

КЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ ЕСТЕСТВЕННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ И ВЛИЯНИЕ НА НИХ РАЗЛИЧНЫХ ОБЪЁМОВ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ НА ФОНЕ CCl_4 -ГЕПАТИТА

А. В. Туровский, С. Я. Дьячкова

Воронежский государственный университет
Поступила в редакцию 01.03.2012 г.

Аннотация. Работа посвящена исследованию клеточных факторов естественной резистентности на примере нейтрофильных гранулоцитов при операционных и токсических воздействиях на печень животных. Выявлено, что резекция печени на фоне токсического гепатита приводит к снижению фагоцитарной активности нейтрофилов, степень которой непосредственно зависит от степени повреждения органа

Ключевые слова: резекция печени; токсический гепатит; нейтрофильные гранулоциты, естественная резистентность.

Abstracts. Work is devoted research of cellular factors of natural resistance on an example neutrophilic granulocytes at operational and toxic influences on a liver of animals. It is revealed that the resection of a liver against a toxic hepatitis leads to decrease phagocytic activity of the neutrophils which degree directly depends on the degree of damage.

Keywords: liver resection; toxic hepatitis; neutrophilic granulocytes; natural resistance.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время известно, что любое оперативное вмешательство приводит к изменениям иммунологического статуса организма [1, 2]. Операционное вмешательство на многофункциональном органе, каким является печень, даже в малом объёме может привести к серьёзным последствиям.

Чрезвычайно важным механизмом врожденного иммунитета является фагоцитоз — процесс поглощения чужеродного агента, его разрушение и выведение из организма. Клетками, ответственными за эту функцию, являются макрофаги и гранулоциты. Нейтрофильные гранулоциты составляют наибольшую часть популяции полиморфноядерных лейкоцитов. Основные функции нейтрофилов — хемотаксис, фагоцитоз и секреция. [3]

В настоящее время отсутствуют данные о влиянии частичной гепатэктомии на фоне токсического поражения печени на клеточные

факторы неспецифической иммунной резистентности организма, а также способности интактной и оперированной печени влиять на фагоцитарную активность лейкоцитов, протекающей через неё крови. Это затрудняет разработку эффективных методов профилактики и лечения нарушений антимикробной защиты организма после оперативных вмешательств на печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 64 белых половозрелых крысах (самках) массой 180–230 г.

Все подопытные животные были разделены на 10 серий опытов: 1 серия — здоровые (интактные) животные; 2 серия — животные, исследованные на 65-е сутки введения CCl_4 ; 3 серия — животные с CCl_4 -гепатитом на 3 сутки после отмены гепатотоксина; 4 серия — животные с CCl_4 -гепатитом на 7 сутки после отмены гепатотоксина; 5 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом на 3 сутки ла-

паротомии; 6 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом на 7 сутки лапаротомии; 7 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом на 3-и сутки после КРП; 8 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом на 7-е сутки после КРП; 9 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом на 3-и сутки после ОРП; 10 серия — животные с хроническим CCl_4 -гепатитом на 7-е сутки после ОРП.

Резекцию печени (РП) осуществляли под эфирным наркозом по видоизменённой П.Н.Савиловым и В.М.Крюковым (1983) методике G.M. Higgins, E.M. Andersen (1931) [4], удаляя электроножом часть левой (краевая резекция печени — КРП) или левую и среднюю доли органа (объёмная резекция печени — ОРП), что предотвращало кровотечение и воспаление.

Хронический гепатит воспроизводили по методике Д.С. Саркисова и Л.С. Рубецкого путём подкожного введения 50% раствора тетрахлорметана (CCl_4) на оливковом масле из расчёта 0,1 мл/100 мг массы тела через день в течение 65 суток, с 2-недельными перерывами после 6 и 13 инъекциями. КРП или ОРП осуществляли на 65 сутки введения гепатотоксина сразу после последней инъекции.

Забор крови из печёночных вен проводили по методике П.Н. Савилова *in situ* [5]. Кровь забирали в следующей последовательности: междолевой печёночный синус, портальная вена, аорта стерильными гепаринизированными шприцами по принципу «один сосуд — один шприц». Исследования проводили в динамике.

Для определения фагоцитарной активности нейтрофилов артериальной, портальной крови и крови печёночных вен по отношению к *S. aureus* и *E. coli* использовали метод, основанный на способности нейтрофилов по-

глощать убитые нагреванием микробы. Определяли фагоцитарное число (ФЧ) и фагоцитарный индекс (ФИ). ФЧ — процент клеток, поглотивших исследуемый тест-микроб; для нейтрофилов рассчитывается на 100 клеток. ФИ — среднее число микробов, поглощаемых одной клеткой при подсчёте 100 клеток.

Данные обработаны с учётом критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.

Как видно (табл. 1), при прохождении крови через интактную печень в сравнении с артериальной и портальной кровью, происходит увеличение в ней числа нейтрофилов, фагоцитирующих как патогенный, так и условнопатогенный штаммы, тогда как интенсивность поглощения ими данного микроорганизма не изменялась ($p > 0,05$).

Развитие токсического гепатита приводит к выраженному снижению ($p < 0,05$) как числа нейтрофилов, так и интенсивности поглощения ими микроорганизмов патогенных и условнопатогенных штаммов во всех трёх сосудах по сравнению с нормой, начиная с первых суток исследования. В дальнейшем до 7 суток восстановления этих показателей не наблюдается. Напротив, происходило дальнейшее достоверное падение к 7-м суткам для патогенного штамма *St. aureus* ФЧ в портальной крови и крови печёночных вен, а ФИ в крови всех трёх сосудов; для штамма *E. coli* достоверно снижаются и ФЧ, и ФИ в крови всех трёх сосудов. По сравнению с артериальной кровью и ФЧ, и ФИ крови печёночных вен были значимо ниже для патогенного штамма *St. aureus* на 3-и и 7-е сутки; для условнопатогенного штамма *E. coli* — снижение с первых суток развития гепатита (табл. 2)

Таблица 1.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови интактных животных ($M \pm m$)

Штаммы микроорганизмов		Кровь		
		Артериальная	Портальная	Печёночных вен
<i>St. aureus</i> Штамм № 209	ФЧ	$37,1 \pm 3,9$	$41,0 \pm 4,19$	$59,6 \pm 4,7$
	ФИ	$5,06 \pm 0,5$	$5,03 \pm 0,37$	$5,7 \pm 0,25$
<i>E. coli</i> Штамм К-12	ФЧ	$33,3 \pm 2,1$	$31,3 \pm 2,54$	$50,0 \pm 2,57$
	ФИ	$5,27 \pm 0,25$	$5,64 \pm 1,59$	$5,27 \pm 0,3$

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови разных сосудов у животных с токсическим гепатитом ($M \pm m$)

Кровь		Сутки после развития гепатита		
		1-е	3-и	7-е
St. aureus, штамм № 209				
Артериальная	ФЧ	27,2 ± 3,1	26,0 ± 2,9	24,3 ± 3,2
	ФИ	3,62 ± 0,13	3,12 ± 0,11•	2,67 ± 0,2•
Портальная	ФЧ	30,2 ± 4,0	26,1 ± 3,2	24,6 ± 2,9•
	ФИ	4,01 ± 0,32	3,07 ± 0,2•	2,49 ± 0,34•
Печёночных вен	ФЧ	23,8 ± 2,4	20,4 ± 2,71▲	18,7 ± 2,87•▲
	ФИ	3,21 ± 0,19▲▼	2,83 ± 0,15•▲	2,04 ± 0,12•▲
E. coli, штамм К-12				
Артериальная	ФЧ	25,22 ± 3,2	20,17 ± 2,91	18,08 ± 3,0•
	ФИ	3,72 ± 0,19	3,01 ± 0,2•	2,89 ± 0,27•
Портальная	ФЧ	26,12 ± 2,6	19,01 ± 3,2•	16,57 ± 2,82•
	ФИ	4,01 ± 0,22	2,97 ± 0,31•	2,71 ± 0,12•
Печёночных вен	ФЧ	18,13 ± 0,7▲▼	15,72 ± 2,88▲▼	13,94 ± 3,17•▲
	ФИ	3,02 ± 0,11▲▼	2,51 ± 0,2•▲	2,33 ± 0,18•▲▼

Примечание: ▲▼ ($p < 0,05$) — по отношению соответственно к артериальной и портальной крови данной серии, • ($p < 0,05$) — по сравнению с 1-ми сутками после развития гепатита.

Все показатели фагоцитарной активности нейтрофилов после лапаротомии на фоне токсического гепатита были ниже ($p < 0,05$) по сравнению с нормой во всех трёх сосудах и на 3-и, и на 7-е сутки после операции. На 3-и сутки после лапаротомии достоверно отличались в сторону уменьшения ФИ во всех трёх сосудах по отношению к патогенному штамму и в портальной крови по отношению к условнопатогенному в аналогичный период развития гепатита; на 7-е сутки достоверных изменений не выявлено. По отношению к штамму St. aureus ФЧ в крови печёночных вен был значимо ниже по сравнению с портальной, а ФИ — ниже по сравнению с артериальной и портальной кровью как на 3-й, так и на 7-й день после лапаротомии; по отношению к условнопатогенному штамму E. coli подобные изменения были выражены меньше и максимально наблюдались на 3-й день после операции (табл. 3).

После КРП на фоне токсического гепатита ФЧ и ФИ со штаммом St. aureus понизились в артериальной и портальной крови как в ранние (3-и сутки), так и поздние (7-е) сутки наблюдений по сравнению с соответствующими периодами после лапаротомии, в то время как

в крови печёночных вен достоверная ($p < 0,05$) разница наблюдалась только на 3-и сутки. Со штаммом E. coli достоверное снижение и ФИ, и ФЧ наблюдалась только в крови печёночных вен. КРП на фоне гепатита также вызывала устойчивое значимое снижение и ФЧ, и ФИ в крови печёночных вен в сравнении с кровью остальных изучаемых сосудов и на 3-и, и на 7-е сутки после операции (табл. 4).

ОРП на фоне токсического гепатита к 7 суткам после операции вызвала 100% летальность среди подопытных животных. На 3-и сутки после ОРП все исследуемые показатели во всех сосудах были достоверно ниже аналогичных показателей как в норме, так и в ранние сроки развития гепатита, а также после лапаротомии и КРП на его фоне ($p < 0,05$). В крови печёночных вен и ФЧ, и ФИ были значимо снижены в сравнении с артериальной и портальной кровью как к патогенному, так и к условнопатогенному штаммам. Следует отметить, что при сравнении портальной и артериальной крови ФИ в портальной крови был достоверно ниже соответствующего показателя в артериальной крови, тогда как ФЧ не имел достоверных отличий по отношению к обоим штаммам (табл. 5).

Таблица 3.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови разных сосудов после лапаротомии на фоне токсического гепатита ($M \pm m$)

Кровь		Сутки после лапаротомии	
		3-и	7-е
St. aureus, штамм № 209			
Артериальная	ФЧ	25,2 ± 4,01	22,49 ± 3,7
	ФИ	2,49 ± 0,3	2,31 ± 0,22
Портальная	ФЧ	25,97 ± 3,2	23,01 ± 2,8
	ФИ	2,31 ± 0,12	2,03 ± 0,27
Печёночных вен	ФЧ	19,8 ± 2,5▼	16,3 ± 3,2▼•
	ФИ	1,92 ± 0,14▲▼	1,74 ± 0,12▲▼
E. coli, штамм K-12			
Артериальная	ФЧ	19,01 ± 2,78	17,86 ± 2,52
	ФИ	2,72 ± 0,16	2,36 ± 0,21•
Портальная	ФЧ	15,02 ± 3,41	15,01 ± 2,72
	ФИ	2,54 ± 0,15	2,30 ± 0,12
Печёночных вен	ФЧ	12,05 ± 2,96▲	11,98 ± 2,15▲
	ФИ	2,29 ± 0,11▲▼	2,10 ± 0,14

Примечание: ▲▼ ($p < 0,05$) — по отношению соответственно к артериальной и портальной крови данной серии, • ($p < 0,05$) — по сравнению с 3-ми сутками после лапаротомии.

Таблица 4.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови разных сосудов после КРП на фоне токсического гепатита ($M \pm m$)

Кровь		Сутки после КРП	
		3-и	7-е
St. aureus, штамм № 209			
Артериальная	ФЧ	20,5 ± 2,68	19,01 ± 2,47
	ФИ	2,08 ± 0,27	1,89 ± 0,3
Портальная	ФЧ	20,9 ± 3,17	18,78 ± 3,3
	ФИ	1,82 ± 0,23	1,61 ± 0,28
Печёночных вен	ФЧ	15,83 ± 2,9▲▼	14,71 ± 2,71▲▼
	ФИ	1,49 ± 0,2▲▼	1,22 ± 0,13•▲▼
E. coli, штамм K-12			
Артериальная	ФЧ	18,05 ± 3,21	16,96 ± 2,89
	ФИ	2,18 ± 0,13	2,02 ± 0,15
Портальная	ФЧ	15,0 ± 2,95	13,92 ± 3,27
	ФИ	2,07 ± 0,1	1,91 ± 0,09
Печёночных вен	ФЧ	10,03 ± 2,27▲▼	9,02 ± 1,93▲▼
	ФИ	1,92 ± 0,12▲	1,72 ± 0,1•▲▼

Примечание: ▲▼ ($p < 0,05$) — по отношению соответственно к артериальной и портальной крови данной серии, • ($p < 0,05$) — по сравнению с 3-ми сутками после КРП.

Вероятно, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов, особенно выраженное в крови печёночных вен, связано с уменьшением активности гуморальных факторов, вырабатываемых именно в печени и стимулирующих активность нейтрофилов. Одним из таких факторов является лизоцим [6]. Воз-

можно также уменьшение общего количества фагоцитирующих клеток в поражённой печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, снижение фагоцитарной активности нейтрофилов при повреждении

Таблица 5.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов крови разных сосудов после ОРП на фоне токсического гепатита ($M \pm m$)

Кровь		Сутки после ОРП	
		3-и	7-е
St. aureus, штамм № 209			
Артериальная	ФЧ	17,23 ± 2,86	—
	ФИ	1,46 ± 0,28	—
Портальная	ФЧ	17,13 ± 3,5	—
	ФИ	1,29 ± 0,17 [▲]	—
Печёночных вен	ФЧ	12,52 ± 2,8 ^{▲▼}	—
	ФИ	1,08 ± 0,16 ^{▲▼}	—
E. coli, штамм K-12			
Артериальная	ФЧ	14,02 ± 2,15	—
	ФИ	1,65 ± 0,09	—
Портальная	ФЧ	11,81 ± 2,10	—
	ФИ	1,27 ± 0,08 [▲]	—
Печёночных вен	ФЧ	7,05 ± 2,01 ^{▲▼}	—
	ФИ	1,12 ± 0,08 ^{▲▼}	—

Примечание: ^{▲▼} ($p < 0,05$) — по отношению соответственно к артериальной и портальной крови данной серии.

печени непосредственно зависит от степени повреждения органа и проявляется в первую очередь. В дальнейшем, при более глубоком повреждении печени, страдает иммунная клеточная защита кишечника.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Александер Дж. Иммунология для хирургов / Дж. Александер, З.А. Гуд. — М.: Медицина, 1974. — 185 с.
2. Браунштейн А.Е. Процессы и ферменты клеточного метаболизма / А.Е. Браунштейн. — М.: Наука, 1987. — 552 с.
3. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология / Г.Н. Дранник. — Одесса: АстроПринт, 1999. — 603 с.
4. Савилов П.Н. Способ моделирования печёночной недостаточности и устройство для его осуществления / П.Н. Савилов, В.М. Крюков. Пат. предложение №801 от 10.02.84, выданное Воронежским мединститутом.
5. Савилов П.Н. Механизмы лечебного действия гипербарической оксигенации при резекции печени (экспериментальное исследование). Дисс. ... д-ра мед наук / П.Н. Савилов. — ВГМА Воронеж, 2007.
6. Абеуев Х.Б. Влияние глюкокортикоидов на функциональную активность лейкоцитов и содержание лизоцима в органах белых крыс : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Х.Б. Абеуев. — Караганд. гос. мед. ин-т. — Караганда, 1974. — 19 с.

Туровский Александр Владимирович — ассистент кафедры фармакологии фармацевтического факультета ВГУ; e-mail: turovsky@pharm.vsu.ru

Дьячкова Светлана Яковлевна — доктор медицинских наук, профессор кафедры фармакологии, Воронежский государственный университет

Turovsky Alexandr V. — Assistant Professor of pharmacology, Voronezh ; e-mail: turovsky@pharm.vsu.ru

Dyachkova Svetlana Ya. — M.D., Full Professor of pharmacology department, Voronezh State University