

АКТИВНОСТЬ ЛИЗОЦИМА В КРОВИ КРЫС ПРИ ЧАСТИЧНОЙ, ОБЪЕМНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ И ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ В СРАВНИТЕЛЬНОМ АСПЕКТЕ

С. Я. Дьячкова, А. В. Туровский, П. Н. Савилов

Воронежский государственный университет

Работа посвящена исследованию активности лизоцима в различных кровеносных сосудах при операционных и токсических воздействиях на печень животных. Выявлено, что в ранние сроки частичная гепатэктомия вызывает снижение активности лизоцима в крови печеночных вен. Объемная резекция печени в те же сроки компенсаторно активизирует лизоцим в аортальной крови при существенном его снижении в портальной и в крови печеночных вен. Воздействие гепатотоксина и частичная гепатэктомия на его фоне в ранние сроки резко подавляют активность лизоцима во всех кровеносных сосудах.

Частичная гепатэктомия в малом и объемном вариантах может применяться в трансплантологии у здоровых доноров [3], в гепатохирургии при лечении очаговых заболеваний [5, 6], а также в качестве стимулятора обратимости склеротических процессов при хроническом диффузном поражении органа [9, 10] и при опухолях [1]. Оперативное вмешательство на многофункциональном органе, равно как и его токсическое поражение, могут существенно изменить защитные силы организма. В связи с чем исследование факторов естественной резистентности в этих условиях является существенным как для оценки репаративных процессов в измененном органе, так и реабилитационного периода всего организма.

Одним из гуморальных факторов естественной резистентности организма является лизоцим. Обладая ферментативной активностью по отношению к муреину, входящему в клеточную оболочку бактерий, лизоцим разрушает их, на чем основано его бактерицидное действие. Он содержится в различных тканях и биологических жидкостях организма, но основным его источником являются гранулоциты и макрофаги [2, 7]. Кроме бактерицидных свойств лизоцим обладает способностью стимулировать фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов, повышать синтез антител [2].

Ранее было показано [11], что печень крысы способствует увеличению активности лизоцима в протекающей через нее крови (в печеночной вене), что малый объем резекции органа здоровых животных не влияет на эту активность в артериальной и портальной крови, а гепатотоксин, напротив,

подавляет лизоцимобогащающую функцию печени. Поскольку проведенные исследования приоритетны, возникла заинтересованность в расширении их диапазона.

Цель работы — изучить в сравнительном аспекте активность лизоцима в протекающей через печень крови животных при различных объемах гепатэктомии и хроническом (токсическом) гепатите в ранние сроки последствий.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на беспородных белых крысах обоего пола, массой тела 180—230 г.

Краевую (малый объем) резекцию печени (КРП) проводили путем удаления электроножом части левой доли печени, что составляло 15—20% от массы органа. Объемную (2/3 органа) резекцию печени (ОРП) проводили по методу Хиггинс-Андерсена в утренние часы. Удалялись левая и средняя доли печени (классификация долей по Фишеру) [12]. Хронический гепатит воспроизводили по методике Д.С. Саркисова и Л.С. Рубецкого путем подкожного введения 50% раствора тетрахлорметана (CCl_4) на оливковом масле из расчета 0,1 мл/100 г массы тела, через сутки в течение 65 суток с двумя двухнедельными перерывами между 6 и 7, 13 и 14 инъекциями. У животных с хроническим CCl_4 -гепатитом КРП осуществляли на 65-е сутки введения гепатотоксина сразу после последней инъекции.

Все исследования животных составили 7 серий опытов:

- 1 серия — здоровые (интактные) животные;
- 2 серия — ложнооперированные (лапаротомия) животные;
- 3 серия — здоровые животные, исследованные на 3-и сутки после КРП;

Таблица 1

Активность лизоцима (усл. ед) у здоровых животных ($M \pm m$)

Кровеносные сосуды	Норма ($n = 10$)
Аорта	1,56±0,14
Портальная вена	1,44±0,09
Печеночные вены	2,85±0,42*

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с аортальной и портальной кровью.

4 серия — здоровые животные, исследованные на 3-и сутки после ОРП;

5 серия — животные, исследованные на 65-е сутки введения CCl_4 ;

6 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом, исследованные на 3-и сутки после отмены гепатотоксина и лапаротомии;

7 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом, исследованные на 3-и сутки после КРП.

Объектом исследования служила кровь, взятая стерильно из аорты и воротной вены под микроскопом «МБС-1». Оттекающую от печени венозную кровь забирали *in situ* по разработанной (Савилов П.Н.) оригинальной методике. Последовательность забора крови была следующей: печеночные вены — воротная вена — аорта. Резекцию печени, забор крови и забой животных осуществляли под эфирным наркозом.

Активность лизоцима в сыворотке крови определяли чашечным способом с культурой *Micrococcus lisodeicticus* в модифицированном методе (Дьячкова С.Я.) определения бактерицидных свойств [4].

Результаты обработаны статистически с использованием критерия Стьюдента [8].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии исследований у интактных животных активность лизоцима в крови печеночных вен была существенно ($p < 0,05$) выше, чем в аортальной и портальной крови, что может свидетельствовать о печеночном механизме синтеза этого фактора (табл. 1).

Лапаротомия (2 серия опытов) не изменяла активность лизоцима в аортальной и портальной крови, однако несколько снижала ее (2,03±0,34 против 2,85±0,42 у интактных) в крови печеночных вен (табл. 2).

После КРП в ранние сроки (3-я серия опытов) наибольшие изменения активности лизоцима произошли в аортальной крови и крови печеночных вен (табл. 2). В крови, протекающей через печень (печеночные вены), активность лизоцима существенно снизилась ($p < 0,05$) по сравнению с интактными животными, но была несколько выше, чем в аортальной крови гепатэктомированных крыс (1,56±0,17 против 1,24±0,10 в аорте). Активность лизоцима аортальной крови была самой низкой как в сравнении с интактными, ложнооперированными (лапаротомия) животными, так и в сравнении с кровью других кровеносных сосудов гепатэктомированных

Таблица 2

Активность лизоцима (усл. ед.) у животных, исследованных на 3-и сутки после лапаротомии и гепатэктомии ($M \pm m$)

Кровеносные сосуды	После лапаротомии ($n = 10$)	После КРП ($n = 10$)	После ОРП ($n = 8$)
Аорта	1,70±0,09	1,24±0,10*■▲	5,92±3,08*■▲
Портальная вена	1,66±0,17	1,48±0,11	1,50±0,68
Печеночные вены	2,03±0,34*	1,56±0,17*■	1,23±0,22*■

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с аортальной и портальной кровью; ■ — $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными данными у интактных животных; ▲ — $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными данными после лапаротомии.

Активность лизоцима (усл. ед.) у животных с хроническим CCl_4 -гепатитом и гепатэктомией ($M \pm m$)

Кровеносные сосуды	65-е сутки введения CCl_4 ($n = 10$)	3-и сутки после окончания введения CCl_4 ($n = 9$)	3-и сутки после КРП на фоне хрон. CCl_4 -гепатита ($n = 10$)
Аорта	1,13±0,02 ^{■▲♦}	1,15±0,02 ^{■▲♦}	1,01±0,06 ^{■▲♦○}
Портальная вена	1,19±0,06 ^{■▲♦}	1,03±0,01 ^{■▲♦}	1,04±0,02 ^{■▲♦○}
Печеночные вены	1,24±0,08 ^{■▲♦}	1,11±0,03 ^{■▲♦}	1,01±0,003 ^{■▲♦○}

Примечание: * — $p < 0,05$ в сравнении с аортальной и портальной кровью; ■ — $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными данными у интактных животных; ▲ — $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными данными после лапаротомии; ● — $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными данными после КРП; ♦ — $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными данными после ОРП; ○ — $p < 0,05$ в сравнении с аналогичными данными после CCl_4 -гепатита.

крыс. Эти данные могут свидетельствовать о ранней негативной реакции со стороны внепеченочных механизмов синтеза лизоцима в организме.

Объемная резекция печени (4-я серия опытов) при низкой активности лизоцима в крови печеночных вен вызвала компенсаторную стимуляцию этой активности в аортальной крови, вероятно, за счет внепеченочных механизмов синтеза лизоцима (табл. 2).

После введения гепатотоксина (5-я серия опытов) показатели активности лизоцима были снижены во всех кровеносных сосудах по сравнению с интактными, ложнооперированными и гепатэктомированными животными (табл. 3).

Аналогичные данные были получены и в ранние сроки (3-и сутки) после окончания введения токсина (6-я серия опытов).

Частичная (КРП) резекция печени, произведенная на фоне хронического CCl_4 -гепатита (7-я серия опытов), в ранние сроки еще значительно снижала активность лизоцима во всех исследованных сосудах (табл. 3).

Таким образом, активность лизоцима в разных кровеносных сосудах подвержена существенным колебаниям в зависимости от различных воздействий на печень, что, по-видимому, связано с особенностями синтеза (печеночного и внепеченочного) этого фактора.

ВЫВОДЫ

1. У интактных животных выявлена наибольшая активность лизоцима в крови печеночных вен сравнительно с аортальной и портальной кровью.

2. После КРП у здоровых животных в ранние сроки резко снижена активность лизоцима в крови, протекающей через печень.

3. После ОРП у здоровых животных в ранние сроки обнаружено повышение активности лизоцима в аортальной крови на фоне его низкого уровня в портальной и в крови печеночных вен.

4. Гепатотоксин резко снижает активность лизоцима во всех кровеносных сосудах.

5. КРП на фоне хронического CCl_4 -гепатита существенно подавляет выработку лизоцима в организме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Альперович Б.И. Резекция печени при опухолях / Б.И. Альперович // Вопросы онкологии. — 1986. — Т. 32, №1. — С. 98—100.
2. Вершигора А.Е. Основы иммунологии / А.Е. Вершигора. — Киев: Выща школа, 1980. — 490 с.
3. Готье С.В. Трансплантация части печени живого родственного донора / С.В. Готье // Вестник трансплантологии и искусственных органов. — 1999. — №4. — С. 3—9.
4. Дьячкова С.Я. Бактерицидные свойства в исследованиях общей клеточной бактерицидности, лизоцима, β -лизинов и чувствительности химиопрепаратов к микроорганизмам / С.Я. Дьячкова // Вестник ВГУ, серия химия, биология, фармация. — Воронеж, 2003. — №1. — С. 96—98.
5. Журавлев В.А. Хирургия гемангиом печени / В.А. Журавлев // Вестник хирургии. — 1986. — №7. — С. 27—29.
6. Зубахин А.А. Функциональное состояние системы гемостаза на различных стадиях гепатофиброза у мышей / А.А. Зубахин, С.Н. Кутина, Д.Н. Маянский //

Бюлл. exper. биологии и медицины. — 1992. — №7. — С. 22—24.

7. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Л. Йегера. — М.: Медицина, 1990. — Т.1. — 528 с.

8. Лакин Г.Ф. Биометрия / Г.Ф.Лакин. — М.: Высшая школа, 1973. — 342 с.

9. Мальшев Ю.И. Новый способ лечебной резекции печени при циррозе и хроническом гепатите / Ю.И. Мальшев, С.А. Пышкин // Рак печени. — М., 1977. — С.123—124.

10. Пышкин С.А. Показания к хирургическому лечению хронических гепатитов и циррозов печени / С.А. Пышкин, Ю.И. Мальшев, П.Г. Димов // Клиническая хирургия. — 1986. — №9. — С. 29—32.

11. Савилов П.Н. Лизоцимрегулирующая функция печени при хроническом гепатите и частичной гепатэктомии / П.Н. Савилов, С.Я. Дьячкова // Вестник Смоленской мед. академии. — Смоленск, 2003. — С. 108—111.

12. Фишер А. Физиология и экспериментальная патология печени / А.Фишер. — Будапешт: Изд-во Акад. Наук Венгрии, 1961. — 215 с.