



ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

УДК: 615.244:616-005.4

ВЛИЯНИЕ ДИСТАНТНОГО ИШЕМИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ И ЭКСПРЕССИЮ ФАКТОРА АНТИАПОПТОЗА В ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ПЕРЕНЕСЕННОГО ЭПИЗОДА ИШЕМИИ/РЕПЕРФУЗИИ

С.А. АЛЕХИН¹
Д.В. ЛОПАТИН¹
М.В. ПОКРОВСКИЙ²
П.М. НАЗАРЕНКО¹
В.П. ТРОШИН³
Д.И. КОЛМЫКОВ¹
В.В. АЛЕХИНА¹

¹⁾ Курский государственный
медицинский университет

²⁾ Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

³⁾ Брянский патологоанатомический
институт

e-mail: s_alehin@mail.ru

В ходе исследования установлено, что дистантное ишемическое прекодиционирование в значительной степени уменьшает выраженность повреждений печени, связанных с перенесенным эпизодом ишемии и последующей реперфузией, что проявляется в уменьшении зон некроза, снижении активности аминотрансфераз и экспрессии маркера антиапоптоза Bcl-2.

Ключевые слова: ишемия, реперфузия, печень, дистантное ишемическое прекодиционирование.

Широкая распространенность патологии печени, требующей хирургических методов коррекции, одним из основных компонентов которой является региональная ишемия, заставляет искать новые подходы в коррекции данного вида повреждений [1, 9].

Центральным аффектором при ишемической и реперфузионной травме является митохондрия. В настоящее время митохондриальное повреждение рассматривается как сложный многоуровневый процесс с образованием целого ряда цитокинов, ROS, RNS и дисбалансом в продукции важнейшего внутри- и внеклеточного месенджера NO [1, 4, 5, 6, 7].

Ранее в исследованиях была показана способность ишемического прекодиционирования ограничивать зоны некроза при инфаркте миокарда [8]. Однако работы в отношении воздействия на повреждение печени единичны [2, 9]. В связи с чем целью настоящего исследования явилось изучение влияния дистантного ишемического прекодиционирования на морфофункциональные показатели и экспрессию фактора антиапоптоза Bcl-2.

Материалы и методы. Эксперимент выполнен на 36 самцах крыс линии Wistar массой 180-220г. Все животные содержались в стандартных условиях вивария Курского государственного медицинского университета. Группу А (n=12) составили интактные животные, в группу В (n=12) вошли животные с реперфузионным поражением печени после эпизода 15-минутной ишемии и группу С (n=12) составили животные, которым с целью защиты тканей печени было применено дистантное ишемическое прекодиционирование. С целью



создания ишемии печени на аналог печеночно-двенадцатиперстной связки у крыс накладывали латексный турникет на 15 минут. Дистантное ишемическое прекондиционирование воспроизводили по описанной ранее методике, путем наложения жгута на верхнюю треть бедра на 10 минут с последующей 30-минутной реперфузией до воспроизведения эпизода глубокой ишемии [2].

Манипуляции выполнялись под общим обезболиванием (хлоралгидрат в дозе 300 мг/кг внутривенно). Забор крови производился через 24 часа после проведения эксперимента. Для оценки выраженности гепатоцеллюлярного повреждения определялась активность аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) кинетическим фотокolorиметрическим способом на автоматическом биохимическом анализаторе «Виталаб Флексор Е» (Нидерланды) с использованием реагентов фирмы «Bioson» и «Human» (Германия). Для проведения гистологического исследования печени забирали участки размером 1x1x0,5 см в стандартных местах с последующим приготовлением гистологических микропрепаратов и окраской их гематоксилином и эозином по Ван Гизону, Мак Манусу и Паппенгейму.

Результаты. С целью определения воздействия ишемического и реперфузионного повреждения на функциональное состояние печени нами определена активность ферментов цитолиза, а именно АСТ и АЛТ. В ходе исследования получены следующие данные: так, воздействие ишемии/реперфузии приводило к повышению активности АСТ в 1,93 раза, а активности АЛТ в 3,2 раза, что говорит о выраженном отрицательном воздействии на функциональную активность печени. Применение ишемического прекондиционирования за 30 минут до эпизода глубокой ишемии позволяет уменьшить активность АСТ в 1,63 раза, а активность АЛТ в 3,23 раза (см. таблицу).

Таблица

Результаты изучения влияния дистантного ишемического прекондиционирования на активность печеночных трансаминаз при ишемии/реперфузии печени

Группы животных	Уровень АСТ (Ед/л)	Уровень АЛТ (Ед/л)
Интактные (группа А, n=12)	100,0±1,8	62,1±3,8
Ишемия/реперфузия (группа В, n=12)	193,0±27,1*	196,8±26,9*
ДИПК (группа С, n=12)	118,2±3,7**	60,8±4,1**

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с интактными, ** – $p < 0,05$ в сравнении с ишемией-реперфузией.

В группе В с ишемией/реперфузией во время стандартного патоморфологического исследования определяются изменения, характерные для тяжелого поражения печени, что выражается в повреждении ядер с их вакуолизацией, кариолизисом и кариопикнозом, резким отеком цитоплазмы, выраженным расширением пространств Диссе, в наличии очагов субкапсулярных и перипортальных некрозов и диффузной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией по ходу перипортальных трактов, общая площадь некрозов составила $0,215 \pm 0,014$ мм². Исследование экспрессии фактора антиапоптоза Bcl-2 позволило выявить резкое повышение его экспрессии в группе с ишемией/реперфузией.

В целом группа С отличается сохранной структурой печени, менее выраженным отеком, единичными участками кариопикноза и вакуольной дистрофии (см. рисунок), площадь некрозов составила $0,125 \pm 0,008$ мм², что в 1,72 раза меньше, чем в группе с ишемией/реперфузией.

Заклучение. Данные, полученные в ходе работы, свидетельствуют о выраженном протекторном действии дистантного ишемического прекондиционирования при ишемических и реперфузионных повреждениях печени, которое проявляется в положительном влиянии на функциональную активность органа, с одной стороны, и уменьшении повреждения структурных компонентов – с другой. Исходя из показателей, свидетельствующих о снижении экспрессии факторов антиапоптоза, в частности Bcl-2, можно сделать вывод, что частично положительные эффекты дистантного ишемического прекондиционирования связаны со сдвигом равновесия во время повреждения из воспалительного в сторону невоспалительного ответа и активацией апоптоза.

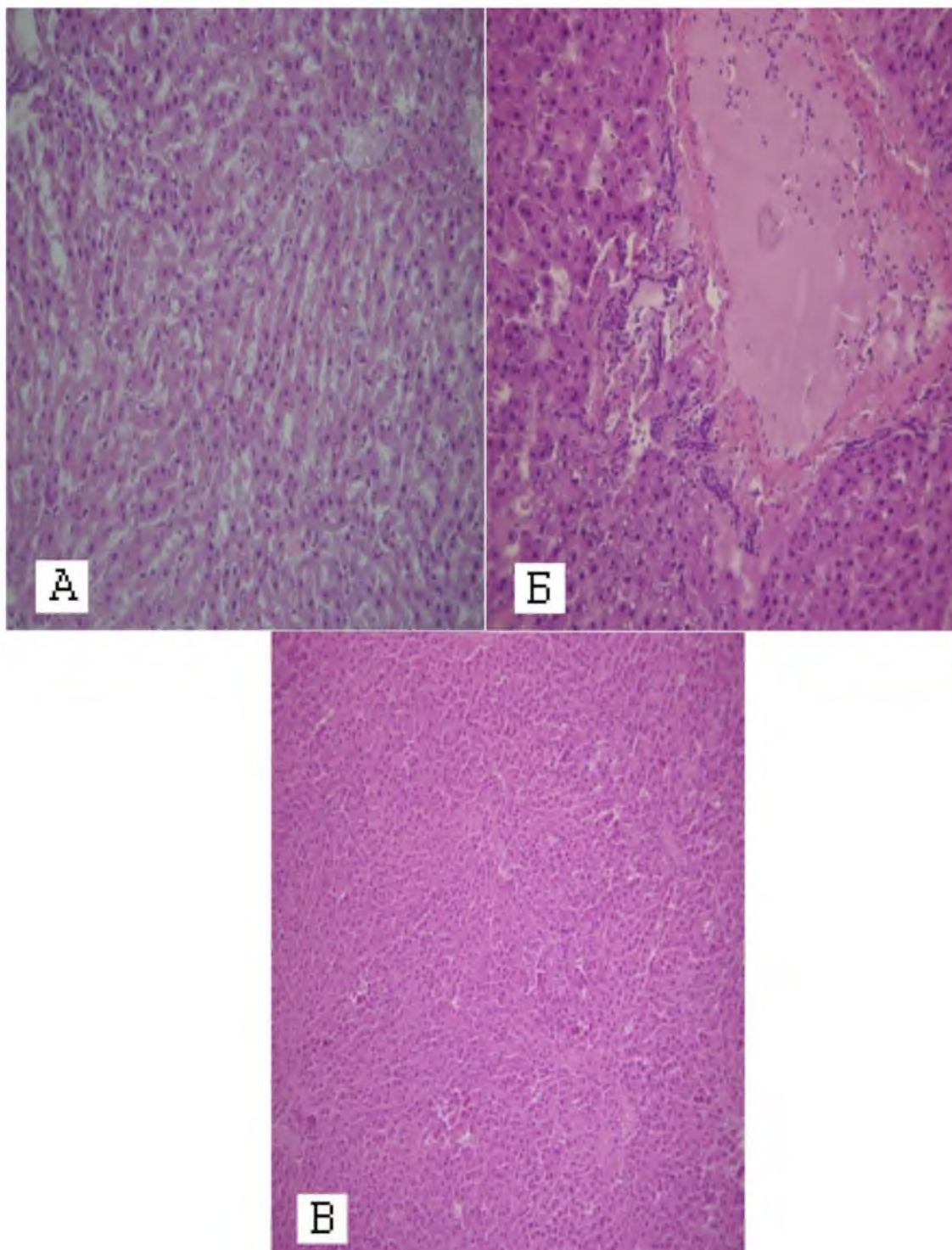


Рис. Влияние ДИПК на морфологические изменения в печени: группа А интактная – структура ткани печени сохранена, дольки и портальные тракты четкие (А), группа Б – структура нарушена, видны очаги некрозов, жировой инфильтрации гепатоцитов (Б), группа С – сохраненная структура печени, единичные очаги некрозов (В). Микрофото. X 100.

Литература

1. Вишневикий, В.А. Операции на печени / В.А. Вишневикий, В.А. Кубышкин, А.В. Чжао, Р.З. Икрамов. – М., 2003. – 155 с.
2. Жернакова, Н.И., Прекодиционирование при ишемических и реперфузионных повреждениях печени / Н.И. Жернакова, С.А. Алехин, Д.И. Колмыков и др. // Научные ведомости БелГУ. – 2012. – № 4(123). – С. 157-162.



3. Jaeschke, H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning / H. Jaeschke // *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* – 2003. – P. G15-G26.
4. Jassem, W. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury / W. Jassem, S.V. Fuggle, M. Rela et al. // *Transplantation.* – 2002. – Vol. 73. – P. 493-499.
5. Jia, C. Advances in the regulation of liver regeneration. *Expert Rev / C. Jia // Gastroenterol Hepatol.* – 2011. – Vol. 5(1). – P. 105-121.
6. Kin, H. Inhibition of myocardial apoptosis by postconditioning is associated with attenuation of oxidative stress-mediated nuclear factor-kappa B translocation and TNF alpha release / H. Kin, N.P. Wang, J. Mykytenko et al. // *Shock.* – 2008. – Vol. 29(6). – P. 761-768.
7. Lauzier, B. Beneficial effects of myocardial postconditioning are associated with reduced oxidative stress in a senescent mouse model / B. Lauzier, S. Delemasure, R. Debin et al. // *Transplantation.* – 2008. – Vol. 85(12). – P. 1802-1808.
8. Murry, C.E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry, R.B. Jennings, K.A. Reimer // *Circulation.* – 1986. – Vol. 14. – P. 1124-1136.
9. Yuan, G.J. Modulation of liver oxidant-antioxidant system by ischemic preconditioning during ischemia/reperfusion injury in rats / G.J. Yuan, J.C. Ma, Z.J. Gong et al. // *World J Gastroenterol.* – 2005. – Vol.1. – P. 1825-1828.

REMOTE ISCHEMIC PRECONDITIONING EFFECT ON MORPHOFUNCTIONAL INDICATORS AND ANTIAPOPTOTIC FACTOR IN LIVER AFTER ISCHEMIA/REPERFUSION EPISODE

S.A. ALEHIN¹
D.V. LOPATIN¹
M.V. POKROVSKIY²
P.M. NAZARENKO¹
V.P. TROSHIN³
D.I. KOLMIKOV¹
V.V. ALEHINA¹

¹⁾ *Kursk State Medical University*

²⁾ *Belgorod National Research University*

³⁾ *Bryansk Pathologic Anatomy Institute*

e-mail: s_alehin@mail.ru

During research the remote ischemic preconditioning significant influence on liver damage due ischemia and subsequent reperfusion episode was detected, showing in necrotic areas diminishing, decreasing aminotransferase activity, antiapoptotic marker Bcl-2 expressing reduction.

Keywords: ischemia, reperfusion, liver, remote ischemic preconditioning.