

ДИНАМИКА И ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ТОКСИЧЕСКОМ ЦИРРОЗЕ

ЛЕБЕДЕВА Е.И.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь

Резюме.

Цель – изучение динамики и половых различий биохимических изменений в сыворотке крови экспериментальных животных, возникающих в ответ на воздействие четыреххлористого углерода в сочетании с этанолом.

Материал и методы. Модель токсического цирроза печени у белых крыс создавали путем длительного внутривентрикулярного введения 40%-го масляного раствора CCl_4 в течение 19 недель в сочетании с этанолом. В сыворотке крови животных изучали изменения основных показателей белкового, липидного, углеводного, пигментного обмена, активности ключевых ферментов метаболизма. Проведено морфологическое исследование печени и статистический анализ полученных результатов.

Результаты. В работе получены результаты, отражающие грубые изменения биохимических показателей сыворотки крови, характеризующих метаболические процессы, в которых принимает участие печень, и свидетельствующие о наличии цирротического процесса у экспериментальных животных. Обнаружена отчетливая положительная зависимость выявленных изменений биохимических показателей сыворотки крови от степени выраженности морфологических проявлений цирроза печени. Установлены отчетливые половые различия изученных биохимических показателей сыворотки крови, свидетельствующие о более высокой устойчивости самок к развитию цирроза печени.

Закключение. Установлено, что наиболее сложная динамика изменений изученных показателей наблюдалась для активности ферментов (щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, гаммаглутамилтранспептидазы), уровней глюкозы и холестерина.

Ключевые слова: цирроз печени, белые крысы, метаболические нарушения, половые различия.

Abstract.

Objectives. To study the dynamics and sex differences of biochemical changes occurring in response to CCl_4 with ethanol influence in the blood serum of experimental animals.

Material and methods. The model of toxic liver cirrhosis in white rats was created by means of long intragastric introduction of oily 40% CCl_4 solution in combination with ethanol during 19 weeks. The changes of the main indices of protein, lipid, carbohydrate, pigment metabolism and key metabolism enzymes activity were studied in the animals' blood serum. The morphological study of the liver and statistical analysis of the received results were made.

Results. The results demonstrating the rough changes of blood serum biochemical indices characterizing metabolic processes in which the liver participates and proving the presence of cirrhotic process in the experimental animals have been obtained. The marked positive dependence of the determined changes in biochemical indices of the blood serum on the degree of morphological signs expressiveness of liver cirrhosis has been revealed. The significant sex differences of the studied blood serum biochemical indices have been determined which testify to a stronger resistance of female rats to the development of liver cirrhosis.

Conclusions. It has been established that the most complex dynamics of the studied indices changes was characteristic of the activity of enzymes (alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, gamma-glutamyl transpeptidase), glucose and cholesterol levels.

Key words: liver cirrhosis, white rats, metabolic disturbances, sex differences.

Смертность от цирроза печени в Беларуси в 2009 г. составила 23,9%, из них показатель смертности от алкогольного цирроза печени составил 6,0%, в 2010 г. – 24,9% и 7,1% соответственно. Несмотря на то, что уровень вклада цирроза печени в ассоциированную с алкоголем смертность варьирует в исследованиях разных авторов, считается общепризнанным, что не менее 50% всех смертей от цирроза печени обусловлены злоупотреблением алкоголем [1, 2]. С 2000 по 2011 гг. контингент больных хроническим алкоголизмом и алкогольным психозом в Беларуси вырос на 44,6% (с 1426,9 до 2062,7 на 100 тыс. населения) [3]. Исходом хронической интоксикации алкоголем является развитие цирроза печени. Алкогольный цирроз печени является наиболее тяжелой формой поражения печени и часто заканчивается летальным исходом [4]. Клинические проявления цирроза печени достаточно разнообразны и в основном определяются степенью активности процесса, функциональными изменениями печени, а также развитием портальной гипертензии. Все это приводит к тому, что у многих больных заболевание диагностируется лишь в терминальной стадии при развитии осложнений или выраженности обострений болезни [5]. Таким образом, возникает необходимость оптимизации методов выявления больных с цирротическими поражениями печени.

Изучение механизмов развития цирроза печени, оценка гепатотоксичности различных веществ, исследование действия гепатопротекторов и применение современных клеточных технологий невозможны без адекватной модели цирроза печени на лабораторных животных [6]. Несмотря на то, что интрагастральное введение алкоголя достаточно широко применяется для моделирования жировой дистрофии, фиброза и некроза печени [7], развитие цирроза печени у крыс при подобном воздействии получить не удалось. В настоящее время традиционной моделью для изучения цирроза печени является хроническое отравление животных четыреххлористым углеродом (тетрахлорметаном, CCl_4) [8]. Показано, что хроническая интоксикация животных CCl_4 воспроизводит многие характерные признаки цирроза у человека [9, 10].

Несмотря на то, что влияние CCl_4 на организм изучено подробно, дальнейшее углубленное исследование данной формы химиче-

ской патологии и поиск методов их фармакологической коррекции представляется весьма актуальным. Это связано с тем, что экспериментальные модели с использованием CCl_4 широко используются в научных исследованиях для решения не только вопросов гепатологии, но и ряда общебиологических проблем.

Для оценки функций печени применяют ряд «печеночных» тестов: определения билирубина, сывороточного альбумина, щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы [11, 12], однако при этом большинство авторов не уделяет внимания динамике биохимических изменений в печени и не учитывает гендерные различия. Гендерная медицина является новым направлением, специализирующимся на биологических и физиологических различиях, существующих между мужчиной и женщиной. Гендерный подход в медицине предполагает взгляд на заболевание с точки зрения пола [13].

Целью исследования было изучение динамики и половых различий биохимических изменений в сыворотке крови экспериментальных животных, возникающих в ответ на воздействие четыреххлористого углерода в сочетании с этанолом.

Методы

Экспериментальная часть работы была выполнена на базе НИЛ Витебского государственного медицинского университета. Биохимические и морфологические исследования выполнены в НИИПВМ и Б Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. Исследование выполнено на 96 половозрелых беспородных белых крысах (*Rattus rattus* L.) обоего пола массой 180-250г в осенне-зимний период. Животные были разделены на группы: 6 опытных (n=12, 6 самцов и 6 самок), контрольная (n=12, 6 самцов и 6 самок) и интактная (n=12, 6 самцов и 6 самок). В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Животные содержались в пластиковые-металлических клетках с опилками, по 6 особей в каждой клетке, при естественном освещении, со свободным доступом к корму и воде. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с соблюдением принци-

пов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, которые используют в экспериментальных и других научных целях (г. Странбург, 1986), и согласно правилам лабораторной практики РБ (приложение к приказу Министерства Здравоохранения Республики Беларусь № 31 от 31.10.2006). Выбор данного вида лабораторных животных обусловлен, в первую очередь, возможностью экстраполяции органных и тканевых изменений у крыс на таковые у человека. Кроме того, этому способствовали простота содержания и легкость выполнения с крысами различных процедур (фиксация, введение растворов веществ с помощью зонда и т.д.). Токсическое поражение печени моделировали путем длительного внутрижелудочного введения 40%-го масляного раствора CCL₄ 2 раза в неделю в утренние часы за 4 часа до кормления. Параллельно с этим вместо воды в качестве питья крысы получали 5%-ный раствор этанола из поилок в режиме свободного доступа в течение 19 недель. Контрольные (плацебо) животные получали эквивалентное количество растворителя CCL₄ (оливковое масло) и в качестве питья использовали кипяченую воду из поилок в режиме свободного доступа. Интактные животные – крысы того же возраста и веса, что и экспериментальные.

Для оценки течения патологического процесса проводили регулярное наблюдение за животными, во время которого отмечали потребление корма и воды, изменения внешних признаков (волосного покрова, видимых слизистых оболочек), особенности поведения, а также осуществляли еженедельное взвешивание. Степень выраженности патологических изменений, регистрируемых у животных, подвергшихся длительной интоксикации, определяли с помощью гистологических, биохимических исследований и биометрических показателей (масса тела, относительная и абсолютная масса печени).

Для изучения динамики метаболических изменений опытных животных выводили из эксперимента в разные сроки: через 3, 6, 9, 12, 16, 19 недель от начала опыта, который длился 19 недель путем декапитации с применением гильотины после их 14 часового голодания, в утренние часы, согласно утвержденным инструкциям и законодательным актам. Контрольную группу и интактную выводили из опыта по окончании эксперимента.

В качестве материала для биохимических исследований использовали сыворотку крови животных, которую получали по общепринятой методике. Для определения активности аланинаминотрансферазы (GPT, U/L) и аспаратаминотрансферазы (GOT, U/L) использовали кинетический метод IFCC без пиридоксала, гаммаглутамилтранспептидазы (γ -GGT, U/L) – кинетический метод, щелочной фосфатазы (ALP, U/L) – кинетический метод с образованием 4-нитрофенола. Для оценки углеводного и белкового обмена у контрольных и экспериментальных животных определяли содержание глюкозы, общего белка, альбумина, мочевины, и мочевой кислоты. Концентрацию глюкозы (Gl, ммоль/л) определяли ферментативным методом, концентрацию общего белка (Pr, г/л) – биуретным методом. Альбумин (Alb, г/л) определяли прямым колориметрическим методом с бромкрезоловым зеленым, мочевины (Ur, ммоль/л) – ферментативно-кинетическим методом с уреазой и ГЛДГ, мочевую кислоту (UA, мкмоль/л) – энзиматическим методом с уриказой и пероксидазой. Для оценки липидного обмена определяли содержание общего холестерина и триацилглицеролов. Общий холестерол (Chol, ммоль/л) определяли энзиматическим колориметрическим PAP-методом, триацилглицеролов (TAG, ммоль/л) – колориметрическим энзиматическим методом с глицерофосфорной оксидазой. Общий билирубин (Bil, ммоль/л) определяли с диазотиевой солью сульфаниловой кислоты. Биохимические анализы выполнялись на биохимическом автоматическом анализаторе EuroLyser (EUROLab, Instruments GmbH; Австрия) с использованием стандартных диагностических наборов реактивов фирмы «Cormay» (Польша), согласно приложенным к ним инструкциям. Все биохимические исследования были выполнены в день забора крови.

Материалом для патоморфологических исследований служили фрагменты нормальной и патологически измененной левой боковой доли печени животных. Для выявления общих гистологических изменений фрагменты органа фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине и смеси Гелли. Проводку осуществляли в автомате для гистологической обработки ткани STP-120 (тип карусель, Германия), заливку – на станции для заливки ткани парафином EC350 (Германия). С каждого блока с

помощью ротационного микротомы HM 340E (MICROM, Laborgerate GmbH; Германия) получали серийные срезы (толщина срезов около 4-5 мкм) и окрашивали гематоксилином и эозином в автоматическом программируемом приборе для цитологических и гистологических методик HMS70 (Германия). Ранние фибропластические изменения выявляли при помощи окраски трихромом по Массону вручную. В нефиксированных срезах печени (около 10 мкм), приготовленных на микротоме-криостате HM525 (MICROM, International GmbH; Германия), гистохимически определяли содержание общих липидов суданом III, IV и по методу Лизона. Приготовление красителей, постановку соответствующих контролей проводили в соответствии с прописями, проведенными в руководствах (Г.А. Меркулов, 1969; Б. Ромейс, 1953; Э. Пирс, 1962; Р. Лилли, 1969). Микроскопическое исследование проводили с помощью микроскопа OLYMPUS BX 51 со встроенной видеокамерой OLYMPUS XC 30 (Япония) при увеличении окуляра SWH 10X-H/26,5 и объективов UPLanFL 4x/0,13, 10x/0,30, 20x/0,50, 40x/0,75, 60x/1,42, 100x/1,30. Степень фиброзных изменений печени оценивали по шкале Knodell.

Статистический анализ полученных результатов проводили в табличном процессоре Microsoft Office Excel 2007 и STATISTIKA 6,0. Определяли средние значения, стандартные отклонения. Учитывая малую выборку животных, неправильное распределение исследуемых признаков, а также неравенство дисперсий для статистической обработки полученных результатов, был использован непараметрический U-критерия Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

На 4-й неделе эксперимента существенно изменения в состоянии животных опытных групп по сравнению с интактными не происходило. По мере увеличения продолжительности введения CCl_4 и этанола у большинства животных появлялись признаки общего угнетения поведенческих реакций, слабое удержание шерсти и подшерстка, иктеричность видимых слизистых оболочек, носогубного треугольника и шерстного покрова в области

шеи, туловища, хвоста и дистальных отделов конечностей. При изучении поведенческих особенностей у многих животных наблюдались отсутствие интереса к пище, снижение аппетита. К концу эксперимента клиническая картина характеризовалась гиподинамией, заторможенностью, взъерошенностью и загрязненностью шерстного покрова, обширными участками облысения в области брюшной стенки, отказом от приема корма, дряблостью скелетных мышц, выраженной желтушностью хвоста и потерей его упругости. У крыс, подвергшихся в течение 19 недель интоксикации CCl_4 , развивался типичный цирроз печени. Печень при макроскопическом исследовании была увеличена в размерах, имела красновато-желтую окраску, поверхность ее была неоднородная, бугристая за счет узлов разного диаметра. Край печени был закруглен.

После 3 нед. воздействия CCl_4 и этанола в сыворотке крови самцов повышалась активность ферментов ALP, GPT, GOT, γ -GGT соответственно в 5, 13,8, 4,1, 1,6 раза по сравнению с контрольной группой (табл. 1).

Через 6 нед. эксперимента по сравнению с показателем 3-й нед. значительно возрастал уровень ALP соответственно в 1,3 раза, а с показателем контроля – в 6,7 раза. Активность ферментов GPT, GOT снижалась, но уровни контроля не достигала. Уровень γ -GGT повышался незначительно по сравнению с 3-й нед.

Через 9 нед. активность ферментов ALP, GPT, γ -GGT продолжала снижаться, но уровни контроля не достигала. При этом уровень GOT снижался ниже уровня контрольной группы в 1,2 раза.

На фоне дальнейшей интоксикации животных (12 нед.) по сравнению с 9-й нед. эксперимента отмечалось достоверное увеличение активности всех индикаторных ферментов.

Через 16 нед. эксперимента по сравнению с 12-й нед. происходило резкое снижение GPT и повышение γ -GGT соответственно в 7 и 1,3 раза. Активность ALP, GOT также снижалась, но уровни контроля не достигала.

В конце эксперимента (19 нед.) активность ALP продолжала снижаться. При этом уровень GPT, GOT по сравнению с 16-й нед. возрастал соответственно в 4 и 1,2 раза.

При моделировании токсического цирроза печени отмечалась сложная динамика изменения активности индикаторных ферментов

Таблица 1 – Динамика изменений активности ключевых ферментов метаболизма сыворотки крови самцов белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	ALP, U/L	GPT, U/L	GOT, U/L	γ -GGT, U/L
Контрольная	94,71 $\pm$ 1,41	63,38 $\pm$ 0,45	154,96 $\pm$ 0,95	8,65 $\pm$ 0,36
3 недели эксперимента	475,39 $\pm$ 5,42*	878,88 $\pm$ 0,51*	636,39 $\pm$ 0,79*	14,38 $\pm$ 0,18*
6 недель эксперимента	637,97 $\pm$ 0,54*	275,28 $\pm$ 0,67*	588,70 $\pm$ 0,50*	15,34 $\pm$ 0,07*
9 недель эксперимента	389,49 $\pm$ 2,40*	120,62 $\pm$ 0,44*	125,46 $\pm$ 0,39*	10,50 $\pm$ 0,13*
12 недель эксперимента	625,92 $\pm$ 1,06*	578,49 $\pm$ 0,60*	373,06 $\pm$ 0,65*	16,39 $\pm$ 0,15*
16 недель эксперимента	587,63 $\pm$ 1,50*	82,50 $\pm$ 0,30*	258,58 $\pm$ 0,18*	22,06 $\pm$ 0,21*
19 недель эксперимента	345,38 $\pm$ 0,42*	336,58 $\pm$ 0,55*	304,45 $\pm$ 0,53*	21,95 $\pm$ 0,28*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Таблица 2 – Динамика изменений активности ключевых ферментов метаболизма сыворотки крови самок белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	ALP, U/L	GPT, U/L	GOT, U/L	γ -GGT, U/L
Контрольная	159,04 $\pm$ 2,28	52,49 $\pm$ 0,47	155,36 $\pm$ 0,76	8,35 $\pm$ 0,32
3 недели эксперимента	221,39 $\pm$ 1,03*	955,06 $\pm$ 0,21*	568,10 $\pm$ 0,35*	20,49 $\pm$ 0,15*
6 недель эксперимента	365,71 $\pm$ 0,34*	276,13 $\pm$ 0,41*	566,62 $\pm$ 0,74*	17,56 $\pm$ 0,14*
9 недель эксперимента	227,57 $\pm$ 0,93*	126,24 $\pm$ 0,38*	118,76 $\pm$ 0,41*	13,51 $\pm$ 0,14*
12 недель эксперимента	640,56 $\pm$ 0,55*	864,56 $\pm$ 0,83*	386,94 $\pm$ 0,46*	28,51 $\pm$ 0,19*
16 недель эксперимента	468,20 $\pm$ 1,44*	102,13 $\pm$ 0,41*	290,33 $\pm$ 0,27*	25,90 $\pm$ 0,24*
19 недель эксперимента	259,01 $\pm$ 0,48*	484,35 $\pm$ 0,43*	351,90 $\pm$ 0,46*	31,12 $\pm$ 0,33*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

и у самок белых крыс. Через 3 нед. воздействия CCL4 и этанола в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой повышалась активность ферментов ALP, GPT, GOT, γ -GGT соответственно в 1,4, 18,2, 3,6, 2,5 раза (табл. 2).

Через 6 нед. эксперимента активность ALP возрастала по сравнению с 3-й нед. соответственно в 1,6 раза, а с показателем контрольной группы – в 2,3 раза. Уровень GPT, γ -GGT снизился, но уровня контроля не достигал. Активность GOT оставалась на прежнем уровне.

Через 9 нед. эксперимента активность ферментов ALP, GPT, γ -GGT снижалась по сравнению с 6-й нед., но уровня контроля не достигала. При этом уровень активности GOT снижался ниже уровня активности контрольной группы в 1,3 раза.

По мере развития заболевания (12 нед.) по сравнению с 9-й нед. эксперимента отмечалось увеличение уровня активности всех индикаторных ферментов.

Через 16 нед. эксперимента по сравнению с 12-й нед., выявлялось снижение активности всех ферментов причем наиболее значительно – активности GPT (в 8,5 раза по сравнению с 12 нед.). В конце эксперимента происходило увеличение активности GPT, GOT, γ -GGT соответственно в 4,7, 1,2, 1,2 раза по сравнению с 16-й нед. Описанные изменения в активности ферментов-маркеров токсического поражения печени свидетельствуют об активно протекающих процессах повреждения гепатоцитов.

При исследовании ферментного спектра сыворотки крови белых крыс были установлены достоверные половые различия по активности щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы у контрольных и экспериментальных животных. В отличие от них, половые различия в активности аспаратаминотрансферазы и гаммаглутамилтранспептидазы были установлены только у экспериментальных животных.

Определение уровня глюкозы в сыворотке крови самцом показало достоверное сниже-

ние показателя ниже нормы на протяжении всего эксперимента (табл. 3).

Резкое снижение уровня глюкозы выявлено на 3-й нед. (в 7,1 раза по сравнению с контрольной группой животных). Отмечено резкое повышение на 6-й и на 16-й нед. в 2,9, 5 раза соответственно по сравнению с 3-й нед. эксперимента.

Примерно такая же закономерность прослеживалась при исследовании углеводного обмена в сыворотке крови самок (табл. 4). Через 3 нед. эксперимента уровень глюкозы в сыворотке крови самок резко снижался (в 5,8 раза) по сравнению с контрольной группой. Через 6 и 16 нед., наоборот, показатель резко возрастал (в 2,8 и 4,6 раза соответственно по сравнению с 3-й нед. эксперимента). Пониженное содержание глюкозы в сыворотке крови ниже минимального уровня, к которому адаптирован организм, вызывает серьезные нарушения в функционировании всех органов и си-

стем, особенно структур центральной нервной системы.

В углеводном спектре отмечены достоверные половые различия по содержанию глюкозы у контрольных и животных с цирротическим поражением печени.

При исследовании уровня холестерина в сыворотке крови самцов в различные сроки от начала введения CCL₄ и этанола наблюдалось его достоверное возрастание на протяжении всего периода исследования. Особенно значительное повышение его уровня отмечено на 3-й и 16-й нед. (в 3,3 и 4,3 раза соответственно по сравнению с контрольной группой животных, табл. 3).

Более сложная динамика изменений уровня холестерина отмечена в сыворотке крови самок (табл. 4). В начале эксперимента (3 нед.) выявлено достоверное увеличение показателя соответственно в 1,8 раза по сравнению с контрольной группой. Через 9 нед его

Таблица 3 – Динамика изменений активности показателей углеводного, липидного и пигментного обмена сыворотки крови самцов белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Gl, ммоль/л	Chol, ммоль/л	TAG, ммоль/л	Bil, ммоль/л
Контрольная	13,07±0,50	0,74±0,05	0,40±0,02	8,36±0,12
3 недели эксперимента	1,83±0,10*	2,45±0,13*	0,74±0,10*	154,43±0,29*
6 недель эксперимента	5,34±0,19*	1,73±0,02*	0,41±0,01	448,92±0,26*
9 недель эксперимента	6,42±0,1*	1,04±0,01*	0,53±0,01*	348,22±0,16*
12 недель эксперимента	6,41±0,15*	1,06±0,02*	0,53±0,02*	683,28±0,23*
16 недель эксперимента	9,16±0,14*	3,25±0,13*	0,64±0,02*	26,27±0,16*
19 недель эксперимента	6,68±0,15*	2,43±0,12*	0,62±0,03*	19,37±0,17*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Таблица 4 – Динамика изменений активности показателей углеводного, липидного и пигментного обмена сыворотки крови самок белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Gl, ммоль/л	Chol, ммоль/л	TAG, ммоль/л	Bil, ммоль/л
Контрольная	11,18±0,26	1,37±0,07	0,46±0,04	12,56±0,28
3 недели эксперимента	1,92±0,04*	2,46±0,10*	0,73±0,02*	214,43±0,47*
6 недель эксперимента	5,43±0,16*	1,69±0,03*	0,39±0,01	475,91±0,15*
9 недель эксперимента	6,44±0,19*	1,38±0,01	0,63±0,01*	446,07±0,39*
12 недель эксперимента	6,17±0,09*	0,54±0,01*	0,55±0,03	720,77±0,19*
16 недель эксперимента	8,89±0,26*	5,20±0,13*	0,55±0,01	31,23±0,16*
19 недель эксперимента	7,50±0,22*	3,47±0,17*	0,57±0,03	26,95±0,26*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой

уровень соответствовал норме. В дальнейшем (12 нед.) отмечено его значительное падение (в 2,5 раза ниже нормы). Через 16 и 19 нед. уровень холестерина возрастал (соответственно в 3,8; 2,5 раза по сравнению с контрольной группой).

Токсическое поражение печени четыреххлористым углеродом и этанолом сопровождалось достоверным незначительным повышением триацилглицеролов у самцов и самок (табл. 3, 4). При этом повышение было более выраженным у самцов. В то же время через 6 нед. эксперимента его уровень соответствовал норме у самцов и самок, а также у самок через 12, 16, 19 нед. Полученные данные подтверждают нарушение обмена липидов при токсическом циррозе.

Изучение показателей липидного спектра показало достоверные половые различия по уровню холестерина у контрольных и животных на более поздних сроках эксперимента. В то же время по содержанию триацилглицеролов достоверных различий между самцами и самками белых крыс не выявлено.

Определение уровня общего билирубина показало достоверное увеличение показателя у самцов и самок на протяжении всего эксперимента (табл. 3, 4). При этом особенно резкое повышение было отмечено через 6, 9, 12 нед. Нарушению обмена Bil способствует резкое ослабление метаболических процессов в пораженных гепатоцитах, которые теряют способность нормально выполнять различные биохимические и физиологические процессы.

Исследование пигментного обмена выявило достоверные половые различия по содержанию общего билирубина у контрольных и экспериментальных животных.

Исследование общего белка в сыворотке крови белых крыс показало незначительное достоверное увеличение показателя у самцов и самок на протяжении всего эксперимента (табл. 5, 6). При этом у самок через 12 нед. эксперимента уровень общего белка снижался в 1,1 раза по сравнению с контрольной группой, а затем снова достоверно превышал норму.

Уровень альбуминов через 3, 6, 12, 16 нед. достоверно, но незначительно возрастал как у самцов, так и у самок. Через 19 нед. показатель достоверно снижался у всех животных (соответственно в 1,3; 1,4 раза в сравнении с контрольной группой, табл. 5, 6). Уменьшение

синтеза альбумина является информативным показателем нарушения функции печени и указывает на развитие цирротического процесса и повреждение гранулярного эндоплазматического ретикулама.

Введение CCl_4 и этанола достоверно снижало уровень мочевины у самцов и самок в течение 19 нед. эксперимента (табл. 5, 6). При этом у самцов ее уровень через 6 нед. соответствовал норме. Концентрация мочевины в крови зависит от скорости ее образования в печени и удаления почками. Поэтому при тяжелых поражениях печени уровень мочевины в крови обычно снижается.

У контрольных животных были выявлены достоверные половые отличия по уровню общего белка, мочевины. В то же время у экспериментальных животных эти различия установлены для уровней альбумина, мочевины.

На фоне интоксикации отмечено увеличение в сыворотке крови мочевой кислоты у самцов и самок на протяжении всего эксперимента. При этом резкое по сравнению с контролем повышение было отмечено через 3, 16 нед. В ходе исследования уровень мочевой кислоты возрастал у самцов (соответственно в 4,3; 3,3 раза), а у самок – 4,6; 4,3 по сравнению с контрольной группой (3, 16 нед.) (табл. 5, 6).

Достоверные половые различия по уровню мочевой кислоты были выявлены только у экспериментальных животных.

Гистологический анализ органа подопытных крыс показал развитие хронического патологического процесса в динамике, основным проявлением которого являлся фиброз и цирроз печени. Это подтверждается достоверным увеличением относительной массы органа. Гепатоциты находились в состоянии белковой, гидропической дистрофии и диффузной мелко- и крупнокапельной липидной инфильтрации. Определялись дисконкомплексация печеночных балок, пролиферация соединительной ткани и паренхимы. В поле зрения наблюдались большое количество некротизированных гепатоцитов, серозный отек паренхимы, лимфоидно-макрофагальный инфильтрат. Степень фиброза соответствовала 4-м баллам по шкале Knodell. Морфологическое исследование срезов печени контрольных и интактных крыс показало, что структура паренхимы типична для нормального органа.

Таблица 5 – Динамика изменений показателей белкового обмена сыворотки крови самцов белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Pr, г/л	Alb, г/л	Ur, ммоль/л	UA, мкмоль/л
Контрольная	58,05±0,72	51,15±1,40	7,99±0,30	66,60±0,72
3 недели эксперимента	67,96±0,40*	60,70±0,35*	6,33±0,09*	287,28±0,36*
6 недель эксперимента	63,88±0,22*	74,77±0,15*	7,57±1,7	164,60±0,35*
9 недель эксперимента	67,66±0,28*	53,81±0,51	4,47±0,11*	201,42±0,36*
12 недель эксперимента	60,22±0,12*	61,41±0,49*	4,03±0,17*	128,92±0,27*
16 недель эксперимента	68,13±0,25*	59,76±0,21*	5,27±0,17*	220,11±0,29*
19 недель эксперимента	77,66±0,23*	38,41±0,15*	5,44±0,22*	140,53±0,18*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Таблица 6 – Динамика изменений показателей белкового обмена сыворотки крови самок белых крыс ($M \pm \sigma$; $n=6$)

Группы животных	Биохимические показатели			
	Pr, г/л	Alb, г/л	Ur, ммоль/л	UA, мкмоль/л
Контрольная	64,29±0,74	49,75±1,86	11,25±0,29	65,81±0,64
3 недели эксперимента	67,62±0,28*	60,67±0,36*	6,49±0,11*	300,57±0,38*
6 недель эксперимента	64,57±0,26	65,87±0,30*	7,81±0,10*	198,62±0,32*
9 недель эксперимента	67,54±0,19*	43,67±0,65*	5,53±0,15*	178,41±0,25*
12 недель эксперимента	59,96±0,34*	58,88±0,31*	5,50±0,13*	168,54±0,28*
16 недель эксперимента	68,28±0,26*	60,24±0,31*	7,28±0,14*	287,79±0,47*
19 недель эксперимента	78,41±0,10*	35,51±0,41*	6,21±0,33*	201,86±0,19*

Примечание: * $p < 0,05$ – различия достоверны при сравнении с контрольной группой.

Заключение

В работе получены результаты, отражающие грубые изменения биохимических показателей сыворотки крови, характеризующих метаболические процессы, в которых принимает участие печень, и свидетельствующие о наличии цирротического процесса у экспериментальных животных.

Установлено, что наиболее сложная динамика изменений изученных показателей наблюдалась для активности ферментов (щелочной фосфатазы, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, гаммаглутамилтранспептидазы), уровней глюкозы и холестерина.

Обнаружена отчетливая положительная зависимость выявленных изменений биохимических показателей сыворотки крови от степени выраженности морфологических проявлений цирроза печени.

Установлены отчетливые половые различия изученных биохимических показателей

сыворотки крови, свидетельствующие о более высокой устойчивости самок к развитию цирроза печени.

Проведенное исследование было построено по принципу комплексного анализа биохимических показателей, отражающих токсическое поражение печени белых крыс. Полученные данные раскрывают некоторые стороны метаболических изменений при развитии токсического цирроза печени у животных, учитывая динамику и половые различия. Это поможет разработать эффективные средства профилактики и терапии этого заболевания.

Литература

1. Кобаль, П. М. Циррозы печени как причина смертности в Минске в 2010 году / П. М. Кобаль // Актуальные проблемы современной медицины 2012 : материалы 66-й науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием : в 2 ч. Ч. 1. – Минск, 2012. – С. 15-17.

2. Разводовский, Ю. Е. Смертность от цирроза печени в Беларуси в период с 1981 по 2001 годы / Ю. Е. Разводовский // *Здравоохранение*. – 2007. – № 7. – С. 25-28.
3. *Здравоохранение в Республике Беларусь : офиц. стат. сб. за 2011 г.* – Минск : ГУ РНМБ, 2012. – 304 с.
4. Подымова, С. А. *Болезни печени : (рук. для врачей)* / С. А. Подымова. – М. : Медицина, 1984. – 479 с.
5. Садовникова, И. И. Циррозы печени. Вопросы этиологии, патогенеза, клиники, диагностики, лечения / И. И. Садовникова // *Русский медицинский журнал*. – 2003. – Т. 5, № 2. – С. 88-98.
6. Моделирование цирроза печени на лабораторных животных / И. В. Арутюнян [и др.] // *Клиническая экспериментальная морфология*. – 2012. – № 2. – С. 45-50.
7. A voluntary oral ethanol-feeding rat model associated with necroinflammatory liver injury / G. L. Tipoe [et al.] // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* – 2008. – Vol. 32, N 4. – P. 669-682.
8. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая.* – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
9. A novel model of CCL4-induced cirrhosis with ascites in the mouse / M. Domenicali [et al.] // *J. Hepatol.* – 2009 Dec. – Vol. 51, N 6. – P. 991-999.
10. Controlled production of cirrhosis in the rat liver / H. Rosa [et al.] // *Arq. Gastroenterol.* – 1991 Jan-Mar. – Vol. 28, N 1. – P. 39-43.
11. Камышников, В. С. Клинико-лабораторная диагностика заболеваний печени / В. С. Камышников. – М. : МЕДпресс-информ, 2013. – 96 с.
12. Хазанов, А. И. Функциональная диагностика болезней печени / А. И. Хазанов. – М. : Медицина, 1988. – 304 с.
13. Гендерные особенности цирроза печени / Е. Н. Божко [и др.] // *Журнал Гродненского гос. мед. ун-та*. – 2013. – № 3. – С. 36-38.

Поступила 03.09.2014 г.

Принята в печать 05.12.2014 г.

Сведения об авторах:

Лебедева Е.И. – аспирант кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет».

Адрес для корреспонденции: Республика Беларусь, 210023, г. Витебск, пр. Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный орден Дружбы народов медицинский университет», кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии. E-mail: Lebedeva.ya-elenale2013@yandex.ru – Лебедева Елена Ивановна.