

УДК 611.37:616.36-008.811.5:[618.3-092.9:615.242.244/245]

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УРСОФАЛКА ДЛЯ КОРРЕКЦИИ СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ НАРУШЕНИЙ ЭКЗОКРИННОЙ ЧАСТИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОТОМСТВА, ВЫЗВАННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ХОЛЕСТАЗОМ БЕРЕМЕННЫХ САМОК

Л. А. Можейко

Кафедра цитологии, гистологии и эмбриологии
УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Цель настоящей работы изучить возможную роль урсофалка в коррекции структурно-функциональных нарушений поджелудочной железы потомства, вызванных экспериментальным холестазом их матерей. Эксперименты выполнены на 24 крысах-самках и 34 родившихся от них крысятах. На 12 день беременности (в период активного фетогенеза) взрослым крысам производили перевязку общего желчного протока. Поджелудочную железу родившихся крысят исследовали морфологическими и гистохимическими методами. Установлено, что ежедневное введение урсофалка per os в дозе 50 мг/кг беременным самкам с момента вызывания у них холестаза и одну неделю после родов частично восстанавливало структуру и увеличивало пониженную активность сукцинатдегидрогеназы, НАДН-дегидрогеназы и содержание фосфолипидов и рибонуклеопротеидов в поджелудочной железе 15-суточных крысят.

Ключевые слова: холестаз, беременность, потомство, поджелудочная железа, структурно-функциональные нарушения.

The aim of the study was to examine a possible role of ursofalk in correction of the structure-functional damage of the posterity pancreas caused by the experimental maternal cholestasis. The experiments were carried out on 24 female rats and 34 yang rats born from them. On the 12th day of pregnancy (during the active period of organ isolation) full ligation of the common bile duct was performed in adult rats. The pancreas of the born rat pups was subjected to morphological and histochemical examination. It has been established that oral daily administration of ursofalk in the dose of 50 mg/kg to the pregnant female rats from the time of cholestasis induction to the labor and 1 week after that partly improved morphological and histochemical disturbances of the pancreas and increased the lowered activity of succinate dehydrogenase, NADH-dehydrogenase as well as phospholipids and ribonucleoproteids content in the pancreas of 15 day rat pups.

Key words: cholestasis, pregnancy, pancreas, progeny, structure-functional damage.

Известно, что даже при нормально протекающей беременности происходит изменение функций гепатобилиарной системы. Повышается секреция холестерина в желчь, уменьшается синтез желчных кислот и их энтерогепатическая циркуляция, возрастает литогенность желчи. Поэтому дополнительные нагрузки на гепатобилиарную систему, которые возникают при развитии холестаза беременных, нередко приводят к клинически значимым нарушениям. Холестаз чаще всего начинается в последнем триместре беременности, проявляясь зудом, желтухой, повышением в сыворотке крови билирубина, щелочной фосфатазы, пула желчных кислот [2]. Он ухудшает не только состояние матери, но и плода [14]. Показатели мертворожденности и смертности в раннем возрасте при холестазе беременных оказываются значительно выше, чем при нормальной беременности [12]. В патологический процесс вовлекаются не только печень, но и сопряженные органы, в первую очередь, поджелудочная железа, что объясняется их тесной анатомо-функциональной связью [3]. Предполагается,

что морфологической основой развивающихся симптомов служит повреждение мембран гепатоцитов. Наблюдаемое при этом накопление продуктов ПОЛ может играть ключевую роль в повреждении клеток, а также привести к дополнительным нарушениям в организме и усилению эндотоксикоза [1, 10]. Урсодезоксихолевую кислоту (УДХК) используют для лечения холестатических заболеваний печени, поскольку она не токсична вследствие гидрофильности молекулы и предохраняет клетки от цитотоксического действия гидрофобных желчных кислот, стимулирует гепатобилиарную секрецию и защищает гепатоциты от кислотно-индуцированного апоптоза [8]. По мнению Stiehl Adolf [13], механизм действия УДХК состоит в вытеснении токсических желчных кислот из энтерогепатической циркуляции. Кроме того, урсодезоксихолевая кислота способна непосредственно встраиваться в мембраны гепатоцитов и оказывать цитопротективное действие, предотвращать развитие аутоиммунных реакций [7]. Доказана ее способность индуцировать выработку антиоксидантов,

тем самым защищая гепатоциты от окислительного повреждения [3]. Сведения о возможности применения у беременных урсофалька (урсодезоксихолевой кислоты) для коррекции последствий, вызванных холестазом, неоднозначны. В исследованиях ряда авторов, проведенных на пациентках, находившихся в последнем триместре беременности, применение урсофалька приводило к быстрому уменьшению зуда и снижению лабораторных показателей холестаза. Ни у матерей, ни у новорожденных нежелательных побочных эффектов не наблюдалось [11]. В работе M. M. Davies et al. [9] было выявлено даже положительное действие урсофалька на показатели мертворожденности и смертности в раннем возрасте. В других случаях результаты клинических наблюдений показали улучшение биохимических параметров крови и состояния матери, однако снижение риска для плода не доказано [14]. Более того, в экспериментах на животных появились данные о неблагоприятном влиянии УДХК на развивающийся плод. Подобные наблюдения при применении урсофалька у человека отсутствуют. Учитывая вышеизложенное, нами была поставлена задача выяснить, возможно ли применение урсофалька для коррекции структурно-функциональных нарушений поджелудочной железы потомства, родившегося от самок с экспериментальным обтурационным холестазом.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 24 беременных белых крысах-самках весом 170-180 г и 34 крысятах, родившихся от них. Все крысята были разделены на 3 группы. В первую группу вошли крысята, родившиеся от самок, которым на 12-е сутки после определения беременности, т. е. в период раннего фетогенеза, производили перевязку общего желчного протока. Во вторую группу вошли крысята, родившиеся от самок, которые после операции с момента создания обтурационного холестаза ежедневно до родов и одну неделю после родов получали рег ос урсофальк в дозе 50 мг/кг. Третью группу составили крысята, родившиеся от самок, которым производилась ложная операция – только лапаротомия. Они служили контролем. За самками и родившимися от них крысятами велось тщательное наблюдение. На 15-е сутки развития (ранний постнатальный период) контрольных и опытных крысят подвергали эвтаназии парами эфира. Часть материала, взятого из поджелудочной железы, фиксировали в жидкости Карнуа и заключали в парафин. Изготовленные срезы, толщиной 5-6 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином. Гранулы зимогена выявляли по Гейденгайну и Пачини. Подсчет гранул проводили в апикальной зоне экзокринных панкреатоцитов, удаленных от панкреатических островков с последующим вычислением среднего содержания гранул на стандартной площади среза. Парафиновые срезы толщиной 10

мкм использовали для определения содержания рибонуклеопротеидов по Эйнарсону и щелочной фосфатазы. Вторую часть материала, взятого из поджелудочной железы, замораживали в жидком азоте, монтировали на объектодержателе параллельно контроль-опыт и помещали в криостат для изготовления срезов. Последние использовали для определения общепринятыми гистохимическими методами активности ферментов – сукцинатдегидрогеназы (СДГ), дегидрогеназы восстановленного никотинамиддинуклеотида (НАДН·ДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), кислой фосфатазы (КФ) и содержания фосфолипидов. При помощи системы компьютерного анализа изображения «Bioscan NTI 2,0» производили визуальную количественную оценку изучаемых веществ и морфометрию ацинусов (их диаметр, величину ацинарных клеток и их функциональных зон). Полученный цифровой материал подвергали статистической обработке на персональном компьютере с применением пакета программ «Statistica 6,0» для «Windows».

Результаты и их обсуждение

В предыдущей работе нами установлено, что в раннем постнатальном периоде онтогенеза у 80% крысят, родившихся от матерей, которым через 12 дней после определения беременности производили перевязку общего желчного протока, в экзокринной части поджелудочной железы выявлены структурные и метаболические нарушения [5].

При получении беременными крысами урсофалька морфологическая картина поджелудочной железы потомства заметно меняется. Толщина соединительнотканых прослоек между дольками, которые часто увеличены за счет отека, вызванного холестазом, уменьшается. Доля стромы снижается с $19,8 \pm 0,4\%$ до $17,1 \pm 0,3\%$ ($p < 0,05$), что практически соответствует контрольным значениям. Вследствие этого отмечается более плотное расположение основных структурно-функциональных единиц органа – ацинусов, соответственно, стабилизируется коэффициент стромально-паренхиматозных отношений, являющийся важным функциональным показателем органа. Нормализуются размеры долей. Их структура характеризуется гетерогенностью, которую можно рассматривать как биологически целесообразное приспособление, дающее возможность органу вырабатывать панкреатический сок непрерывно. Диаметр телеинсулярных концевых отделов и высота экзокринных панкреатоцитов соответствует таковым у контрольных крысят и, как видно из представленной таблицы 1, не показывают статистически достоверных изменений.

В подавляющем большинстве крысят этой группы зимогенная и гомогенная зоны цитоплазмы ациноцитов хорошо различимы, обладают характерными тинкториальными свойствами. По морфометрическим данным, их размеры приближаются к

Таблица 1 – Количественные параметры ацинусов поджелудочной железы 15-суточных крысят, родившихся в условиях холестаза (M±m)

Исследованные параметры	Контроль (мкм)	Холестаз (мкм)	Холестаз+урсофальк (мкм)
Диаметр ацинусов	22,09±0,42	21,45±0,51	21,60±0,53
Высота экзокринных панкреатоцитов	10,10±0,24	9,82±0,30	9,91±0,34
Высота их зимогенной зоны	3,84±0,12	3,40±0,10*	3,54±0,18
Высота их гомогенной зоны	6,25±0,28	6,41±0,19	6,35±0,24
Объем их ядра	39,41±2,01	35,82±3,94	36,01±1,75

Примечание: * - разница показателей, по сравнению с контрольной группой, достоверна (p < 0,05).

норме. Структурно измененные экзокринные панкреатоциты с явлениями микровакуолизации цитоплазмы, наблюдаемые у потомства, родившегося от нелеченных самок, встречаются значительно реже. Хроматин их ядер приобретает менее конденсированное состояние. Восстанавливается количество синтезируемых гранул зимогена в апикальной зоне клеток и соотношение фаз секреторного цикла, сдвинутое под влиянием холестаза в сторону торможения секреции, выравнивается.

Изменяются и гистохимические параметры изучаемых структур. Согласно результатам исследования, ежедневное пероральное введение урсофалька беременным самкам с момента создания у них экспериментального холестаза увеличивает сниженную активность митохондриальных ферментов – СДГ и НАДН-ДГ как вокруг ядра, так и в надъядерной зоне экзокринных панкреатоцитов потомства. Цитофотометрические показатели свидетельствуют о почти полном восстановлении этих ферментов (рис. 1). Одновременно значительно нарастает уменьшенное под воздействием холестаза содержание фосфолипидов и рибонуклеопротеидов, необходимых для секреторного процесса. В меньшей степени возвращается к исходным цифрам активность гликолитического фермента – лактатдегидрогеназы и транспортного – щелочной фосфатазы. Показатели активности лизосомального фермента – кислой фосфатазы – статистически достоверно не изменяются и остаются такими же низкими, как у контрольных крысят.

Таким образом, анализ полученных данных показал, что ежедневное пероральное введение урсофалька в дозе 50 мг/кг беременным самкам приводит к нормализации структуры и большинства гистохимических показателей, характеризующих энергетические и синтетические процессы в ацинусах поджелудочной железы 15-суточных крысят, нарушенные под влиянием экспериментального обтурационного подпеченочного холестаза их матерей во время беременности.

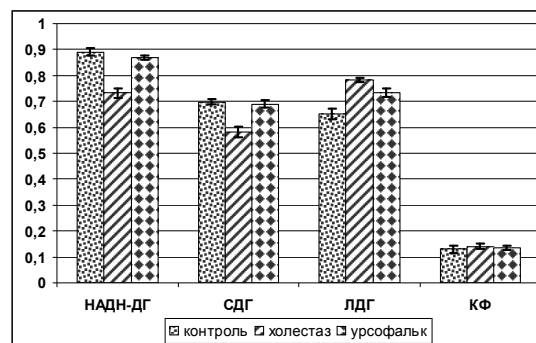


Рисунок 1 - Изменение активности НАДН-ДГ, СДГ, ЛДГ и КФ (в ед. оптической плотности) в ацинусах поджелудочной железы 15-суточных контрольных и опытных крысят

Литература

1. Казакова, Л.Г. Ранняя диагностика, лечение и профилактика желчно-каменной болезни / Л.Г. Казакова // Вест. нов. мед. технол. – 2001. – Т. 8, № 4. – С. 46-47.
2. Козырев, М.А. Заболевания печени и желчных путей / М.А. Козырев // Минск: Бел. наука. – 2002. – 248 с.
3. Куликов, В.А., Бедарик, А.Е. Сравнение антиоксидантного действия свободной и иммобилизованной форм урсодезоксихолевой кислоты в условиях острого токсического поражения печени / В.А. Куликов, А.Е. Бедарик // Акт. вопр. гепатол.: тез. докл. 6 межд. симп. гепатол. Беларуси, Мн., 2004. – С. 81-82.
4. Ларионова, Л.Г. Основные проблемы холестаза и пути его терапевтической коррекции / Л.Г. Ларионова // Мед. новости. – 1998. – № 8. – С. 12-16.
5. Можейко, Л. А. Метаболические изменения ацинусов поджелудочной железы потомства, родившегося от матерей с экспериментальным холестазом / Л.А. Можейко, Е.Л. Анисько, Н.В. Гончар // Журнал ГрГМУ. – 2007. – № 2. – С. 32-34.
6. Пирс, Э. Гистохимия (теоретическая и прикладная) / Э. Пирс // М.: Изд-во иностранная литература. – 1962. – 962 с.
7. Родонезская, Е.В. Коррекция метаболических нарушений у больных с холестазом / Е.В. Родонезская, Н.В. Харченко // Лікар. справа (Врачебное дело). – 2001. – № 3. – С. 148-149.
8. Чиркин, А.А. Терапия препаратами урсодезоксихолевой кислоты (УДХК) / А.А. Чиркин // Акт. вопр. гепатологии: тез. докл. 6 междунар. симп. гепатол. Беларуси. – Минск. – 2004. – С. 130-131.
9. Davies, M.M. Fetal mortality associated with cholestasis of pregnancy and the potential benefit of therapy with ursodeoxycholic acid / M.M. Davies // Iut. – 1995. – № 37. – P. 580-584.
10. Panozzo, M.P., Basso, D., Plebani, M. et al. Experimental extrahepatic cholestasis determines in creased liver and pancreatic lipid peroxidation / M.P. Panozzo, D. Basso, M. Plebani et al. // Clin. Chem. – 1993. – Vol. 39, № 6. – P. 1148-1154.
11. Palma, J. Effects of ursodeoxycholic in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy / J. Palma // Hepatology. – 1992. – № 15. – P. 1043-1047.
12. Shigiao, T., Weiyue, Z., Ju, X., Yuanjian, L. Huaxi jike daxue xuebao / T. Shigiao, Z. Weiyue, X. Ju, L. Yuanjian // J. West China Univ. Med. Sci. – 1999. – Vol. 30, № 2. – P. 210-213.
13. Stiehl, A. Jallensnuren / A. Stiehl // Dtsch. Arztebl. – 1999. – Vol. 96, № 12. – P. 536-540.
14. Walker, J.A.L., Nelson-Piercy C., Williamson C. Role of bile acid measurement in pregnancy / J.A.L. Walker, C. Nelson-Piercy, C. Williamson // Ann. Clin. Biochem. – 2000. – Vol. 39, № 2. – P. 105-113.

Поступила 05.06.08