

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ОБЪЁМОВ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ НА ФОНЕ СС₄-ГЕПАТИТА НА БАКТЕРИЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ СЫВОРОТКИ КРОВИ

А. В. Туровский, С. Я. Дьячкова

Воронежский государственный университет

Поступила в редакцию 02.09.2014 г.

Аннотация. Работа посвящена исследованию бактерицидной активности сыворотки крови при операционных и токсических воздействиях на печень животных. Выявлено, что резекция небольших объёмов печени на фоне токсического гепатита приводит к мобилизации противобактериальных защитных механизмов организма в отношении к грамотрицательной условнопатогенной микрофлоре.

Ключевые слова: резекция печени; токсический гепатит; бактерицидная активность сыворотки крови, естественная резистентность.

Abstract. The work is devoted to the study of serum bactericidal activity at the operational and toxic effects on the liver of animals. Revealed that small amounts of liver resection against toxic hepatitis leads to mobilization of antibacterial defense mechanisms of the body in relation to the gram-negative microflora conditionally.

Keywords: liver resection; toxic hepatitis; serum bactericidal activity; natural resistance.

Изучение функциональных критериев естественной иммунологической резистентности организма в условиях малой и объёмной гепатэктомии вызывает большой интерес, так как операционное вмешательство на многофункциональном органе, каким является печень, даже в малом объёме может привести к серьёзным последствиям, тем более, что ряд факторов естественной резистентности синтезируется именно в печени [1].

Одним из показателей, объективно отражающих состояние естественной резистентности организма животных, является бактерицидная активность сыворотки крови. Это свойство свежей сыворотки крови вызывать гибель проникших или внесённых в неё бактерий. Определяется совокупностью гуморальных веществ, циркулирующих в крови. К ним относят лизоцим, β-лизины, систему комплемента, нормальные антитела (гемагглютинины, гемолизины), пропердин, тафтсин, цитокины и др. [2, 3]. Уровень биологической активности сыворотки является интегральным показателем антимикробных свойств сыворотки крови. Падение его указывает на глубокие нару-

шения в иммунитете и служит неблагоприятным прогностическим признаком, и, напротив, повышение уровня биологической активности сыворотки крови оценивается положительно [4].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на 164 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 СС₄;
- 3 серия — животные с СС₄-гепатитом на 3 сутки после отмены гепатотоксина;
- 4 серия — животные с СС₄-гепатитом на 7 сутки после отмены гепатотоксина;
- 5 серия — животные с хроническим СС₄-гепатитом на 3 сутки лапаротомии;
- 6 серия — животные с хроническим СС₄-гепатитом на 7 сутки лапаротомии;
- 7 серия — животные с хроническим СС₄-гепатитом на 3-и сутки после КРП;
- 8 серия — животные с хроническим СС₄-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) [5], 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. Гепатотоксин вводили через день в течение 65 суток. После 6 и 13 инъекции делали 2-недельные перерывы. Животным с хроническим гепатитом 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* с помощью микрохирургической техники.

Для определения бактерицидности сыворотки крови в качестве тест-микробов использовали Грам(+) золотистый стафилококк (*S. aureus*, патогенный штамм 209), а также Грам(-) микроорганизмы: условно-патогенный — кишечную палочку (*E. coli*, штамм K-12). Определение бактерицидности сыворотки к данным микроорганизмам проводили чашечным способом [6]. Принцип метода: метод основан на определении степени снижения числа колоний тест-микробов после добавления в среду инкубации исследуемой сыворотки / плазмы. Тест-микроб в концентрации (2000-4000 микр. тел / мл) в количестве 0.05 мл засеивали на пластинчатый агар в чашки Петри сплошным методом при помощи шпателя. После инкубации в термостате при 37°C в течение 1 часа на поверхности засеянного агара специальным металлическим штампом (d = 2,0 см) отграничивали несколько площадей. Центральная площадь служила контролем роста тест-микроба, в остальные капали 0.05 мл исследуемого материала (сыворотка) в заданных разведениях (неразведённая, 1:2, 1:4, 1:8). Чашки помещали в термостат при 37°C на 18-20 часов, после чего подсчитывали число колоний в контроле и в опытных разведениях и вычисляли бактерицидный индекс сыворотки (БИС). БИС = К/Оп. Где К — количество колоний, выросших на контрольной площади пластинчато-

го агара; Оп — количество колоний, выросших на его опытной площади.

Данные обработаны с учётом критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали (табл. 2), что у здоровых животных, БИС крови печёночных вен был достоверно ниже соответствующего показателя артериальной крови и портальной крови и к патогенному штамму золотистого стафилококка (*Staph. aur.* 209) и к условно-патогенному штамму кишечной палочки (*E. coli* K-12). БИС артериальной и портальной крови к исследуемым штаммам достоверно не отличалась между собой (табл. 1).

Следовательно, в печени происходит снижение бактерицидности крови по отношению и к грамположительным, и к грамотрицательным штаммам микрофлоры.

Таблица 1

Бактерицидный индекс сыворотки интактных животных (у.е.) по отношению к исследуемым штаммам Грамм (+) и Грамм (-) микрофлоры ($M \pm m$).

Штаммы микроорганизмов	БИС крови		
	Артериальная	Портальная	Печёночных вен
<i>Staph. aur.</i> 209	1.67 ± 0.09	1.71 ± 0.05	1.24 ± 0.03▲▼
<i>E. coli</i> K-12	2.31 ± 0.2	2.26 ± 0.19	1.79 ± 0.12▲▼

Примечание: ▲ (p<0.05) - достоверность различий по отношению к соответствующему показателю артериальной крови; ▼ (p<0.05) - по отношению к соответствующему показателю портальной крови

Исследования так же показали, что у здоровых животных БИС артериальной крови и крови печёночных вен по отношению к *E. coli* был достоверно выше чем для *Staph. aur.*209 (табл. 1).

Токсическое поражение печени характеризовалось достоверно резким снижением БИС крови всех трёх сосудов как к штамму *Staph. aureus*, так и к *E. coli* по сравнению с нормой. На 3-и сутки исследования отмечали некоторый рост данного показателя в отношении к условнопатогенному штамму, в поздние сроки (7-е сутки) возвращающимся к низким значениям (табл. 2).

После лапаротомии на фоне токсического гепатита БИС крови всех трёх сосудов к патогенному штамму *Staph. aureus* значимо и устойчиво снижался по сравнению с нормой. А в отношении *E. coli* в ранние сроки после операции (3-и сутки) в крови печёночных вен он достоверно вырос как по сравнению с нормой, так и по сравнению с кро-

вью остальных сосудов. На 7-е сутки лапаротомии на фоне токсического гепатита, несмотря на достоверное снижение по сравнению с предыдущим периодом исследования, БИС в крови печёночных вен был достоверно выше аналогичного показателя портальной крови (табл. 3).

Таблица 2

Влияние токсического поражения печени на бактерицидный индекс сыворотки (у.е.) по отношению к исследуемым штаммам Грамм (+) и Грамм (-) микрофлоры (M ± m)

Кровь	Сутки после развития гепатита		
	1-е	3-и	7-е
<i>Staph. aur.</i> 209			
Артериальная	1.015 ± 0.023	1.01 ± 0.02	1.0 ± 0
Портальная	1.013 ± 0.014	1.0 ± 0	1.0 ± 0
Печёночных вен	1.01 ± 0.01	1.0025 ± 0.004	1.0 ± 0
<i>E. coli</i> K-12			
Артериальная	1.06 ± 0.08	1.41 ± 0.51	1.08 ± 0.12
Портальная	1.025 ± 0.034	1.78 ± 0.94	1.06 ± 0.09
Печёночных вен	1.06 ± 0.07	1.42 ± 0.52	1.01 ± 0.02

Таблица 3

Влияние лапаротомии на фоне токсического гепатита на бактерицидный индекс сыворотки (у.е.) по отношению к исследуемым штаммам Грамм (+) и Грамм (-) микрофлоры (M ± m)

Кровь	Сутки после лапаротомии на фоне гепатита	
	3-и	7-е
<i>Staph. aur.</i> 209		
Артериальная	1.03 ± 0.015	1.0 ± 0
Портальная	1.003 ± 0.003	1.0 ± 0
Печёночных вен	1.0 ± 0	1.0 ± 0
<i>E. coli</i> K-12		
Артериальная	1.82 ± 0.24	1.21 ± 0.11*
Портальная	1.74 ± 0.23	1.05 ± 0.017*
Печёночных вен	3.34 ± 0.53 ^{▲▼}	1.3 ± 0.14 [▼]

Примечание. ^{▲▼} (p<0.05) — по отношению к аналогичному показателю артериальной крови и портальной крови соответственно; * (p<0.05) — к предыдущему периоду исследования.

При КРП на фоне токсического гепатита БИС крови всех кровеносных сосудов к *Staph. aur.* 209 сохранялся на максимально низком уровне без тенденции к восстановлению во время всего периода исследования, чем не отличался от подобных показателей при развитии гепатита и лапаротомии. К *E. coli* K-12 снижение БИС по сравнению с нормой наблюдалось только в артериальной и портальной крови; в крови печёночных вен в ран-

ние сроки (3-и сутки) изменений БИС не обнаружено, а в поздние (7-е сутки) наблюдался даже некоторый рост, не достигший, впрочем, достоверных значений (p>0.05) (табл. 4).

Таблица 4

Влияние КРП на фоне токсического гепатита на бактерицидный индекс сыворотки (у.е.) по отношению к исследуемым штаммам Грамм (+) и Грамм (-) микрофлоры (M ± m)

Кровь	Сутки после КРП на фоне гепатита	
	3-и	7-е
<i>Staph. aur.</i> 209		
Артериальная	1.0 ± 0	1.0 ± 0
Портальная	1.0 ± 0	1.0 ± 0
Печёночных вен	1.0 ± 0	1.0 ± 0
<i>E. coli</i> K-12		
Артериальная	1.49 ± 0.11	1.74 ± 0.23
Портальная	1.79 ± 0.12	1.64 ± 0.15
Печёночных вен	1.76 ± 0.17	1.9 ± 0.17

ОРП на фоне токсического гепатита к 7 суткам после операции вызвала 100% летальность среди подопытных животных. В ранние сроки (3 сутки) после ОРП на фоне токсического гепатита БИС крови к *Staph. aur.* 209 во всех исследуемых сосудах оставался на таком же низком уровне, как и в предыдущих сериях опытов с токсическим гепатитом. Со штаммом *E. coli* K-12 также наблюдалось значимое снижение БИС во всех трёх сосудах как по сравнению с нормой, так и по сравнению с КРП на фоне гепатита.

Таблица 5

Влияние ОРП на фоне токсического гепатита на бактерицидный индекс сыворотки (у.е.) по отношению к исследуемым штаммам Грамм (+) и Грамм (-) микрофлоры (M ± m)

Кровь	Сутки после КРП на фоне гепатита	
	3-и	7-е
<i>Staph. aur.</i> 209		
Артериальная	1.0 ± 0	—
Портальная	1.0 ± 0	—
Печёночных вен	1.0 ± 0	—
<i>E. coli</i> K-12		
Артериальная	1.12 ± 0.13	—
Портальная	1.29 ± 0.26	—
Печёночных вен	1.23 ± 0.22	—

Исходя из вышеперечисленного, можно отметить, что у здоровых животных бактерицидность крови к кишечной палочке, естественному симбионту организма млекопитающих, были выше, чем к золотистому стафилококку. Подобная же закономерность наблюдалась при токсическом

гепатите и при операционных воздействиях на его фоне.

Токсический гепатит приводит к выраженному снижению бактерицидной активности отходящей от печени крови, особенно заметному в поздние сроки. Низкие значения БИС в первые сутки развития гепатита, вероятно, могут быть связаны с непосредственным влиянием тетрахлорметана на факторы, определяющие бактерицидную активность сыворотки крови.

Заметно стимулирующее действие любых операционных воздействий на бактерицидность исходящей от печени крови, что особенно проявляется в поздние послеоперационные сроки при КРП, в то время как при лапаротомии в эти сроки отмечали спад.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В норме бактерицидность сыворотки крови наиболее выражена к *E. coli*. В крови печёночных вен происходит её снижение по отношению как к *E. coli*, так и к *Staph. aur.* в сравнении с остальными сосудами.

Токсическое повреждение печени приводит к резкому снижению бактерицидности сыворотки крови во всех исследуемых кровеносных сосудах.

Оперативное вмешательство без повреждения печени на фоне токсического гепатита (лапаротомия) приводит к некоторому увеличению бактерицидности сыворотки крови, но лишь к *E. coli*.

КРП на фоне токсического повреждения печени мобилизует противобактериальные защитные механизмы организма в отношении к грамотрицательной условнопатогенной микрофлоре, что

заметно проявляется в оттекающей от печени крови. ОРП с токсическим гепатитом приводит к значительному снижению бактерицидности сыворотки крови как к *E. coli*, так и к *Staph. aur.* во всех сосудах, а впоследствии и к 100% смертности подопытных животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клиническая иммунология и аллергология / Под ред. Л.Йегера.— М.: Медицина, 1990. — Т.1. — 528 с.
2. Бухарин О.В. Лизоцим и его роль в биологии и медицине / О.В. Бухарин, В.Д. Васильев. — Томск: ТГУ, 1974. — 207 с.
3. Молотков А.О. Нарушения физиологических механизмов регуляции системы иммунитета при остром отравлении фосфорорганическим соединением карбофосом: автореф ... канд. мед. наук / А.О. Молотков. — Саратов, 2002. — 20 с.
4. Кузник Б.И. Иммуногенез гемостаз и неспецифическая резистентность организма / Б.И. Кузник, Н.В. Васильев, Н.Н. Цыбиков. — М.: Медицина, 1989. — 320 с.
5. Савилов П.Н. Способ моделирования печёночной недостаточности и устройство для его осуществления / П.Н.Савилов, В.М.Крюков. Рац. предложение №801 от 10.02.84, выданное Воронежским мединститутом.
6. Дьячкова С.Я. Бактерицидные свойства в исследованиях общей сывороточной бактерицидности, лизоцима, β-лизинов и чувствительности химиопрепаратов к микроорганизмам / С.Я. Дьячкова // Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. — 2003. — №1. — С.96-98.

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

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

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

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