

СИСТЕМИ ГЛУТАТІОНУ КРОВІ ЩУРІВ ТА МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО ТА ХРОНІЧНОГО ПАНКРЕАТИТУ

В. А. МАКАРЧУК¹, Г. О. УШАКОВА², О. О. КРИЛОВА¹

¹ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», Дніпропетровськ;

²Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;
e-mail: viktoriam7@gmail.com

В експерименті на щурах відтворено модель гострого та хронічного панкреатиту. Встановлено характер змін показників системи пероксидне окислення ліпідів – антиоксидантний захист у крові та зміни морфологічної структури підшлункової залози. Розвиток гострого та хронічного панкреатиту супроводжується різним ступенем інтенсифікації ліпопероксидації й поступовим пригніченням антиоксидантної системи в крові, що може бути застосовано для диференціації початку розвитку запалення в ураженому органі та хронізації патологічного процесу.

Ключові слова: малоновий діальдегід, ензими обміну глутатіону, гострий панкреатит, хронічний панкреатит.

Порушення балансу між активністю дії прооксидантних чинників і ефективністю систем антиоксидантного захисту (АОЗ) організму, яке призводить до окислювального стресу, вважається універсальним механізмом розвитку багатьох захворювань [1, 2], у тому числі панкреатиту [3, 4].

В останні роки в усьому світі та Україні спостерігається збільшення кількості хворих на гострий та хронічний панкреатит. У структурі захворюваності шлунково-кишкового тракту ця патологія становить 5,1–9% [5, 6].

Значний ріст захворюваності на гострий панкреатит, його трансформація в хронічну форму в 15–30% випадків робить актуальним дослідження патогенетичних механізмів цієї патології й пошук методів діагностики доступних для клінічної біохімії (особливо для диференціації гострої та хронічної форми патогенезу). Хронічний панкреатит – хронічне прогресуюче поліетіологічне запальне захворювання підшлункової залози, яке супроводжується розвитком її зовнішньо- та внутрішньосекреторної недостатності. Ця патологія характеризується наявністю запального інфільтрату, прогресуючою деструкцією ацинарних клітин і фіброзом, що призводить до руйнування тканини залози [7, 8].

Новітні дані, що представлено в огляді R. P. Sah та співавторів, вказують на необхідність зміни наших уявлень про розуміння механізму розвитку панкреатиту. Автори припускають,

що інтраацинарна активація трипсиногену призводить до ранньої травми підшлункової залози, але запальна реакція під час розвитку гострого (й, особливо, хронічного) панкреатиту розвивається самостійно. Зараз проводяться детальні біохімічні дослідження ключових патогенних клітинних подій, таких як кальцієва сигналізація, мітохондріальна дисфункція, стрес, автофагія, порушення лізосомних та секреторних функцій, що обумовлюють ранню активацію запальних процесів [9].

Роботи В. Grigsby та R. K. Tandon вказують на підвищений окислювальний стрес, залучений як потенційний механізм в розвиток хронічного панкреатиту [8, 10].

Ацинарні клітини підшлункової залози містять біотрансформуючі СУР 450 та кон'югаційні ензими, що забезпечують метаболізм ксенобіотиків. Окисний стрес в ацинарних клітинах може виникати внаслідок утворення вільних радикалів через СУР індукцію за одночасного впливу хімічних речовин, які піддаються біоактивації, а також у разі порушення надходження поживних мікроелементів, необхідних для підтримки антиоксидантної системи.

Проте не до кінця з'ясовано причину характерних змін інтенсивності пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) в періоди загоєння запального процесу в підшлунковій залозі та місце цих процесів у структурі факторів, що пошкоджують панкреатити [11]. Деякі автори вважають, що провідна роль у

патогенезі гострого панкреатиту належить все ж таки окислювальному стресу [12], суть якого полягає в посиленні вільнорадикальних процесів в умовах гострої локальної гіпоксії. При цьому протеолітичні та ліполітичні ензими, що знаходяться в неактивному стані всередині панкреатитів, можуть і в клітинах під час виходу з них підлягати атаці активних форм кисню і переходити в свою активну форму. Подальше підтримання ПОЛ на значно вищому рівні, ніж у нормі, забезпечує гіпоксія тканини підшлункової залози, а також гальмування системи АОЗ [3]. Важливо підкреслити, що зміна вільнорадикального окислення в крові звичайно передуює появі виражених клінічних симптомів ушкодження тканини. Інтенсивність ПОЛ у біомембранах клітин крові обмежується функціонуванням антиоксидантної системи. До потужних антиоксидантних систем належить глутатіонова система, до складу якої входять відновлений глутатіон та ензими: глутатіонпероксидаза і глутатіонредуктаза [13]. Детальне дослідження цієї системи не тільки в підшлунковій залозі, а й у крові є важливим для розуміння ролі окислювального стресу в патогенезі захворювання на панкреатит та його ускладнень [11]. Саме виразність змін у системі ПОЛ–АОЗ у крові може свідчити про швидкість прогресування патологічного процесу та характер імовірних ускладнень під час хронізації панкреатиту [14], що можна використовувати для його моніторингу.

Суттєву роль у підтриманні редокс-потенціалу клітин крові, який визначає ефективність їх функціонування, відіграють SH-групи протеїнів (протеїн-SH) і відновлений глутатіон. Вони виконують роль акцепторів гідроксильного радикала (HO[•]) і синглетного кисню, знижуючи деструктивну і цитотоксичну дію активних форм кисню. Відновлений глутатіон забезпечує антиоксидантний детоксикаційний потенціал глутатіонзалежних ензимів [15–17].

Метою роботи було визначення інтенсивності процесів ліпопероксидації, функціонального стану глутатіонзалежної антиоксидантної системи крові та характеру морфологічних змін тканини підшлункової залози в щурів в умовах експериментального гострого та хронічного панкреатиту.

Матеріали і методи

Експеримент проводили на білих лабораторних щурах-самцях (вік – 6 місяців, 190–200 г) згідно з «Положенням про вико-

ристання тварин в біомедичних дослідках» [18]. Щури знаходилися в стандартних умовах із природною зміною освітлення і дотриманням загального раціону віварію. У всіх тварин був вільний доступ до їжі та води.

За 20 год до експерименту тварин не годували, доступ до води був вільним. Для моделювання панкреатиту в тварин під наркозом (етамінал натрію – 85 мг/кг) перев'язували головний панкреатичний протік (наклали лігатуру) у хвостовій частині підшлункової залози [19]. Потім операційну рану зашивали пошарово.

Експериментальних тварин було розділено на 3 групи (по шість у кожній): I група – щури з гострим панкреатитом (6-та доба після операції), II група – перехідна група між гострим і хронічним панкреатитом (15-та доба після операції) та III група – із хронічним панкреатитом (30-та доба після операції). Контрольна група складалася із 6 псевдооперованих щурів, яким здійснювали лише розтин шкіряного покриву на череві й відразу його зашивали.

Після закінчення експерименту на 6-ту, 15-ту та 30-ту добу тварин декапітували після попереднього введення етаміналу натрію. Гепаринізовану кров розділяли на плазму та еритроцити.

Для оцінки інтенсивності процесів ПОЛ у плазмі крові визначали вміст малонового діальдегіду (МДА) за інтенсивністю забарвлення триметилового комплексу, який утворюється в кислому середовищі під час реакції МДА з 2-тіобарбітуровою кислотою [20].

Для визначення концентрації сульфгідрильних SH- та дисульфідних -S-S- груп в еритроцитах використовували колориметричний метод, заснований на реакції взаємодії 5,5'-дитіобіс-(2-нітробензойної) кислоти із сульфгідрильними та дисульфідними групами [21]. За pH = 8,0 5,5'-дитіобіс-(2-нітробензойна) кислота взаємодіє з вільними SH-групами протеїнів. У ході цієї реакції відбувається вивільнення тіонітрофенільного аніона, кількість якого прямо пропорційна кількості вільних SH-груп протеїнів, що реагували з 5,5'-дитіобіс-(2-нітробензойною) кислотою. При pH = 10,5 реакція може продовжуватися за умови, що в протеїнах, окрім SH-груп, присутні -S-S-групи. Кількість дисульфідних груп розраховували, порівнюючи вміст вільного тіонітрофенільного аніона, який визначали при pH = 8,0 і після доведення pH до 10,5. Розрахований тіол-

дисульфідний коефіцієнт є відношенням кількості відновлених SH-груп до кількості -S-S-зв'язків.

Для одержання протеїнового розчину із еритроцитів спочатку проводили їх гемоліз протягом 25 хв після розведення дистильованою водою (1 : 10), потім відділяли гемоглобін (Hb): у центрифужні пробірки з 0,25 мл гемолізата послідовно додавали 0,25 мл CHCl_3 , 0,5 мл 96%-го $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$, не перемішували і додавали 300 мг KH_2PO_4 та обережно «притоптували» Hb разом із сіллю до дна пробірки доки не утворювалися 2 фази: знизу – тіні еритроцитів та Hb, зверху – протеїновий розчин. Після центрифугування при 1780 g протягом 20 хв отримували супернатант, що містив цитозольні протеїни.

З метою оцінки стану ензимної системи АОЗ визначали активність глутатіонредуктази (1.8.1.7.) [22] та глутатіонпероксидази (1.11.1.9.) [23]. Активність глутатіонредуктази вимірювали спектрофотометрично в гемолізаті еритроцитів (1 : 40) за зменшенням вмісту NADPH у середовищі, що містив 50 мМ K^+ -фосфатний буфер (рН 7,4), 1 мМ ЕДТА, 0,16 мМ NADPH, 1 мМ GSSG (окислений глутатіон) при 37 °С. Активність виражали в нмоль NADPH/хв на 1 г Hb, приймаючи, що коефіцієнт молярного поглинання дорівнює $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ при 340 нм.

Активність Se-залежної глутатіонпероксидази в гемолізаті еритроцитів (1 : 40) визначали спектрофотометрично при 37 °С в середовищі, що містив 0,05 М трис- HCl буфера з 0,34 мМ ЕДТА (рН 8,5), 1 мМ GSH (відновлений глутатіон), 0,38 мМ H_2O_2 , 10 мМ NaN_3 (для інгібування каталази). Після осадження протеїнів у ТХО GSH, що залишився, визначали за допомогою реактиву Еллмана. Активність виражали в мкмоль GSH/хв на 1 г Hb, приймаючи, що коефіцієнт молярного поглинання при 412 нм дорівнює $11\,400 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Для розрахунку активності глутатіонзалежних ензимів вимірювали вміст Hb в крові стандартним тест-набором фірми Філісіт-діагностика (Україна). Концентрацію відновленого глутатіону в еритроцитах визначали за методом Еллмана [24] і виражали в ммоль/л.

У плазмі крові активність α -амілази встановлювали методом Каравея (набір фірми Філісіт-діагностика), ліпази – за Логіновим [25], трипсину – за Ерлангером (модифікація Шатернікової) [24].

Для підтвердження розвитку панкреатиту проводили гістологічне дослідження підшлункової залози, яке включало стандартну фіксацію тканини в 10%-у нейтральному

формаліні, проводку та заливку шматочків тканини в парафінові блоки, приготування зрізів та фарбування їх гематоксиліном-еозином (за загальноприйнятим в гістологічній практиці методом), пікрофуксином (за Ван-Гізоном: дає змогу вибірково фарбувати сполучну тканину в червоний колір) та триколюбове якісне фарбування за Маллорі–Слінченко [26] із подальшим вивченням препаратів методом світлової мікроскопії.

Статистичну обробку результатів досліджень здійснювали методами варіаційної статистики з використанням стандартного пакета прикладних програм SPSS for Windows 7.0. При цьому для показника визначали вибіркоче середнє значення (M) та похибку середнього (m). Досліджувані співвідношення вважали достовірними при $P < 0,05$.

Результати та обговорення

До проведення біохімічного аналізу крові в різні терміни після перев'язки головного панкреатичного протоку у хвостовій частині підшлункової залози спостерігали за поведінкою прооперованих щурів. Слід відмітити, що відбувалося значне зниження їхньої фізіологічної активності, погіршення апетиту порівняно з контрольною групою.

Деструктивний процес у підшлунковій залозі супроводжується зростанням концентрації вторинного продукту ПОЛ – МДА в плазмі експериментальних тварин (рис. 1). Так, його рівень у групі з гострим панкреатитом збільшується в 1,2 раза з $4,50 \pm 0,23$ нмоль/мл (контроль) до $5,57 \pm 0,16$ нмоль/мл ($P < 0,05$), у щурів перехідної групи концентрація цього показника в плазмі крові поступово зростає, перевищує контрольний показник в 1,8 раза і становить $8,05 \pm 0,19$ нмоль/мл ($P < 0,05$) і в 1,4 раза є вищою за результат попередньої групи ($P < 0,05$). У групі з хронічним панкреатитом вміст МДА в плазмі крові в 1,4 раза є вищим порівняно з контролем і залишається вищим, ніж у I групі ($P < 0,05$). Таким чином, до кінця другого тижня перев'язки головного протоку підшлункової залози відбувається максимальна інтенсифікація процесів ліпопероксидації, що сприяє утворенню вторинних продуктів ПОЛ, інактивуючи катіонні помпи, мембранні протеїни, ензими в крові.

Важливу роль у захисті еритроцитів від продуктів ПОЛ відіграє відновлений глутатіон, оскільки його SH-групи окислюються набагато легше, ніж SH-групи протеїнів, захищаючи, тим самим, останні від окислювальної модифікації.

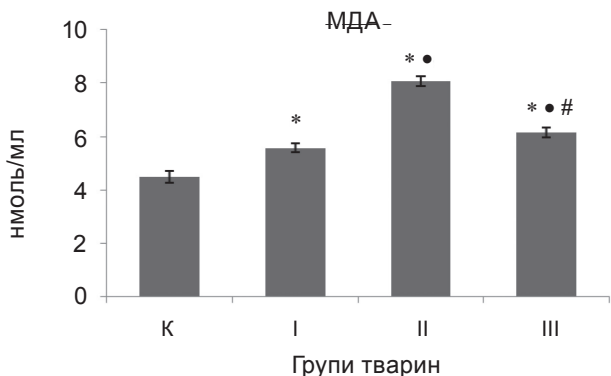


Рис. 1. Вміст малонового діальдегіду в плазмі крові щурів контрольної групи (К), з гострим панкреатитом (I), перехідної (II) та групи з хронічним панкреатитом (III). Тут і на рис. 2–3: * вірогідність різниці порівняно з контрольною групою ($P < 0,05$), • вірогідність різниці порівняно з групою тварин з гострим панкреатитом ($P < 0,05$), # вірогідність різниці порівняно з групою тварин перехідної групи ($P < 0,05$)

Згідно з одержаними даними, зниження вмісту відновленого глутатіону в еритроцитах в експериментальних групах тварин порівняно з контролем ($2,34 \pm 0,07$ ммоль/л) відбувається в 1,2 раза до $1,97 \pm 0,07$ ммоль/л ($P < 0,05$), в 1,3 раза до $1,86 \pm 0,12$ ммоль/л ($P < 0,05$), в 1,4 раза до $1,73 \pm 0,06$ ммоль/л ($P < 0,05$) відповідно для трьох груп (рис. 2, а). Концентрація глутатіону вірогідно знижується, що свідчить про зменшення компенсаторних можливостей глутатіонової ланки в еритроцитах.

Глутатіонзалежні ензими відіграють важливу роль у захисті від оксидативного стресу. Глутатіонредуктаза відновлює окислений глутатіон у відновлений, який необхідний для функціонування глутатіонпероксидази, що в свою чергу відновлює пероксид водню й інші пероксиди. Тому зниження активності цих ензимів є несприятливим фактором [27]. За панкреатиту виникає пригнічення антиоксидантної активності глутатіонпероксидази (рис. 2, б). У щурів із гострим панкреатитом не спостерігаються зміни активності цього ензиму в еритроцитах порівняно з контролем. У II групі тварин активність глутатіонпероксидази вже на 15,6% є нижчою за контрольний показник $202,40 \pm 5,32$ мкмоль GSH/хв-гНб і складає $170,85 \pm 9,87$ мкмоль GSH/хв-гНб ($P < 0,05$), а у щурів із хронічним панкреатитом зниження досягає 22,3% і становить $157,36 \pm 8,54$ мкмоль GSH/хв-гНб ($P < 0,05$). Слід зазначити, що між I та III групами ек-

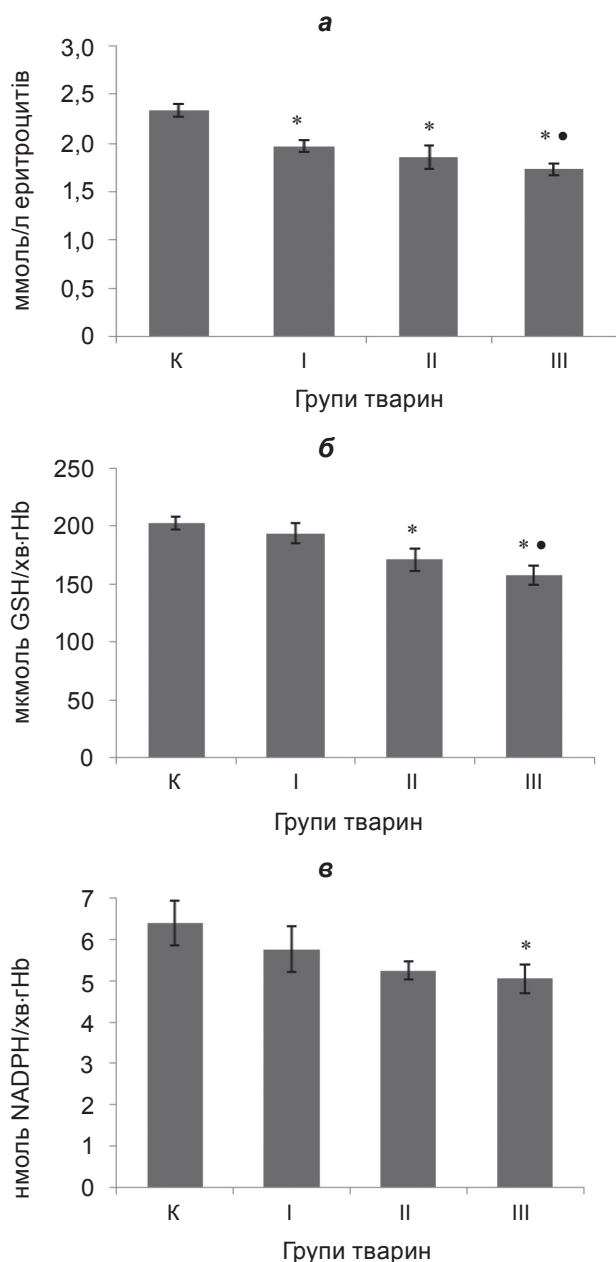


Рис. 2. Динаміка зміни вмісту відновленого глутатіону та активності глутатіонзалежних ензимів у еритроцитах щурів контрольної групи (К), з гострим панкреатитом (I), перехідної групи (II) та з хронічним панкреатитом (III): а – вміст відновленого глутатіону; б – активність глутатіонпероксидази; в – активність глутатіоредуктази

периментальних тварин різниця активності ензиму є вірогідною ($P < 0,05$). Аналогічні зміни стосуються і глутатіонредуктази (рис. 2, в): максимальне зниження її відбувається в групі експериментальних тварин III групи – на 21,0% (до $5,04 \pm 0,36$ нмоль NADPH/хв-гНб;

$P < 0,05$) порівняно з контрольною групою ($6,38 \pm 0,54$ нмоль NADPH/хв·гHb). Одержані дані свідчать про порушення в крові рівноваги між ПОЛ та активністю системи АОЗ – спостерігається активація процесів вільнорадикального окислення на фоні зниження захисних механізмів.

Як відомо, зміна вмісту SH-груп протеїнів у клітині свідчить про порушення в ній окислювально-відновних процесів, в яких сульфгідрильні групи відіграють важливу роль, тому цікаво було з'ясувати стан тіол-дисульфідної системи в еритроцитах щурів з експериментальним панкреатитом на різних етапах його розвитку.

Так, в I та II групі тварин спостерігається тенденція до зниження вмісту тіолів (рис. 3, а). У групі із хронічним панкреатитом цей показник зменшується в 1,2 раза з $87,85 \pm 3,13$ ммоль/л (контроль) до $70,64 \pm 4,50$ ммоль/л ($P < 0,05$). Концентрація дисульфідних груп змінюється протилежно (рис. 3, б) – зростає в усіх трьох групах: в 1,3 раза до $11,86 \pm 0,48$ ммоль/л ($P < 0,05$), в 1,4 раза до $12,45 \pm 0,73$ ммоль/л ($P < 0,05$) та в 1,5 раза до $13,09 \pm 0,70$ ммоль/л ($P < 0,05$) відповідно, на відміну від контролю ($9,00 \pm 1,07$ ммоль/л). У всіх трьох групах спостерігається вірогідне зниження тіол-дисульфідного коефіцієнта в еритроцитах (рис. 3, в) – в 1,5 раза до $6,8 \pm 0,3$, в 1,6 раза до $6,39 \pm 0,15$ і в 1,9 раза до $5,49 \pm 0,50$ ммоль/л відповідно порівняно з контрольною групою ($10,30 \pm 0,96$ ммоль/л). Слід зазначити, що в групі тварин із хронічним панкреатитом зниження цього коефіцієнта є нижчим, ніж у групі з гострим панкреатитом ($P < 0,05$).

Таким чином, накопичення продуктів ПОЛ у плазмі крові супроводжується зниженням активності глутатіонзалежних ензимів (глутатіопероксидази, глутатіонредуктази) і зниженням відновного потенціала глутатіону в еритроцитах і свідчить про виражений окислювальний дисбаланс у крові, який розвивається вже на початковому етапі розвитку панкреатиту і з часом стан хворого погіршується.

Таким чином, перев'язка екзокринного панкреатичного протоку призводить до розвитку окислативного стресу в тканині підшлункової залози, що виявляється значним зростанням вмісту МДА в плазмі крові на тлі пошкодження клітин залози, розвитку внутрішньотканинного набряку та атрофії ацинарної тканини. Так, у I групі експериментальних тварин у підшлунковій залозі спостерігаються зміни, характерні для гострого панкреатиту. У зразку із хвостового відділу за-

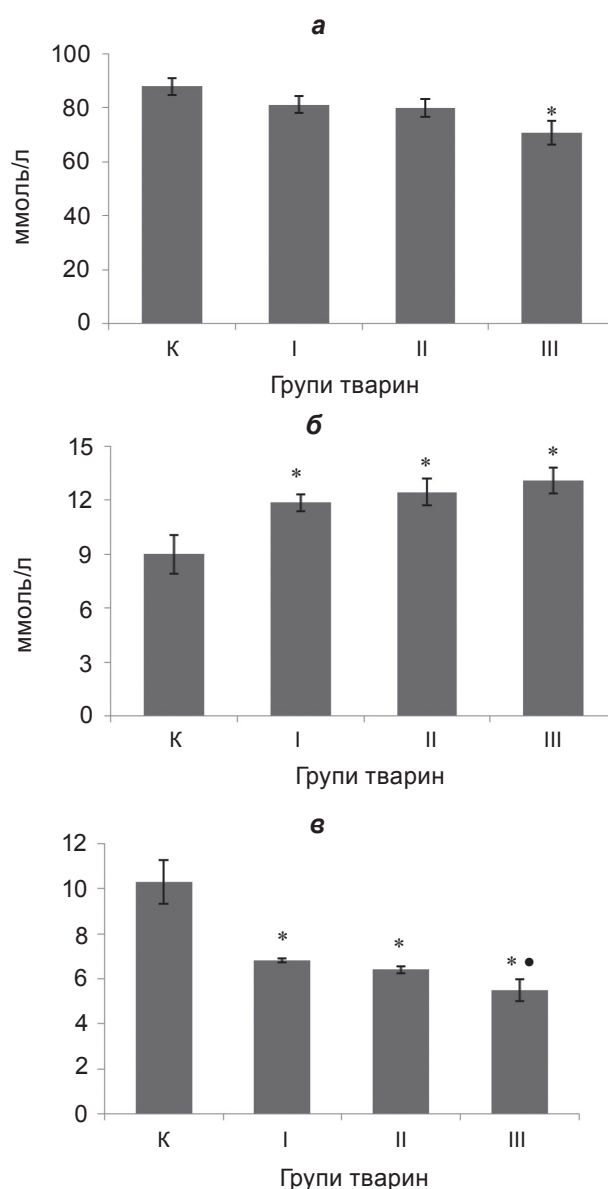


Рис. 3. Динаміка зміни показників тіол-дисульфідної системи та значення тіол-дисульфідного коефіцієнта в еритроцитах щурів контрольної групи (К), з гострим панкреатитом (I), перехідної групи (II) та з хронічним панкреатитом (III): а – вміст тіолів; б – вміст дисульфідів; в – тіол-дисульфідний коефіцієнт

лози відмічено лімфоцитарну та еозинофільну інфільтрацію, некроз, гіперплазію островків Лангерганса. Реакція Ван-Гісона показала наявність інфільтрації лімфоцитів і еозинофілів до внутрішньодолькових і міждолькових септ. Характерним є розростання фіброblastів у вигляді вузьких неперервних і розгалужених тяжів. У голівці підшлункової залози спостерігається лімфоцитарна інфільтрація в сполучнотканинних прошарках, гіперплазія

лімфоцитарних фолікул, еозинофільна інфільтрація в лімфовузлах.

Одержані нами результати вказують на те, що запальні процеси в підшлунковій залозі призводять до активації ензимів антиоксидантного захисту — глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в крові.

На сьогодні основним методом оцінки стану зовнішньосекреторної функції підшлункової залози є визначення активності панкреатичних ензимів у плазмі крові. Для гострих атак панкреатиту характерне надходження ензимів у кров, що є непрямим свідченням пошкодження ацинарних клітин і порушення відтоку панкреатичного секрету. Про порушення екзокринної функції підшлункової залози під час розвитку експериментального гострого панкреатиту в дослідних щурів свідчить і підвищення в плазмі крові рівня панкреатичних ензимів: активність α -амілази ($190,8 \pm 23,7$ мг/с-л) зростає в 3 рази порівняно з контрольним значенням ($62,6 \pm 4,2$ мг/с-л; $P < 0,001$); трипсину — $20,7 \pm 1,6$ мкмоль/мл-хв — в 3,2 рази (псевдооперовані щури — $6,4 \pm 0,7$ мкмоль/хв-мл; $P < 0,001$); ліпази — $2,1 \pm 0,09$ нмоль/с-л — в 1,9 рази (контроль — $1,1 \pm 0,2$ нмоль/с-л; $P < 0,001$).

Морфологічне дослідження тканини залози щурів II групи (перехідної) показало розвиток індуративного панкреатиту, наявність великої кількості нейтрофільних сегментоядерних лейкоцитів, склероз судин у зразку із хвостового відділу. У тілі підшлункової залози також виявляється індуративний панкреатит, продовжується загострення, характерною є наявність нейтрофільних сегментоядерних лейкоцитів із домішкою еозинофільних у прошарках між розрізненими островками ацинарної тканини (реакція Ван-Гізона). Спостерігається міждольковий фіброз, внутрішньодольковий є легшим. Тривале запалення в підшлунковій залозі підтверджується подальшим зростанням у плазмі крові концентрації МДА, але антиоксидантна система еритроцитів починає знижуватися. У цій групі тварин активність α -амілази, трипсину, ліпази в плазмі крові вже є нижчою за попередню групу, але більшою за контроль в 2,3 рази ($144,1 \pm 16,0$ мг/с-л; $P < 0,001$), в 2,7 рази ($17,3 \pm 1,5$ мкмоль/мл-хв; $P < 0,01$) та в 1,8 рази ($1,99 \pm 0,2$ нмоль/с-л; $P < 0,001$) відповідно.

Аналіз зразків із хвостового відділу підшлункової залози тварин III групи виявив склероз судин, фіброз, гранулому, що характерне для хронічної форми панкреатиту. Реакція Ван-Гізона свідчить про

міждольковий та внутрішньодольковий фіброз, а в тілі органа виявлено внутрішньодолькову фібробластичну реакцію у вигляді вузьких і широких розгалужених міждолькових тяжів навколо судин. Хронізація панкреатиту супроводжується атрофією ацинарної тканини підшлункової залози та заміщенням її фіброзною. Таким чином, із втратою значної частини паренхіми залози та розвитку в ній фіброзу в щурів із хронічним панкреатитом розвивається зовнішньосекреторна недостатність органа. Так, активність травних ензимів у щурів III групи знижується порівняно з I групою (α -амілаза — в 1,5 рази $91,5 \pm 6,4$ мг/с-л; $P < 0,01$), трипсин — в 1,8 рази ($11,6 \pm 0,7$ мкмоль/мл-хв; $P < 0,001$), ліпаза — в 1,4 рази $1,60 \pm 0,09$ нмоль/с-л; $P < 0,01$), хоча все ще залишається вищою за контроль.

Затухання гострого запалення в ураженому органі супроводжується зниженням вільнорадикальних реакцій у тканині, відповідним зниженням у крові вторинного продукту ПОЛ — МДА та послабленням АОЗ.

На рис. 4. представлено зразок тканини підшлункової залози щура III групи, де можна відмітити атрофію ацинарної тканини та значний фіброз органа: навколо дольок (перилобулярний), міждольковий та навколо ендокринних островків. Морфологічний аналіз зразків із підшлункової залози щурів контрольної групи представлено на рис. 5. Серед екзокринної тканини розташувалися островки Лангерганса різної форми та розміру. Ациноси мають нормальну будову (рис. 5).

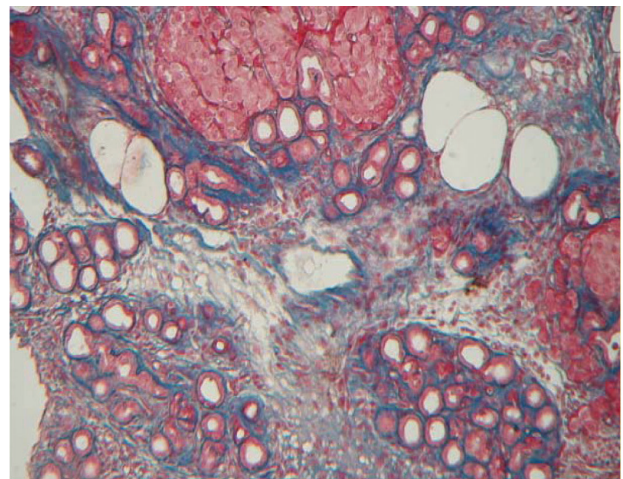


Рис. 4. Наслідок 30-денної перев'язки головного панкреатичного протоку експериментальних щурів. Атрофія ацинарної тканини. Реакція Маллорі-Слінченко, $\times 400$

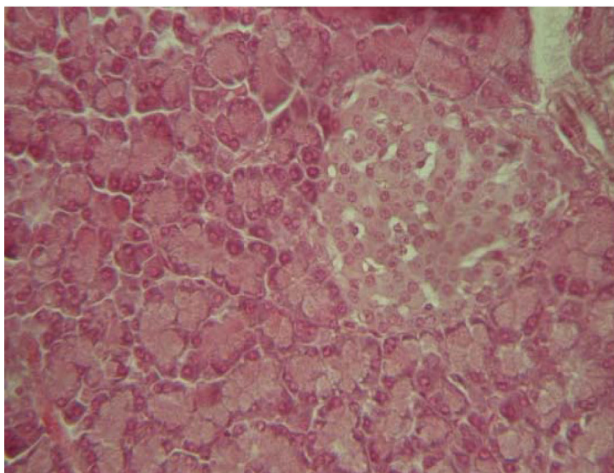


Рис. 5. Нормальна структура підшлункової залози. У правому куті острівць Лангерганса. Забарвлення гематоксилін-еозином, $\times 400$

Отже, одержані результати вказують на те, що в умовах перев'язки головного панкреатичного протоку в експериментальних щурів розвивається гострий панкреатит, який поступово переходить у хронічну форму, що супроводжується розвитком фіброзу органа. У тварин на початковому етапі розвитку цієї патології спостерігається інтенсифікація процесів ПОЛ, що виявляється накопиченням у крові МДА, і за хронізації панкреатиту оксидативний стрес у тканині залози зменшується. Вивчення показників антиоксидантної системи крові показало, що у щурів під час розвитку експериментального хронічного панкреатиту, відбувається зниження вмісту SH-груп, тіол-дисульфідного коефіцієнта і

зростання наявності -S-S-зв'язків та зменшення концентрації відновленого глутатіону й активності глутатіонзалежних ензимів – глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в еритроцитах.

СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА КРОВИ КРЫС И МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОСТРОГО И ХРОНИЧЕСКОГО ПАНКРЕАТИТА

*В. А. Макаrchук¹, Г. А. Ушакова²,
Е. А. Крылова¹*

¹ГУ «Институт гастроэнтерологии
НАМН Украины», Днепропетровск;

²Днепропетровский национальный университет
имени Олеся Гончара, Украина;
e-mail: viktoriam7@gmail.com

В эксперименте на крысах моделировали острый и хронический панкреатит. Показан характер изменений показателей системы пероксидное окисление липидов – антиоксидантная защита в зависимости от поражения поджелудочной железы. Развитие острого и хронического панкреатита сопряжено с интенсификацией липопероксидации и постепенным угнетением антиоксидантной системы крови в ходе хронизации патологического процесса.

Ключевые слова: малоновый диальдегид, энзимы обмена глутатиона, острый панкреатит, хронический панкреатит.

**THE GLUTATHIONE SYSTEM
IN THE BLOOD OF RATS AND
MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE
PANCREAS UNDER EXPERIMENTAL
ACUTE AND CHRONIC PANCREATITIS**

V. A. Makarchuk¹, G. O. Ushakova²,
O. O. Krylova¹

¹SI Institute of Gastroenterology, National Academy
of Medical Sciences of Ukraine, Dnipropetrovsk;

²Oles' Gonchar Dnipropetrovsk
National University, Ukraine;
e-mail: viktoriam7@gmail.com

In experiment on laboratory rats the models of acute and chronic pancreatitis were developed to study the changes of lipoperoxidation-antioxidant protection system depending on morphological changes of the pancreas. The acute and chronic pancreatitis is accompanied with intensification of lipoperoxidation and gradual inhibition of antioxidant system due to development of subsequent chronization of the pathological process.

Key words: malonic dialdehyde, exchange enzymes of glutathione, acute pancreatitis, chronic pancreatitis.

1. Костюшова Н. В. // Одес. мед. журн. – 2010. – **119**, № 3. – С. 61–64.
2. Packer L., Cadenas E. // Free Rad. Research. – 2007. – N 9. – P. 951–952.
3. Чуянова Е. В. Уровень свободнорадикального окисления в ферментативной фазе острого панкреатита и его прогностическое значение. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – С.-П., 2009. – 25 с.
4. Hackert T., Werner J. // Antioxid. Redox Signal. – 2011. – **10**, N 15. – P. 2767–2776.
5. Скляр О. Я., Курляк Н. В., Шалько І. В. // Эксперим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2010. – № 2. – С. 79–83.
6. Aghdassi A. A., Mayerle J., Christchowicz S. et al. // Fibrogenesis Tissue Repair. – 2011. – **4**. – P. 26–42.
7. Фадеенко Г. Д., Дубров К. Ю. // Сучасна гастроентерологія. – 2010. – **55**, № 5. – С. 69–75.
8. Tandon R. K., Garg P. K. // Antioxid. Redox Signal. – 2011. – **10**, N 15. – P. 2757–2766.
9. Sah R. P., Garg P., Saluja A. K. // Curr. Opin. Gastroenterol. – 2012. – **28**, N 5. – P. 507–515.
10. Grigsby B., Rodriguez-Rilo H., Khan K. // Dig. Dis. Sci. – 2012. – **57**, N 4. – P. 835–841.
11. Воронкин Д. А. Метаболические изменения в органах и крови при экспериментальном хроническом панкреатите. Автореф. дис. ... канд. мед. наук – Краснодар, 2011. – 24 с.
12. Abu-Hilal M., McPhail M. J., Marchand L. // J. Pancreas. – 2006. – **2**, N 7. – P. 185–192.
13. Цимбаліста О. Л., Ерстенюк Г. М., Гаврилюк О. І. // Перинатологія і педіатрія. – 2011. – **48**, № 4. – С. 73–75.
14. Христич Т. М., Телекі Я. М. // Сучасна гастроентерологія. – 2006. – **30**, № 4 – С. 80–84.
15. Степовая Е. А., Жаворонок Т. В., Петина Г. В. та ін. // Бюллетень СО РАМН. – 2010. – **30**, № 5. – С. 64–69.
16. Степовая Е. А., Петина Г. В., Жаворонок Т. В. та ін. // Бюллетень експерим. біології і медицини. – 2010. – **150**, № 8. – С. 161–165.
17. Ballatori N., Krance S. M., Notenboom S. et al. // Biol. Chem. – 2009. – **390**. – P. 191–214.
18. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідах // Екперим. та клін. фізіологія та біохімія. – 2003. – **22**, № 2. – С. 108–109.
19. Benedikt J. Page, Don F. du Toit, Christo J. F. Muller et al. // J. Pancreas. – 2000. – **1**, N 4. – P. 191–203.
20. Овсянникова М. М., Альохіна С. М., Дробінська О. В. Біохімічні та біофізичні методи оцінки порушень окислювального гомеостазу в осіб, що зазнали радіаційного впливу внаслідок аварії на ЧАЕС: Метод. рекомендації. – К., 1999. – 6 с.
21. Верёвкина И. В., Точилкин А. А., Попова Н. А. / Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – С. 223–231.
22. Переслегина И. А. // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 20–23.
23. Разыграев А. В. // Успехи геронтологии. – 2010. – **23**, № 3. – С. 392–395.
24. Горячковский А. М. Клиническая биохимия. – Одесса: Астропринт, 1998. – 608 с.
25. Логинов А. С., Асташенкова К. Ю. // Лаб. дело. – 1986. – № 8. – С. 463 – 466.
26. Сапожников А. Г., Доросевич А. Е. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство. – Смоленск: САУ, 2000. – 477 с.
27. Кулинский В. И. // Бюллетень ВСНЦт СО РАМН. – 2005. – **1**, № 39. – С. 63–65.

Отримано 02.07.2012