

## Клітинно-тканинні препарати в лікуванні печінкової патології в експерименті

Н.П. СУБОТА<sup>1</sup>, В.І. ПАЛАМАРЧУК<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний педагогічний університет ім. Г.С.Сковороди

<sup>2</sup>Київська медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика

Висока летальність при хірургічній патології органів гепатопанкреатодуоденальної зони (ГПДз) від печінкової, поліорганної недостатності, що сягає 60-100% (Б.М. Даценко та ін., 2000; L. Sarococchia et al., 1982), частота виникнення патології, труднощі діагностики, як самої печінкової (ГПН), поліорганної недостатності (ПОН), так і в деякій мірі причин її виникнення, потребують подальших розробок способів корекції, методів діагностики (Є.М. Марголіс, 1981; А.Ю. Николаев и др., 1999; Н.Н. Мылица и др., 2000). Це пов'язано з тим, що кількість хворих з патологією ГПДз, яка становить 40% внаслідок захворювань органів травлення, за останнє десятиріччя збільшилася у 2 рази (Д.Л. Псковський, 1996; L. Burtin et al., 1997). У 85-90% хворих патологія органів ГПДз супроводжується жовтяницею, або розпочинається з неї.

Згідно з даними літератури хірургічна патологія органів ГПДз, що ускладнена ГПН, ПОН, після операції прогресує у 28-90% випадків і дає летальність 13-15% (И.Л. Зубарева и др., 1998; И.А. Криворучко и др., 2000).

Особливості патогенезу ГПН та схеми лікування обґрунтовані експериментально-клінічними дослідженнями вітчизняних наукових шкіл гематологів (А.Ф. Блюгер и др., 1983; Ю.Н. Лебедева, 1993, 1996; В.І. Мамчич та ін., 1998, 2000) та зарубіжних (В. Halliwell et al., 1991; J.J. Donald et al., 1994).

Широкого застосування у комплексному лікуванні ГПН, ПОН набуває клітинно-тканинна терапія (КТТ) препаратами, отриманими із клітин і тканин ранніх термінів розвитку (Н.П. Субота, 1983-2005; С.М. Yabibullach et al., 1994) людини (аборти ранніх термінів за соціальними показаннями), тварин – порося, вівця (В.І. Fuller et al., 1983). При цьому можуть застосовуватися не тільки ізольовані клітини, але й гомогенати, екстракти, цитозольні чи пептидні фракції (П.П. Пашинський, 2001). Ефективність КТТ при лікуванні хворих з ускладненою хірургічною патологією органів черевної порожнини (сепсис. ГПН) доведена. Згідно з сучасними дослідженнями (В.С. Репин, 1993; Н.П. Субота, 1998; С.В. Шаповалов та ін., 2001; S. Sell, 2001), ці препарати мають високі

антиоксидантні та біостимулюючі властивості, низьку імуногенність, надзвичайно високий проліферативний потенціал.

Метою даного дослідження було вивчення впливу клітинно-тканинної терапії, яка представлена кріоконсервованими ксеногепатоцитами, фрагментами селезінки новонароджених поросят та ліофілізованими фрагментами фетальної печінки і мозку вівці, комбінаціями цих препаратів з обґрунтуванням ефективності їх застосування при жовтяниці, печінковій, поліорганній недостатності за даними показників процесів перекисного окислення ліпідів, антиоксидантної, імунофагоцитарної активностей та морфологічних змін печінки.

Експеримент виконувався у зимній період на щурах-самцях лінії Вістар віком 4 місяці, масою 200-250 г.

Експерименти проводили згідно з правилами „Європейської конвенції захисту хребетних тварин, що використовуються в експериментальних та інших дослідних цілях” (Страсбург, 1985).

У створенні ГПН, ПОН використано два різновиди ішемії печінки з механічною жовтяницею (ЕМЖ):

– біліодинамічна (холестатично-артеріальна): перев'язка загальної жовчної протоки і печінкової артерії;

– змішана (холестатично-знекровлена): перев'язка гепатодуоденальної зв'язки.

Важливим моментом аналогії відновлення жовчетоку в експерименті є зняття лігатури з гепатодуоденальної зв'язки, що у клініці відповідає декомпресії жовчовивідних шляхів по найбільш раціональній методиці, та використання клітинно-тканинної терапії в лікуванні гострої печінкової та полі-органній недостатності.

Такий підхід також зумовлений необхідністю вивчення змін в печінці та їх зворотністю після тимчасового затискання гепатодуоденальної зв'язки під час виконання великих операцій на печінці та при ятрогенних пошкодженнях у воротах печінки.

Експериментальну модель гострої печінкової та поліорганної недостатності, наближеної до клінічної, створювали перев'язкою гепатодуоденальної зв'язки на 60 хвилин протягом 1-3 доби, або жовчної протоки та печінкової артерії на 5-9 діб. При цьому

Адреса для кореспонденції: Субота Н.П., Харківський національний педагогічний університет ім. Г.С. Сковороди, вул. Блюхера, 2, Харків, Україна 61168; тел.: +38 (0572) 68-42-34

морфофункціональні та лабораторні зміни залежать від тривалості жовтяниці, швидкості відновлення жовчевідтоку.

В роботі використано кріоконсервовані ксеногепатоцити (КККГп), фрагменти ксеноселезінки новонароджених поросят (СКФС), а також ліофілізовані препарати із печінки та мозку овець.

Досліджували біохімічні показники: вміст білірубину та його фракцій; активність трансаміназ (АлАТ, АсАТ), лужної фосфатази; рівень холестерину; вміст загальних ліпідів, білка. Вимірювали також інтенсивність процесів ПОЛ за накопиченням початкових продуктів – дієновіф кон'югати (ДК) та кінцевих – малоновий діальдегід (МДА). Стан антиокислювальної системи (АОС) вивчали за активністю супероксиддисмутази (СОД), каталази (КТз), глутатіонредуктази (ГТРд).

В умовах експерименту виживаємість тварин з жовтяницею при гострій 30 хвилинній та поступово наростаючій 3-добовій ішемії печінки, тоді як при знятті лігатури при 60 хвилинній гострій та 5 добовій поступовій ішемії вона зменшилась до 71,4%, а при 7 добовій – становила лише 42,9%. При гострій 3-добовій і пролонгованій жовтяниці летальність становила 100%.

В усіх досліджених показниках відбувалися зміни, але найбільші прояви гострого ендотоксикозу були у даних ПОЛ (ДК, МДА) та СОС (СОД, КТз) як в сироватці крові, так і в гомогенатах печінки. Аналіз показав, що до 30-ї хвилини вміст ДК і МДА в печінці інтенсивно зростав, а на 60-й хвилині експерименту – знизився, залишаючись вищим від контрольного, відповідно, у 1,9-1,5 разів. В сироватці крові ДК і МДА після зростання утримуються вище контрольних показників у 1,7-1,5 разів. З настанням ГПН, ПОН кількість ДК в печінці зростала більш інтенсивно, ніж в сироватці крові, а активність процесів ПОЛ на 3-ю добу холестатично-знекровленої ішемії значно підвищилась у крові, печінці. Дослідження АОС за показниками КТз в сироватці крові та СОД в гомогенаті печінки показали збільшення у 2-3 рази кількості КТз в сироватці крові до 2-ї доби і стрімке її зменшення у 5,3 рази на 3-ю добу. Активність КТз в гомогенатах печінки через добу була нижче рубіжного показника у 134,3 рази, а через 2 доби – у 2 рази менше, ніж у сироватці крові. Активність СОД зменшувалася у всі терміни дослідження: перша доба – на 50%, друга доба – на 35%, третя доба – на 26% нижче контрольного показника.

Визначення вмісту глікогену показало, що його кількість у сироватці крові і в гомогенатах печінки до кінця експерименту зменшилась відповідно, у 4,3 та 12,9 разів.

Отже, гостра ішемія печінки в умовах клініки допустимо менш 30 хвилин, а збільшення її

тривалості потребує обов'язкового використання комплексу медикаментозної, еферентної терапії. Вилучення печінки з кровопостачання порушує її синтетичні функції. Зміни у сироватці крові показали, що при відсутності в печінці кровообігу спрацьовують механізми саморегуляції, запуск яких здійснює нейрогуморальний механізм регуляції обміну речовин зі змінами в буферних системах крові, що призводять до їх розладу.

Імплантовані кріоконсервовані чи ліофілізовані біопрепарати, особливо в попарному поєднанні, виконують детоксикаційну, імуностимулюючу, імуномодельную, органозамісну, антиоксидантну дію, наділені анти-цитологічним, мембраностабілізуючим ефектом, корегують пігментосинтезуючу, ліпідобмінну, білоксинтезуючу функції, але тільки кріоконсервованим ксеногепатоцитам властива органозамісна функція. Про це свідчить наростання показників антиоксидантного захисту у 1,5 рази, зниження показників перекисного окислення ліпідів у 2 рази, білірубину, трансаміназ – у 1,5 рази.

Введення щуром ліофілізованого мозку, печінки, кріоконсервованим ксеногепатоцитів при експериментальній жовтяниці зі зняттям лігатури на 3 добу сприяє збереженню функціонального резерву печінки з їх 100% виживаємістю. При поліорганній недостатності (9 добова жовтяниця) введення попарно поєднаних біопрепаратів, де базовим є КККГп, відновило функцію печінки та інших органів і дало можливість вижити експериментальним тваринам при комбінуванні КККГп з ЛФМ – 77%, КККГп з ЛФП – 83,4%, КККГп з СКФС – 88,9%.

Дія препаратів викликала зниження показників білірубину, холестерину, трансаміназ та відновлення функції печінки – зростання синтезу білків, ліпідів в сироватці крові. Регулююча дія КККГп з ЛФМ на процес синтезу в гепатоциті через добу після введення закінчилась зростанням КТз у 14 разів і зменшенням кількості МДА у 2,4 рази у порівнянні з показниками при ЕМЖ. В цьому процесі активно реагувала ЛФ, концентрація якої була вищою у 21 раз від контрольних показників і меншою в 1,2 рази, ніж показники при ЕМЖ. Рівень глікогену збільшився у 11,7 разів проти показників при ЕМЖ.