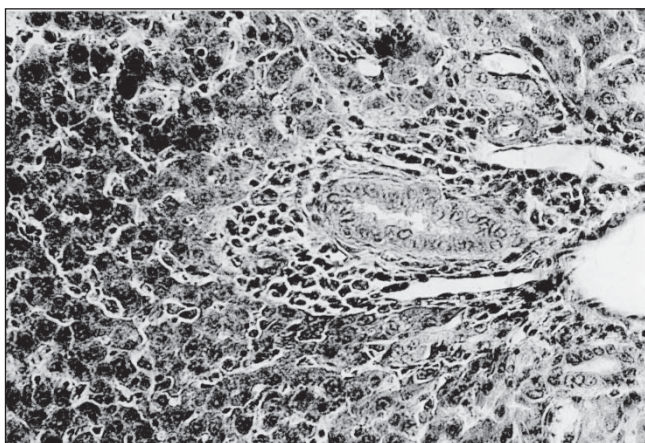
Підтвердженням цих припущень є результати морфологічного дослідження. На початку холестаза структурні зміни були досить помірними і зводилися до розтягнення холангіол, набряку сполучної тканини порталних полів, венозного повнокров'я. Більша частина гепатоцитів не виявляла ознак деструкції, проте деякі клітини перебували у стані протеїнової дистрофії, рідше — гідропії. Спостерігалися невеликі осередки некрозу. Із збільшенням терміну холестаза всі зазначені деструктивні зміни поглиблювалися, крім того, виявлялися жовчні екстравазати, імбібіція жовчними пігментами гепатоцитів, зростала кількість некротичних осередків та гепатоцитів у

стані деструкції. Останні втрачали чіткі контури, у цитоплазмі визначався мутний набряк, інколи вакуолізація, спостерігалися гіпохромія і деструкція хроматину, лізис ядра, інколи каріопікноз або каріорексис. Проте на 48-му годину спостереження ставали помітними прояви компенсаторних процесів: гіперплазія жовчних проток, що супроводжувалася проліферацією їх епітелію, гістіолейкоцитарна інфільтрація порталних полів та осередків некрозу, збільшення кількості двоядерних та поліплоїдних гепатоцитів.

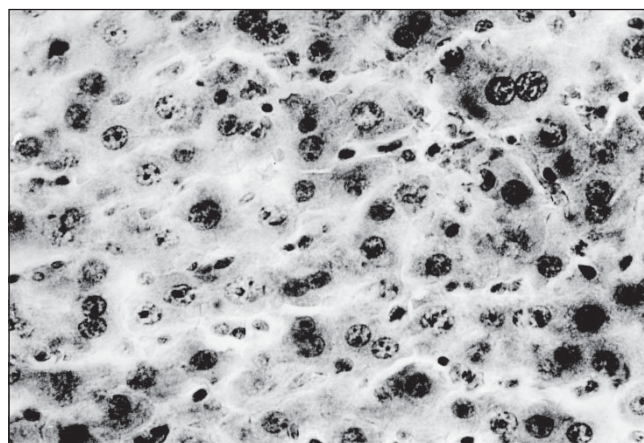
Отже, можна зробити висновок, що ступінь морфологічних змін паренхіми печінки у динаміці розвитку гострого обтураційного холестаза визначається вираженістю дезорганізації реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину.

Відомо [4], що хворі з обтураційним холестазом вважаються потенційно небезпечними стосовно розвитку печінкової недостатності, яка з'являється або посилюється після виконання декомпресійної операції. На цій підставі нами проведено дослідження активності реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину у ранньому періоді (12 год) після операції декомпресії обтураційного холестаза тривалістю 12, 24 та 48 год.

Внаслідок наших досліджень встановлено, що через 12 год після операції декомпресії 12-годинного обтураційного холестаза активність реакцій метилування сумарних гістонів та більшості індивідуальних гістонів відновлюється до рівня інтактних тварин. Виняток становить тільки метилування гістону Н4 та лабільно зв'язаних з ДНК негістонових білків, в яких інтенсивність цих процесів вища за рівень контролю на 15 % і 10 % відповідно. Значним позитивним змінам підлягає й активність реакцій фосфорилювання біл-



*Рис. 1.* Печінка щура через 12 год після операції декомпресії 24-годинного холестазу. Фрагмент портального тракту і периферійної зони часточки. Гепатоцити гетероморфні. Епітелій жовчних проток з ознаками проліферації. Перидуктальна мононуклеарна інфільтрація.  $\times 200$



*Рис. 2.* Печінка щура через 12 год після операції декомпресії 24-годинного холестазу з введенням гептаралу. Проміжна зона часточки. Велика кількість 2-ядерних та поліплоїдних гепатоцитів з добре структурованим ядерним хроматином і ядерцями.  $\times 400$

ків хроматину ядер клітин печінки. Слід зазначити також, що у цій серії дослідів відновлюється до фізіологічного рівня тіол-дисульфідний обмін та вміст циклічних нуклеотидів. Такі позитивні зміни метаболізму супроводжувалися вираженими ознаками компенсаторних процесів: гіперхромією та ацидофілією цитоплазми гепатоцитів, збільшенням індексу поліплоїдизації порівняно з показниками на 12-ту годину холестазу, збільшенням кількості двоядерних гепатоцитів. Просвіт холангіол та їх епітелій не відрізнялися від інтактних.

Після декомпресії 24-годинного холестазу активність реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину гепатоцитів істотно відрізнялась від показників попередньої серії дослідів. При цьому активність метилування сумарних гістонів, індивідуальних гістонів H1, H2A і H3 та міцно зв'язаних з ДНК негістонових білків була вірогідно нижчою за контроль (відповідно на 14,7, 17,5, 19,5, 12,2 і 19,8 %). Паралельно з цим спостерігалось посилення активності метилування гістону H4 на 25,4 % та лабільно зв'язаних з ДНК негістонових білків на 15,2 %. На цьому етапі досліджень та-

кож значно відрізнялась активність реакцій фосфорилювання як по відношенню до попередньої серії дослідів, так і інтактних тварин. Ці відмінності мають дезінтеграційний характер, хоча їх вираженість менша, ніж у тварин з 12-годинним холестазом. Про нижчу регенеративно-відновлювальну активність клітин печінки на цьому етапі свідчать також і результати досліджень тіолдисульфідного обміну та вмісту циклічних нуклеотидів.

Вивчення тканин печінки на цьому етапі дослідження виявили досить неоднорідну морфологічну картину. Спостерігалось посилення лейкогістiocитарної інфільтрації некротичних ділянок паренхіми з перевагою мононуклеарів. У відносно неушкодженій паренхімі деякі гепатоцити відрізнялися великими розмірами, чіткими межами, гіперхромією як цитоплазми, так і ядер. Хроматин останніх мав добре виражений маргінальний шар і великі, розміщені по периферії, ядерця. Частіше, ніж у інтактних тварин, зустрічались двоядерні і поліплоїдні клітини. Тимчасом багато клітин перебувало у стані деструкції. Жовчні протоки мали вигляд, близький до інтактних, з висо-

ким епітелієм та ознаками проліферації. Зберігалось помірне повнокров'я вен та набряк перипортальної тканини (рис. 1).

Після операції декомпресії 48-годинного холестазу активність реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину ядер клітин печінки підлягала більш вираженим змінам та дезорганізації порівняно з показниками попередньої серії дослідів, але відносно аналогічних змін на 48-му годину обтурації вона є більш позитивною. Досить істотно також відрізнявся вміст сульфгідрильних, дисульфідних груп та циклічних нуклеотидів від аналогічних показників попередніх серій дослідів, проте глибина виявлених порушень значно менша ніж на 48-му годину холестазу. Морфологічна картина печінки відрізнялась більшою вираженістю як деструктивних, так і репаративних процесів. У паренхімі зберігались жовчні екстравазати, морфометрично встановлено збільшення площі зрізу, яку займала некротично змінена паренхіма. Поряд з цим, коефіцієнт відновлення паренхіми був у півтора разу вищим, ніж у першій групі дослідів з аналогічним терміном холестазу, що, очевидно, пов'язано із оборотністю дис-



трофічних процесів у деяких клітинах.

Таким чином, встановлено, що репарація ушкоджених внаслідок холестазу тканин печінки у період після операції декомпресії тісно пов'язана зі ступенем дезорганізації реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину, стану систем циклічних нуклеотидів і глибини їх деструктивних змін. Але навіть при досить тривалій обтурації жовчних шляхів (у нашому випадку 48 год) після операції декомпресії з'являлися виражені ознаки репаративних процесів.

Для посилення репаративної здатності тканин печінки в умовах холестазу та його декомпресії був застосований препарат гептрал. Встановлено, що введення препарату після повної оклюзії позапечінкових жовчних шляхів сприяє значному зниженню структурно-метаболических порушень у тканині печінки та посиленню компенсаторно-відновлювальних процесів.

Так, введення гептралу тваринам після оклюзії жовчних шляхів запобігає значному збільшенню МДА, його вміст є нижчим, ніж у тварин, яким не вводили гептрал, відповідно до термінів спостереження на 21,3; 41,7 і 37,5 %. Кількість дієнових кон'югат на цьому етапі досліджень знаходилася на рівні інтактних тварин. Введення гептралу після оклюзії жовчних шляхів значною мірою посилювало й активність СОД та каталази у мітохондріях і цитоплазмі клітин печінки як по відношенню до інтактних, так і до тварин першої групи. Застосування гептралу також сприяло збільшенню вмісту сульфгідрильних та зниженню кількості дисульфідних груп у всіх досліджених структурах порівняно з тваринами, яким не вводили гептрал. Позитивним є також вплив гептралу на вміст та взаємовідношення циклічних нуклеотидів.

Введення гептралу в умовах холестазу сприяло також стабілізації активності реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину ядер клітин печінки порівняно з показниками тварин, яким за аналогічних умов не вводили гептрал. Позитивні зрушення в паренхімі органа спостерігались і на морфологічному рівні. Деструктивні процеси мали меншу вираженість, а індекс поліплоїдизації гепатоцитів та коефіцієнт відновлення паренхіми зростали в 1,5 та 1,7 рази порівняно з показниками аналогічних термінів обтураційного холестазу (24 год) без застосування гептралу.

Застосування гептралу в період після декомпресії холестазу також дало позитивний результат. Зокрема збільшувався вміст цАМФ та сульфгідрильних груп у паренхімі печінки, посилювалась активність реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину гепатоцитів та усувались явища їх дезорганізації. Позитивні метаболічні зрушення сприяли посиленню регенеративних процесів, що відображалось зростанням індексу поліплоїдизації та коефіцієнта відновлення паренхіми (в 1,5 і 1,8 рази після декомпресії 12-годинного холестазу), гіперхромією збережених клітин та їх ядер, посиленою структурованістю хроматину, збільшенням ядерця, маргінальним їх розташуванням (рис. 2). Посилювались також ознаки активації стромальних елементів та епітелію жовчних ходів. Ефективність від застосування гептралу прямо залежала від ступеня дезорганізації функціональної активності реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину ядер клітин печінки, яка, у свою чергу, визначалася тривалістю холестазу. Так, використання гептралу у ранньому періоді після операції декомпресії 12 і 24-годинного холестазу спричинювало посилення активності

реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину та їх стабілізацію на більш високому рівні і на дещо нижчому рівні — після декомпресії 48-годинного холестазу. Проте в усіх випадках гептрал значно посилював процеси регенерації тканин печінки, що дало нам можливість рекомендувати його використання як до операції декомпресії, так і в післяопераційному періоді для прискорення репаративних процесів і попередження розвитку печінкової недостатності.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Ермолов А. С. Хирургия желчекаменной болезни и ее осложнений // *Анналы хирургии*. — 1997. — № 3. — С. 13-42.
2. Потапов Л. В., Фигурин Т. Д., Колтаков Н. А. Желчекаменная болезнь у лиц молодого возраста // *Клин. медицина*. — 1993. — Т. 71, № 1. — С. 25-27.
3. Гавриленко Г. А., Торасенко В. С., Анненкова А. А. Лекарственная защита печени до и после операции на ней // *Новые технологии в хирургической патологии: Матер. III конф. хирургов-гепатологов*. — СПб., 1995. — С. 412-413.
4. Кузнецов М. Р., Истомин Д. И., Петухов В. А. Современные аспекты диагностики и лечения холестероза желчного пузыря // *Анналы хирургии*. — 1998. — № 1. — С. 18-22.
5. Friedel H. A., Goa K. L. Benfield P. Focus on S-adenosyl-L-methionine // *Drugs*. — 1989. — N 38. — P. 389-416.
6. Соколовский В. В. Тиоловые антиоксиданты в молекулярных механизмах неспецифической реакции организма на экстремальное воздействие // *Вопр. мед. химии*. — 1988. — С. 2-11.
7. Сервецкий К. Л., Напханюк В. К., Нікітін С. В. Вміст циклічних нуклеотидів у печінці щурів і їх корекція за токсичних уражень  $CCl_4$  // *Одес. мед. журн.* — 1999. — № 1 (51). — С. 7-8.
8. Множественные формы ДНК-метилаз и ядер печени животных в норме и при патологии / Е. В. Шарнова, А. Т. Адылова, Б. А. Антаханова и др. // *Бюл. эксперим. биол. и медицины*. — 1991. — Т. 111, № 1. — С. 36-39.

УДК 616.36-008.51-074-092.4:577.125.5

В. К. Напханюк, Т. С. Дзизенко, Н. О. Горянова

#### ОБТУРАЦИЙНИЙ ХОЛЕСТАЗ: ДЕЯКІ АСПЕКТИ ПАТОГЕНЕЗУ ТА МОЖЛИВОСТІ ПОПЕРЕДЖЕННЯ РОЗВИТКУ ПЕЧІНКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Встановлено, що повна оклюзія позапечінкових жовчних шляхів спричинює у першу чергу посилення інтенсивності ПОЛ, надмірна кількість продуктів якого призводить до глибоких змін функціонального стану аденілатциклазної системи. Зміни функціонування цієї системи, як відомо, є однією із причин порушення реакцій посттрансляційної модифікації білків хроматину і як наслідок — появи деструктивних змін геномного апарату ядер і самих клітин печінки. Декомпресійна операція обтураційного холестаза виявилась найбільш ефективною щодо регенерації структур печінки впродовж першої доби. Холестаз тривалістю 48 год спричинив таке глибоке порушення структури та метаболізму печінки, що репаративна здатність її паренхіми після декомпресії залишалась обмеженою. Застосування гептралу за умов холестаза і після його декомпресії помітно зменшувало деструктивні та посилювало компенсаторно-відновлювальні процеси в паренхімі печінки.

**Ключові слова:** обтураційний холестаз, декомпресія, гептрал.

UDC 616.36.-008.51-074-092.4:577.125.5

V. K. Napkhanjuk, T. S. Dzizenko, N. O. Goryanova

#### OBTURATIVE CHOLESTASIS: SOME PATHOGENETIC ASPECTS AND PREVENTION POSSIBILITY OF THE LIVER INSUFFICIENCY DEVELOPMENT

As a result of complex researches it is established, that acute cholestasis causes amplification of lipid peroxidation reactions result in deep violations of cycles adenosinmonophosphate system functional condition. It is known, that changes of this system function cause posttranslation modification of chromatin proteins reaction disturbances and damage both hepatocytes nuclei genetic apparatus and liver cells cytoplasm. Decompressive operation was the most effective for liver structure regeneration during first 24 hours after occlusion. Reparative activity possibility of liver parenchime after 48 hours duration cholestasis and decompressive operation was limited. The negative shifts of occlusion largely looses after heptral injection and amplification of liver parenchime reparative processes was revealed.

**Key words:** obturative cholestasis, decompression, heptral.

УДК 616-053.2-085.356

Н. Л. Аряев, *д-р мед. наук, проф.*, А. А. Старикова, *канд. мед. наук,*

А. Г. Лиман, Т. А. Косюга

## ПРИМЕНЕНИЕ ВИТАМИННОГО КОМПЛЕКСА «БИОВИТАЛЬ ГЕЛЬ ДЛЯ ДЕТЕЙ» В ПЕДИАТРИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

*Одесский государственный медицинский университет,  
Одесская областная детская клиническая больница*

Рациональное питание, отвечающее физиологическим потребностям детского организма, обеспечивает нормальное психосоматическое развитие ребенка, повышает его иммунитет, играет большую роль в профилактике заболеваний и снижении детской летальности. Особая роль ввиду интенсивности процессов роста и напряженности обменных процессов принадлежит витаминам — незаменимым пищевым веществам, необходимым для обеспечения физиологических функций детского организма [1; 2]. Неспособность организма человека к синтезу витаминов определяет необходимость их поступления в готовом виде в количестве, со-

ответствующем физиологическим потребностям. Дефицит витаминов обусловлен недостаточным поступлением их в организм, нарушением утилизации, повышенными потребностями в них организма [1–3].

Наиболее рациональным и эффективным методом профилактики и лечения витаминной недостаточности является дополнительный прием детьми витаминных комплексов.

Цель нашего исследования — оценка целесообразности и безопасности применения в педиатрической практике витаминного комплекса с добавками лецитина и кальция «Биовиталь гель для детей» (фармацевтическая компания

«Ф. Хоффман-Ля Рош ЛТД», Швейцария).

### Материалы и методы исследований

Было исследовано 23 ребенка в возрасте 4–8 лет, находившихся на лечении в пульмонологическом и гастроэнтерологическом отделениях Одесской областной детской клинической больницы в апреле–мае 2003 г. Все дети в течение месяца получали витаминный комплекс с добавками лецитина и кальция «Биовиталь гель для детей» по 1 чайной ложке ежедневно. Препарат «Биовиталь гель для детей» представляет собой желе с апельсиновым вкусом, не содержащее искусственных красителей.