

ГИСТОЭНЗИМОХИМИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК ПРИ ОСТРОЙ ГЕМИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

А.Б.Попович

Резюме. В опытах на 50 белых нелинейных крысах-самцах при острой гемической гипоксии установлено торможение активности сукцинатдегидрогеназы в проксимальных и дистальных отделах нефрона и щелочной фосфатазы в проксимальном канальце. Снижение активности сукцинатдегидрогеназы в печени, особенно на уровне третьего функционального участка, сопровождается активацией тканевого фибринолиза и протеолиза по лизису азоколагена.

Ключевые слова: печень, почка, острая гемическая гипоксия, щелочная фосфатаза, сукцинатдегидрогеназа.

HISTOCHEMICAL AND BIOCHEMICAL SPECIFIC CHARACTERISTICS OF THE LIVER AND KIDNEYS UNDER CONDITIONS OF ACUTE HEMIC HYPOXIA

Н.В.Попович

Abstract. An inhibition of the activity of succinate dehydrogenase in the proximal and distal portions of the nephron and alkaline phosphatase in the proximal tubule has been established in experiments on 50 non-strain sexually mature male rats with acute hemic hypoxia. A diminution of the succinate dehydrogenase activity in the liver, particularly, at the level of the third functional area is accompanied with the activation of tissue fibrinolysis and proteolysis in case of azocollagen lysis.

Key words: liver, kidney, acute hemic hypoxia, alkaline phosphatase, succinate dehydrogenase.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi).

Надійшла 09.01.2007 р.
Рецензент – доц. І.Ф.Курченко (Чернівці)

© Кошельник О.Л., Попов О.Г., Десятський В.В.

УДК 591.437:616.37-002

ІМУНОФЕРМЕНТНА ДІАГНОСТИКА L-АРГІНІНІНДУКОВАНОГО ГОСТРОГО ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТУ

О.Л.Кошельник, О.Г.Попов, В.В.Десятський

Кафедра оперативної хірургії та топографічної анатомії (зав. – проф. О.Г.Попов) Одеського державного медичного університету

Резюме. Робота присвячена вивченню основних патогенетичних ланок L-аргінініндукованого гострого експериментального панкреатиту з метою розроблення нових методів ранньої діагностики гострого панкреатиту. Показано, що зміна концентрації ФНП α в сироватці крові є ранньою ознакою, визначення якої можна використати для клінічної діагностики гострого панкреатиту на його ранніх стадіях.

Ключові слова: гострий експериментальний панкреатит, фактор некрозу пухлини-альфа, діагностика.

Діагностика гострого панкреатиту переважно стосується вивчення ферментних та інших біо-

хімічних тестів [1-2]. Методи специфічної ферментної діагностики ГП не розроблені. Тому актуальним питанням є розробка принципів та основних методологічних засад ранньої діагностики гострого ураження паренхіми підшлункової залози (ПЗ).

Мета дослідження. З'ясувати патофізіологічні механізми розвитку L-аргінініндукованого гострого експериментального панкреатиту (ГЕП) для розробки патогенетично обґрунтованого методу ранньої діагностики гострого панкреатиту.

Матеріал і методи. Дослідження проводили на 84 лабораторних щурах обох статей через 6, 12 та 24 год., 2-5 днів з моменту індукції ГЕП, який відтворювали двома внутрішньоочеревинними ін'єкціями 20 % розчину L-аргініну ("Sigma Chemical Co", USA) в сумарній дозі 5 г/кг з одногодинним інтервалом. Механізм дії L-аргініну базується на синтезі біологічно агресивної речовини – оксиду азоту [3]. Контрольним тваринам вводили однаково кількість ізотонічного розчину натрію хлориду. Концентрацію ФНП_α визначали імуноферментним методом за допомогою поліклональних антитіл. Після евтаназії у тварин брали кров, центрифугували при 2500 об/хв протягом 10 хв. Надосадну рідину в кількості 100 мкл вмішували у спеціально підготовлені у планшеті мікротіали фірм "Amersham" (Англія) та "Imtino Nuclear Corporation" (США). Кількісну оцінку результатів проводили методом побудови калібрувального графіка, зіставляючи результати з кривою за-

лежності оптичної густини розчину від концентрації стандартного антигена.

Результати дослідження та їх обговорення. Цікавість до ефектів нової системи пептидів – цитокінів – у панкреатології виник в останні роки. Цитокіни здатні контролювати власний синтез, активно впливати на синтез білків та життєдіяльність клітин, що не відносяться до імунної системи. Здатність клітин імунної системи генерувати синтез цитокінів може впливати на перебіг патологічного процесу, а при їхній надлишковій експресії – призвести до недостатності органа чи смерті хворого [4-5].

Визначення рівнів цитокінів при різних захворюваннях базується на таких положеннях: 1) цитокіни є важливими чинниками імунопатогенезу багатьох запальних, інфекційних, аутоімунних та алергічних захворювань; 2) цитокіни здатні індукувати системні реакції у людей; 3) нейтралізація ендогенних цитокінів у деяких випадках призводить до зменшення клінічних ознак захворювання.

Наша робота продемонструвала, що надмірні дози L-аргініну призводять до біохімічних та морфологічних змін у тканині ПЗ. Активовані панкреатичні макрофаги у відповідь на пошкодження виробляють прозапальні цитокіни. Останні можуть діяти як місцево, погіршуючи перебіг гострого панкреатиту, так і системно, збіль-

Концентрація

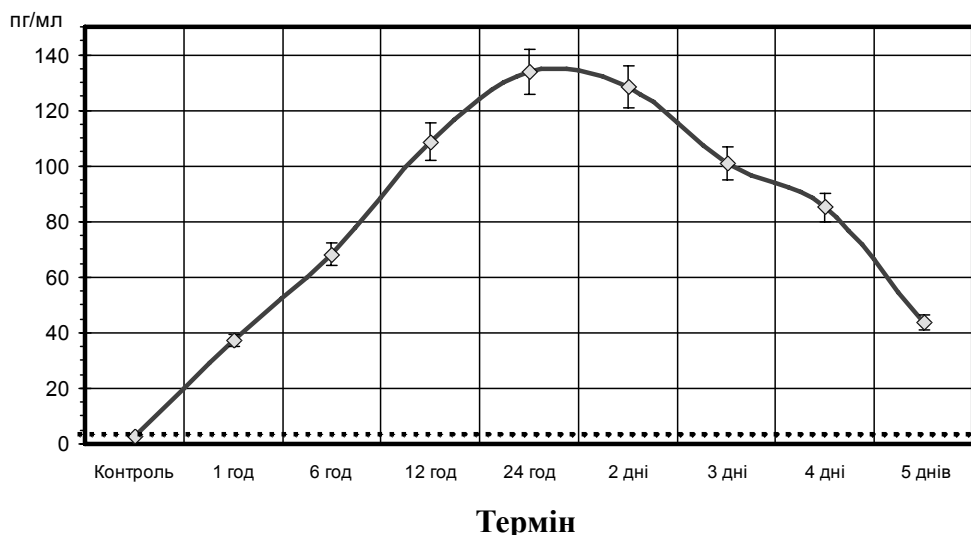


Рис. Зміна концентрації ФНП_α в крові щурів з L-аргінініндукованим гострим експериментальним панкреатитом. По осі абсцис – час з моменту відтворення ГЕП; по осі ординат – величина досліджуваного показника у порівнянні з аналогічними даними до моменту введення L-аргініну; $p < 0,001$ – вірогідні зміни в порівнянні з контролем.

шуючи капілярну проникність, потенціуючи адгезію лейкоцитів та крововиливи. ФНП α є, можливо, одним з найважливіших прозапальних цитокінів, що організують ранні відповіді в запальних реакціях і здатні призвести до недостатності органа (H.P.Grewal et al., 1994).

Нині для визначення рівня цитокінів у біологічних рідинах застосовують різноманітні методи твердофазного імуноферментного аналізу. В цих системах використовують набори з кількох антитіл. Як перші використовують моноклональні антитіла, які сорбуються на 96-ямоквих планшетах і здатні вихоплювати антиген (цитокін) із розчину.

У сироватці крові контрольних тварин концентрація ФНП α становила $2,8 \pm 0,3$ пг/мл (рисунок). Цей показник коливався протягом всього експерименту в межах 3-10 %, що не мало істотної різниці з первинними даними ($p > 0,05$). Через годину дослідження концентрація ФНП α у крові тварин контрольної групи підвищилася на 3,5 %. З 12 год. до третьої доби дослідження спостерігалось її зростання на 7-11 %. На 4-5 добу величини досліджуваного показника повернулися до початкових величин. Через годину після введення тваринам L-аргініну концентрація ФНП α зросла у 13,4 раза. Через 6 год. з моменту відтворення ГЕП концентрація ФНП α дорівнювала $68,2 \pm 7,4$ пг/мл, що в 24,4 раза перевищило початкові показники. Концентрація ФНП α надалі зросла ще більше, досягаючи максимуму на 24 год. з моменту введення L-аргініну, коли величина досліджуваного показника в 43,3 раза перевищила концентрацію ФНП α у тварин контрольної групи. З другого дня від моменту відтворення ГЕП, відзначалося поступове зниження досліджуваного показника, однак його величина залишалася істотно більшою в порівнянні з початковими результатами. На другий день дослідження концентрація досліджуваного показника дорівнювала $128,4 \pm 10,7$ пг/мл, що в 44,3 раза більше за відповідні початкові дані. На третій день дослідження концентрація ФНП α в сироватці крові щурів із L-аргінініндукованим ГЕП становила $101 \pm 9,5$ пг/мл, що в 34,8 раза більше порівняно з початковими даними. На четвертий день дослідження концентрація ФНП α в сироватці крові щурів із L-аргінініндукованим ГЕП становила $85,5 \pm 9,0$ пг/мл, що в 29,6 раза більше порівняно з первинними даними. На п'ятий день концентрація ФНП α в крові

щурів дорівнювала $43,7 \pm 5,1$ пг/мл, що у 15,6 раза більше від аналогічних початкових показників і контрольних результатів.

Результати досліджень свідчать, що в крові щурів у процесі формування гострого запального ураження паренхіми ПЗ внаслідок введення L-аргініну відзначається значне зростання концентрації ФНП α . Проте точне походження цих цитокінів невідоме. Вони могли продукуватися активізованими макрофагами пошкодженої ПЗ або черевними макрофагами, стимульованими внутрішньоочеревинною ін'єкцією L-аргініну. Подібні гуморальні зміни відзначаються з першої години перебігу ГЕП, коли ще відсутні виражені морфологічні та біохімічні прояви патологічного процесу в тканині ПЗ, і досягають максимуму через 24 год. Лабораторні та морфологічні дослідження показали, що змінам біохімічних показників та структури тканини ПЗ передувало збільшення концентрації цитокіну в сироватці крові. Така рання реакція організму оцінюється нами як прояв одного з патогенетичних механізмів L-аргінініндукованої моделі ГЕП.

Висновок. Перебіг L-аргінініндукованого гострого панкреатиту супроводжується різким зростанням концентрації в сироватці крові ФНП α , що свідчить про непрямий вплив прозапального цитокіну на патогенез гострого панкреатиту і може розглядатися як прояв активності імунної системи. Підвищення концентрації ФНП α у сироватці крові щурів з L-аргінініндукованим гострим експериментальним панкреатитом є раннім діагностичним показником, визначення якого може бути використане у клінічній діагностиці гострого панкреатиту на його початкових стадіях розвитку.

Перспективи подальших досліджень. Дотепер залишаються невирішеними питання діагностики різних форм гострого панкреатиту (частота помилкових діагнозів становить 10-50 %), прогнозування перебігу та результатів його лікування [6-7]. Роль визначення активності протеолітичних ферментів підшлункової залози, зокрема, трипсину в діагностиці гострого панкреатиту не з'ясована. Активне зв'язування цих ферментів інгібіторними системами крові, а також їхня участь у ряді фізіологічних механізмів (зсідання, кініноутворення) не дозволяють отримати достеменні відомості про систему протеолізу. Завдяки розвитку методів кількісного

визначення рівня продукції цитокінів досягнуто значного прогресу у розумінні ролі деяких цитокінів. Застосування діагностичних імунних тест-систем для оцінки цитокінового статусу як на місцевому, так і на системному рівнях при різних патологічних станах є важливим допо-

вненням для розуміння патогенезу захворювань. Визначення рівня цитокінів із використанням імунферментних діагностичних тест-систем дозволяє по-новому підійти до вивчення стану імунної системи організму в клінічній практиці.

Література

1. Бабий Я.С., Момот Н.В., Савченко Е.А. Комплексная диагностика панкреатитов // Лікування та діагностика. – 1999. – № 2-3. – С. 66-69.
2. Мішалов В.Г., Бурка А.О., Храпач В.В. Аналіз проблем діагностики та лікування хворих на гострий панкреатит // Хірургія України. – 2003. – № 3 (7). – С. 5-7.
3. Czako L., Takacs T., Varga I.S. The pathogenesis of L-arginine-induced acute necrotizing pancreatitis: Inflammatory mediators and endogenous cholecystokinin // Physiology (Paris). – 2000. – V. 94. – P. 43-50.
4. Эфрон А.Г. Цитокины как иммуномодуляторы течения воспалительного процесса. – Смоленск, 1998.
5. Демидов В.М., Годован В.В., Демидов С.М., Кошельник О.Л. Цитокін-спричинені регуляторні ефекти в щурів за умов L-аргінініндукованого гострого панкреатиту // Бук. мед. вісник. – 2003. – Т. 7, № 1-2. – С. 40-42.
6. Kemppainen E. Early phase of acute pancreatitis, screening, diagnosis and severity grading with new laboratory markers and imaging techniques // Ann. Surg. et Gynaecol. – 1998. – № 1. – P. 75-76.
7. Булдышкин В.В., Капиштарь А.В., Кравец Н.С. Диагностика и лечение деструктивного панкреатита // Клін. хірургія. – 2003. – № 1. – С. 10-11.

ИММУНОФЕРМЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА L-АРГИНИНИНДУЦИРОВАННОГО ОСТРОГО ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПАНКРЕАТИТА

Е.Л.Кошельник, А.Г.Попов, В.В.Десятский

Резюме. Работа посвящена изучению основных патогенетических звеньев развития L-аргинининдуцированного острого панкреатита (ОП) с целью разработки новых методов ранней диагностики ОП. Изменение концентрации ФНО α в сыворотке крови является ранним признаком, определение которого может быть использовано в клинической диагностике ОП на его начальных стадиях.

Ключевые слова: острый экспериментальный панкреатит, фактор некроза опухоли-альфа, диагностика.

IMMUNOENZYMATIC DIAGNOSIS OF L-ARGININE-INDUCED ACUTE EXPERIMENTAL PANCREATITIS

О.Л.Косхел'ник, О.Г.Попов, В.В.Десятский

Abstract. The paper deals with a study of the basic pathogenetic components of L-arginine-induced acute experimental pancreatitis for the purpose of elaborating new methods of early diagnosis of acute pancreatitis. A change of the concentration of blood serum tumor necrosis factor- α has been shown to be an early sign whose detection may be used for the clinical diagnosis of acute pancreatitis at its early stages.

Key words: acute experimental pancreatitis, tumor necrosis factor-alpha, diagnosis.

State Medical University (Odesa)

Надійшла 13.01.2007 р.
Рецензент – д.м.н. Р.І.Сидорчук (Чернівці)