

УДК: 612.35-07.03

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ β -ЛИЗИНОВ КРОВИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ, РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ И ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ

© 2003 г. П.Н. Савилов, С.Я. Дьячкова

*Воронежская государственная медицинская академия им. Н.Н. Бурденко
Воронежский государственный университет*

Исследованиями на беспородных белых крысах установлено, что в здоровом организме органы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) принимают участие в обогащении β -лизидами крови воротной вены, тогда как печень потребляет β -лизиды портальной крови. Длительное действие на организм гепатотоксина и резекция печени в отдельности снижают образование β -лизинов в органах ЖКТ, не влияя на активность β -лизинов в артериальной крови. Лапаротомия и резекция печени на фоне хронического гепатита приводят к полному подавлению образования β -лизинов органами ЖКТ и снижению активности β -лизинов в артериальной крови. ГБО в режиме 3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки применённая в первые трое суток после резекции печени на фоне хронического гепатита стимулирует образование β -лизинов органами желудочно-кишечного тракта и активность β -лизинов артериальной крови. У здоровых животных с резекцией печени ГБО усиливает ингибирующее влияние операции на образование β -лизинов органами ЖКТ не влияя на активность β -лизинов артериальной крови. Аналогичное действие ГБО оказывала на здоровых неоперированных животных.

Одним из гуморальных факторов неспецифической иммунной резистентности организма являются β -лизиды. В настоящее время полагают, что они образуются при разрушении тромбоцитов и представляют собой белки, вызывающие лизис бактериальной клетки [1]. В сочетании с лизоцимом β -лизиды играют важную роль в бактерицидности сыворотки крови по отношению к патогенным штаммам Грамм (+) и Грамм (-) микрофлоры. Установлено, что при хроническом гепатите, а так же при резекции печени происходит снижение бактерицидной активности крови по отношению к некоторым патогенным и условно патогенным штаммам Грамм (+) и Грамм(-) микрофлоры [5,6]. При этом резекция печени на фоне хронического гепатита, вызванного длительным действием на организм тетрахлорметана, усиливает ингибирующее влияние гепатотоксина на бактерицидную активность крови [7].

Одним из способов восстановления специализированных функций оперированной печени является гипербарическая оксигенация (ГБО) [9]. Однако, её влияние на состояние гуморального звена неспецифической иммунной защиты организма при резекции печени остаётся не исследованным.

Целью настоящей работы явилось изучение активности β -лизинов крови при действии на организм гепатотоксина, резекции печени и применении ГБО.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на 79 беспородных белых крысах обоего пола массой 180-220 г. Хронический гепатит воспроизводили по методике Д.С. Саркисова и Л.С. Рубецкого, путём подкожного введения 50% раствора тетрахлорметана (CCl_4) на вазелиновом масле из расчёта 0,1 мл/ 100 г массы, через сутки с двумя двухнедельными перерывами между 6 и 7, 13 и 14 инъекциями, 65 суток. Резекцию печени проводили путём удаления электроножом части левой доли печени, что составляло 15-20% от массы органа. У животных с хроническим гепатитом резекцию печени осуществляли на 65-е сутки введения токсина, сразу после последней инъекции. ГБО проводили медицинским кислородом трёхкратно в режиме 3 ата, 50 мин. Первый сеанс проводили через 4-8 часов, второй через 24 часа, третий через 48 часов после операции. У здоровых неоперированных животных ГБО проводили трёхкратно в том же режиме. Все животные были разделены на 8 серий опытов. 1 серия – здоровые животные; 2 серия – животные с хроническим CCl_4 гепатитом, исследованные на 65-е сутки введения токсина; 3 серия – животные с хроническим CCl_4 гепатитом, исследованные на 3-и сутки после отмены токсина и контрольной лапаротомии; 4 серия - животные с хроническим CCl_4 гепатитом, исследованные на 3-и сутки

после резекции печени; 5 серия - животные с хроническим CCl_4 гепатитом, резекцией печени и ГБО, исследованные на 3-и сутки послеоперационного (1 сутки постгипероксического) периода; 6 серия - здоровые животные исследованные на 3-и сутки после резекции печени; 7 серия – здоровые животные с резекцией печени и ГБО, исследованные на 3-и сутки послеоперационного (1 сутки постгипероксического) периода; 8 серия – здоровые неоперированные животные, исследованные после 3-го сеанса ГБО.

Объектом исследования служила цитратная плазма притекающей к печени артериальной, портальной и оттекающей от печени венозной крови. Забор крови оттекающей от печени проводили по разработанной нами (П.Н. Савилов) методике (know how). Последовательность забора крови была следующей: кровь оттекающая от печени — воротная вена – аорта. Определение активности β -лизинов крови проводили чашечным способом с культурой *Bacill. subtilis* [2] и рассчитывали как отношение числа колоний в контроле к числу колоний в опыте, выраженное в условных единицах (у.е.). Результаты опытов обработаны статистически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали наши исследования, у здоровых животных (1 серия) активность β -лизинов в крови воротной вены достоверно превышало аналогичной показатель в артериальной и оттекающей от печени крови (Табл. 1). Следовательно, органы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) здорового организма обладают способностью обогащать протекающую через них кровь β -лизинами, которые потребляются интактной печенью. Полученные результаты отчасти объясняют снижение бактерицидной активности крови воротной вены по отношению к Грамм (+) и Грамм (-) микрофлоре при её прохождении через интактную печень [8].

Длительное действие на организм гепатотоксина не приводило к достоверному снижению активности

β -лизинов в артериальной крови (2 серия), тогда как в воротной и оттекающей от печени крови она снижалась соответственно на 39% и 21% (табл. 1). Однако при этом сохранялось преобладание активности β -лизинов в портальной крови, над аналогичным показателем в крови, оттекающей от печени (табл. 1). Следовательно, при хроническом гепатите имеет место снижение β -лизинобогащающей функции органов ЖКТ и потребления β -лизинов клетками печёночных синусоидов.

На 3-и сутки после отмены гепатотоксина и контрольной лапаротомии (3 серия) происходило снижение активности β -лизинов в артериальной крови на 14% по сравнению с 2-й серией опытов и она становилась на 35% ниже нормы (табл. 1). Одновременно с этим происходило дальнейшее снижение активности β -лизинов в портальной и оттекающей от печени крови, в результате чего она становилась соответственно на 46% и 27% ниже нормы (табл. 1). Вместе с тем активность β -лизинов в портальной крови достоверно превышала соответствующий показатель в артериальной и оттекающей от печени крови (табл. 1). Следовательно, лапаротомия на фоне хронического диффузного поражения печени, подавляя активность β -лизинов в артериальной крови, способствует дальнейшему снижению β -лизинобогащающей функции органов ЖКТ и потребления β -лизинов портальной крови клетками печени.

Если на фоне хронического гепатита производилась резекция печени (4 серия), то на 3-и сутки послеоперационного периода активность β -лизинов в артериальной и оттекающей от печени крови достоверно не отличались от соответствующего показателя «ложнооперированных» животных 3-й серии опытов, тогда как активность β -лизинов в портальной крови снижалась на 11%. (табл. 1). При этом абсолютные величины, представленные в табл. 1, свидетельствуют о полном подавлении активности β -лизинов крови животных с хроническим гепатитом на 3-и сутки после резекции печени.

Таблица 1

Влияние резекции печени и гипербарической оксигенации на активность β -лизинов крови в условиях хронического тетрахлорметанового гепатита

Показатели	Норма	Хронический тетрахлорметановый гепатит			
		2	3	4	5
№ серии	1				
Аорта	1,43 ± 0,12	1,24 ± 0,04	1,07 ± 0,02*•	1,04 ± 0,02*	1,33 ± 0,09*♦
Порт. Вена	2,09 ± 0,21	1,28 ± 0,05*	1,14 ± 0,02*•	1,02 ± 0,01*♣	1,42 ± 0,11*♦
Печ. Вены	1,42 ± 0,09	1,12 ± 0,03*	1,04 ± 0,01*	1,03 ± 0,01*	1,26 ± 0,04*♦

Примечание: * - достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с нормой; • - достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с 2-й серией опытов; ♣ - достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с 3-й серией опытов; ♦ - достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с 4-й серией опытов

Применение ГБО в послеоперационном периоде у животных с хроническим гепатитом и резекцией печени приводило к повышению активности β -лизинов в артериальной, портальной и оттекающей от печени крови по сравнению с животными 4-й серии опытов соответственно на 24%, 42% и 22% (табл.1). При этом в артериальной крови активность β -лизинов не отличалась от нормы, тогда как в портальной и оттекающей от печени крови она была снижена соответственно на 30% и 12%. (табл.1). Обращает на себя внимание тот факт, что у животных 5-й серии опытов активность β -лизинов в портальной крови достоверно не отличалась от аналогичного показателя в артериальной крови, но превышала на 15% активность β -лизинов в крови оттекающей от печени (табл.1). Следовательно, у животных с хроническим гепатитом и резекцией печени в условиях гипоксии происходит восстановление сниженной активности β -лизинов в артериальной крови и способности клеток печени потреблять β -лизины портальной крови, тогда как β -лизинобогатающая функция органов ЖКТ полностью не восстанавливается.

Если резекции печени подвергались здоровые животные (6 серия), то на 3-и сутки послеоперационного периода активность β -лизинов в артериальной и оттекающей от печени крови достоверно не отличалось от нормы, тогда как в крови воротной вены она снижалась на 33% (табл.2). Следовательно, независимо от состояния печени на момент её резекции данный вид оперативного вмешательства вызывает снижение β -лизинобогатающей функции органов ЖКТ. При этом у части животных имеет место увеличение выделения β -лизинов в кровь, оттекающую от оперированного органа.

Применение в послеоперационном периоде ГБО у здоровых животных с резекцией печени (7 серия) приводило к снижению активности β -лизинов в портальной и оттекающей от печени крови по сравнению с 6-й серией опытов соответственно на 17% и 20%. В

результате этого активность β -лизинов в портальной крови становилась ниже нормы на 44%, тогда как в артериальной и оттекающей от печени крови достоверно не отличалось от неё (табл.2). Следовательно, усиливая ингибирующее влияние резекции печени на β -лизинообразующую функцию органов ЖКТ, гипербарический кислород не вызывает изменения активности данного фактора в артериальной крови.

Если гипероксическому воздействию подвергались неоперированные здоровые животные (8 серия), то после 3-го сеанса ГБО (1 сутки постгипероксического периода) обнаружено снижение на 32% активности β -лизинов в крови воротной вены, тогда как в артериальной и оттекающей от печени крови достоверных изменений исследуемого показателя не отмечалось (табл.2). Следовательно, при действии ГБО в исследуемых режимах на здоровый организм происходит угнетение β -лизинообразующей функции органов ЖКТ, которое не приводит к снижению их активности в артериальной крови.

Анализ полученных результатов показывает, что длительное действие на организм гепатотоксина, как и операционная агрессия (резекция печени) приводят к снижению образования β -лизинов в органах ЖКТ, на фоне сохранения их потребления клетками печени. Можно полагать, что это обусловлено функционально-метаболическими изменениями, которые возникают в тканях органов ЖКТ при хроническом гепатите и резекции печени. Тот факт, что на 65-е сутки введения CCl_4 , как и на 3-и сутки после резекции печени не происходило снижения активности β -лизинов в артериальной крови, указывает на существование в организме дополнительных метаболических путей образования β -лизинов, активируемых в условиях снижения их синтеза органами ЖКТ. Однако, их удельный вес в общем объёме образования β -лизинов в организме вероятно мал, поскольку дополнительное стрессовое воздействие на фоне хронического гепатита лапаротомия и резекция печени приводили к полному подавлению активности β -лизинов в артериальной крови.

Таблица 2

Влияние резекции печени и гипербарической оксигенации на активность β -лизинов крови здорового организма

Показатели	Норма	РП	РП+ГБО	ГБО
№ серии	1	6	7	8
Аорта	1,43 ± 0,12	1,35 ± 0,13	1,25 ± 0,06	1,32 ± 0,06
Порт. Вена	2,09 ± 0,21	1,41 ± 0,13*	1,17 ± 0,05*♦	1,41 ± 0,11*
Печ. Вены	1,42 ± 0,09	1,59 ± 0,18	1,27 ± 0,08♦	1,34 ± 0,21

Примечание: РП- резекция печени, ГБО- гипербарическая оксигенация; * - достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с нормой; ♦ - достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с 6-й серией опытов

Особого внимания заслуживает реакция β -лизинов крови оперированного и интактного организма на действие гипербарического кислорода. Анализ полученных результатов показывает, что ингибирующее влияние ГБО на β -лизинообразующую функцию органов ЖКТ проявляется только у здоровых животных как неоперированных, так и оперированных, тогда как на фоне хронического гепатита и резекции печени, когда имеют место дегенеративные изменения в стенках органов ЖКТ, ГБО стимулирует образование β -лизинов тканями ЖКТ. Обращает на себя внимание тот факт, что стимулирующее влияние ГБО на β -лизинообразующую функцию органов ЖКТ сочетается с усилением потребления β -лизинов клетками печени из протекающей через неё крови (табл. 1). Вместе с тем ингибирование гипербарическим кислородом образования β -лизинов органами ЖКТ, сопровождалось снижением их потребления клетками оперированной и интактной печени здорового организма. Кажется вполне очевидным, что подобное влияние гипербарического кислорода обусловлено различным состоянием метаболических реакций, отвечающих за образование β -лизинов в тканях ЖКТ, на момент гипероксического воздействия. Тем самым подтверждается положение леоновского учения гипероксического саногенеза, постулирующее зависимость ответа организма на гипероксическое воздействие, от состояния его функционально-метаболических систем на момент оксигенации [3,4]. Примечательно, что применение ГБО после резекции печени на фоне хронического гепатита стимулирует активность β -лизинов артериальной крови (табл. 1), чего не отмечается при действии гипероксии на оперированных и неоперированных здоровых животных (табл. 2). Это позволяет говорить о рефрактерности метаболических систем здорового организма, отвечающих за активность β -лизинов артериальной крови, к действию исследуемых режимов ГБО.

ВЫВОДЫ

1. В здоровом организме обнаружено повышенное образование β -лизинов органами ЖКТ и их потребление клетками печени в процессе прохождения крови через интактный орган.
2. Длительное действие на организм гепатотоксина, как и резекция печени в отдельности ингибируют β -лизинообогащающую функцию органов ЖКТ не подавляя потребления β -лизинов клетками поврежденной печени. При этом активность β -лизинов в артериальной крови не изменяется.
3. Применение лапаротомии и особенно резекции печени на фоне хронического гепатита не только полностью подавляет β -лизинообразующую функцию органов ЖКТ, потребление β -лизинов клетками печени, но и активность β -лизинов в артериальной крови.

4. Гипербарический кислород регулирует β -лизинообогащающую функцию органов ЖКТ в зависимости от их функционально-метаболического состояния на момент оксигенации. Выявлена прямая зависимость между стимуляцией образования β -лизинов органами ЖКТ и их потребления клетками печени.

5. Стимулирующее влияние ГБО на активность β -лизинов артериальной крови проявляется только в условиях ее полного подавления, тогда как при нормальной активности ферментов в предгипероксическом периоде имеет место их рефрактерность к действию гипербарического кислорода в исследуемых режимах

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Вершигора А.Е.* Основы иммунологии. Киев «Выща школа», 1980
2. *Дьячкова С.Я., Кузьмина Н.И.* Способ определения лизоцима в сыворотке крови. Рац. предложение ВГМА, №25-46 от 4.03.02.
3. *Леонов А.Н.* Гипероксия. Адаптационно-метаболическая концепция саногенеза. I. Общая характеристика механизмов гипербарической кислородной терапии // Бюлл. гипербар. биол. и мед. – 1993. — Т., №1. – С. 66-82
4. *Леонов А.Н.* Гипероксия. Адаптационно-метаболическая концепция саногенеза. У. Заключение. Послесловие к адаптационно-метаболической концепции саногенеза гипероксических и постгипероксических состояний // Бюлл. гипербар. биол. и мед. – 1995. — Т.3, №1-2. – С. 57-67.
5. *Савилов П.Н., Кузьмина Н.И., Дьячкова С.Я.* Изучение бактерицидности крови при хроническом тетрахлорметановм гепатите // Санкт-Петербургские научные чтения – 2001. – СПб., 2001. — Часть. 1. – С. 148-149.
6. *Савилов П.Н., Кузьмина Н.И.* Бактерицидность артериальной крови после краевой резекции печени в эксперименте // Современные проблемы экспериментальной и клинической медицины. — Мат. Всероссийской конф. молодых учёных. — Воронеж, 2000. – С. 147-148.
7. *Савилов П.Н., Кузьмина Н.И., Дьячкова С.Я., Яковлев В.Н.* Бактерицидная активность крови после частичной гепатэктомии интактной и патологически изменённой печени // Вестник ВГУ. – Воронеж, 2001. – Серия: химия, биология, №1. – С. 170-171.
8. *Савилов П.Н., Дьячкова С.Я., Кузьмина Н.И.* Материалы по изучению антимикробной функции печени здорового организма // Вестник ВГУ. – Воронеж, 2002. – Серия: Проблемы биологии, №1. – С. 41-43.
9. *Савилов П.Н.* Гипербарическая кислородная терапия нарушений обезвреживания аммиака в оперированной печени // Анестезиология и реаниматология. – 1996. — №5. – С. 64-67.