ВЛИЯНИЕ ГИПЕРБАРИЧЕСКОЙ ОКСИГЕНАЦИИ НА АНТИКОЛИБАКТЕРИАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ КРОВИ ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ

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

Воронежская государственная медицинская академия им. Н. Н. Бурденко,

* Воронежский государственный университет

Impact of Hyperbaric Oxygenation on Blood Anticolibacillary Activity in Hepatectomy

P. N. Savilov, A. Ya. Turovsky*, S. Ya. Dyachkova*, V. N. Yakovlev

N. N. Burdenko Voronezh State Medical Academy,

* Voronezh State University

Цель работы. Изучение антиколибактериальной активности артериальной (аорта) и венозной (портальная вена, печёночные вены) крови при резекции печени (РП) и гипербарической оксигенации (ГБО). **Материалы и методы.** Опыты проведены на 40 беспородных белых крысах (самках), подвергнутых РП (15–20% массы органа) и ГБО в режиме 3 ата, 50 мин, 1 сеанс в сутки, которую применяли в первые трое суток после операции. Исследовали бактерицидность сыворотки по отношению к *E.coli* и способность нейтрофилов и моноцитов поглощать данный микроб. **Результаты.** В условиях применения ГБО предотвращается снижение бактерицидности сыворотки крови воротной вены, вызванное РП, но сохраняется её снижение в артериальной крови. Одновременно с этим в условиях ГБО устраняется, вызываемое РП, нарушение способности печени стимулировать фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов к *E.coli*. В условиях ГБО избирательно стимулируется интенсивность поглощения кишечной палочки нейтрофилами венозной крови на фоне снижения данного свойства у моноцитов. **Заключение.** ГБО ликвидирует нарушения антиколибактериальной защиты организма при резекции печени. **Ключевые слова:** печень, резекция, гипероксия, бактерицидность, кровь, кишечная палочка.

Objective: to study the anticolibacillary activity of arterial (aorta) and venous (portal vein, hepatic veins) blood during hepatectomy and hyperbaric oxygenation (HBO). **Material and methods:** Experiments were conducted on 40 non-inbred female albino rats exposed to hepatic resection (15–20% of organ mass) and HBO at 3 ata for 50 min once daily within the first three days after surgery. The bactericidal action of blood serum against *E.coli* and the capacity of neutrophils and monocytes to absorb this microbe were investigated. **Results:** HBO prevents a hepatectomy-induced reduction in serum bactericidal activity in the portal venous blood, but its reduction in arterial blood remains. Along with this, hepatectomy-induced impairment in the capacity of the liver to stimulate the phagocytic activity of neutrophils and monocytes against *E.coli* is eliminated under HBO. The latter selectively stimulates the rate of venous blood neutrophilic absorption of *E.coli*, with this property being lowered in monocytes. **Conclusion:** HBO eliminates the body's anticolibacillary defense impairments during hepatectomy. **Key words:** liver, resection, hyperoxia, hepatectomy, bactericidal activity, *E.coli*.

В патогенезе инфекционных осложнений, возникающих после оперативных вмешательств на органах брюшной полости и малого таза, важную роль отводится и кишечной палочке *Escherichia coli* [1, 2], являющейся естественным симбионтом пищеварительного тракта млекопитающих [3]. Отсутствие данного микроба в артериальной крови здорового организма, несмотря на его частое обнаружение в крови воротной вены [4], указывает на важную роль печени в его нейтрализации. Кроме того, печень регулирует содержание в крови эндотоксина *E.coli* (липополисахарида), играющего важную роль в регуляции фагоцитарной активности клеток крови [5]. Поэтому повреждение печени, в том числе и её резекция, позволяет ожидать не только снижение антимикробной функции данного органа,

но и бактерицидных свойств протекающей через него крови. В настоящее время выявлены только изменения антистафилококковой активности крови при прохождении через оперированную печень [6]. Это делает актуальным исследование изменения антиколибактериальной активности крови, протекающей через оперированную печень.

Одним из методов коррекции нарушений иммунной системы, в том числе и при операционном стрессе, является гипербарическая оксигенация (ГБО) [7]. Вместе с тем, описаны случаи негативного влияния ГБО на отдельные показатели иммунитета здорового и больного организма [8]. Однако состояние антимикробной защиты организма, подвергнутого резекции печени и ГБО, в настоящее время не исследовано.

Бактерицидный индекс сыворотки артериальной крови (АК), крови воротной вены (КВВ) и печёночных вен (КПВ) к *E.coli* после резекции печени (РП) и её сочетания с гипербарической оксигенацией (ГБО).

По оси абсцисс — серии опытов, по оси ординат — величина бактерицидного индекса, выраженная в условных единицах (у.е.). ** — ($p<0,05$) — достоверность различий БИС крови печёночных вен по сравнению с аналогичным показателем АК и КВВ данной серии опытов, соответственно; * — ($p<0,05$) — достоверность различий по сравнению с нормой, n — число животных по сериям опытов.

Цель настоящей работы — изучение влияния резекции печени и её сочетания с ГБО на антиколлибактериальную активность притекающей и оттекающей от печени крови.

Материалы и методы

Опыты проведены на 64 беспородных белых крысах (самках). Резекцию печени (РП) проводили на фоне эфирного наркоза, удаляя электроножом часть левой доли печени (15–20% массы органа). ГБО проводили медицинским кислородом в первые трое суток после операции в режиме 3 ата, 50 мин, по 1 сеансу в сутки. Первый сеанс начинали через 4–8, второй и третий, соответственно, через 24 и 48 часов после операции. Все животные были разделены на 3 серии опытов: 1-я серия — интактные животные (норма); 2-я серия — животные, исследованные на 3-и сутки после РП, 3-я серия — животные, исследованные на 3-и сутки после РП и ГБО. Животных выводили из эксперимента декапитацией на фоне этиминального наркоза (40 мг этиминала-натрия / кг).

Объектами исследования служили сыворотка, нейтрофилы, моноциты артериальной и венозной крови. Артериальную кровь получали катетеризацией аорты, венозную — из портальной вены и печёночных вен. Получение крови из печёночных вен осуществляли по разработанной ранее методике [9]. Последовательность забора крови составляла: печёночные вены — портальная вена — аорта. Бактерицидность сыворотки по отношению к *E.coli* (штамм К-12) исследовали чашечным способом с определением бактерицидного индекса сыворотки (БИС_{coli}) [10]. Фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов определяли по их способности поглощать убитые нагреванием микробы [11]. Для этого 0,1 мл гепаринизированной крови инкубировали с 0,05 мл монозвезды убитой нагреванием *E.coli* (штамм К-12) в концентрации 500 млн микробных тел/мл и 0,05 мл физиологического раствора в течение 30 мин при 37°C, встряхивая через каждые 5 минут. По завершении инкубации пробирки помещали на 2 мин в ледяную воду, далее центрифугировали в течение 5 мин при 1500 об/мин. Плазму

удаляли микродозатором, а из верхнего слоя осадка готовили мазки и окрашивали по Романовскому. Подсчёт фагоцитированных микроорганизмов проводили под микроскопом «БИО-ЛАМ» ув.100, ок.12. Определяли следующие показатели: фагоцитарное число (ФЧ) — % клеток, поглотивших *E.coli* и фагоцитарный индекс (ФИ) — среднее количество *E.coli*, поглощённых одной клеткой. Для нейтрофилов ФЧ рассчитывали на 100 клеток, для моноцитов — на 30–50 клеток. Результаты обработаны статистически с учётом непараметрического критерия Вилкоксона—Манна-Уитни. Результаты считались достоверными при ($p<0,05$).

Результаты и обсуждение

Как видно из рисунка, БИС_{coli} артериальной и портальной крови достоверно превышал аналогичный показатель крови печёночных вен, соответственно, на 29 и 26%. Что касается ФЧ нейтрофилов и моноцитов к *E.coli*, то в артериальной и пор-

тальной крови этот показатель был достоверно ниже, чем в крови печёночных вен (см. таблицу). Из этого следует, что печень интактных крыс, частично депонируя гуморальные факторы, которые детерминируют антиколлибактериальную активность сыворотки, одновременно обогащает кровь нейтрофилами и моноцитами, активно фагоцитирующими *E.coli*. Как видно из таблицы, ФИ клеток (находящийся, как известно [4, 11], в прямой зависимости от числа рецепторов на мембране фагоцита) достоверно не менялся при прохождении крови через интактную печень. Это даёт основание исключить экспрессию рецепторов на мембране фагоцитов крови, как причину увеличения их ФЧ при прохождении по печёночным синусоидам. Наиболее вероятным механизмом можно считать преимущественное обогащение находящихся в крови «неактивных» нейтрофилов и моноцитов рецепторами к *E.coli* «de novo». В пользу такого предположения указывает способность макрофагов инкорпорировать на своей поверхности синтезируемый ими белок С_{1q}, способный выступать в качестве Fc-рецептора [12]. Последний, как известно [13], обеспечивает адгезию на поверхности фагоцита комплекса микроб+антитело (белок системы комплемента), для его последующего поглощения клеткой.

Как видно из рисунка, применение РП вызывало снижение на 3-и сутки послеоперационного периода БИС_{coli} артериальной крови и крови воротной вены, соответственно, на 29 и 28% по сравнению с нормой. Однако, это не приводило к снижению БИС_{coli} крови печёночных вен (см. рисунок). Полученные результаты дают основание говорить о выходе из оперированного органа в кровь антиколлибактериальных факторов, детерминирующих бактерицидность сыворотки к *E.coli*.

**Поглотительная способность нейтрофилов и моноцитов к *E.coli*
у крыс после резекции печени и гипербарической оксигенации ($M \pm m$)**

Кровь		Норма (1-я серия) (n=15)	РП (2-я серия) (n=9)	РП+ГБО (3-я серия) (n=10)
Нейтрофилы				
Артериальная	ФЧ	33,3±2,11	38,4±3,96	24,0±2,78*,**
	ФИ	5,27±0,25	4,17±0,44*	3,23±0,31*
Воротной вены	ФЧ	31,3±2,54	30,6±1,92	30,5±2,23
	ФИ	5,64±1,59	4,31±0,41	3,7±0,46
Печёночных вен	ФЧ	50,0±2,57#	26,8±2,92#*	35,8±2,78*,**
	ФИ	5,27±0,31	3,84±0,37*	3,8±0,51*
Моноциты				
Артериальная	ФЧ	28,7±2,24	29,8±3,44	26,7±1,67
	ФИ	3,19±0,15	3,93±0,71	2,18±0,21*,**
Воротной вены	ФЧ	30,3±2,39	26,1±3,06	31,4±2,95
	ФИ	4,31±0,43	3,28±0,49	2,38±0,11*,**
Печёночных вен	ФЧ	40,0±2,59#	27,8±2,71*	40,0±3,81#*,**
	ФИ	3,64±0,25	3,18±0,51	2,95±0,39

Примечание. # — ($p < 0,05$) — достоверность различий по сравнению с аналогичным показателем артериальной и портальной крови данной серии, соответственно; * — ($p < 0,05$) — достоверность различий по сравнению с нормой; ** — ($p < 0,05$) — достоверность различий по сравнению с аналогичным показателем 2-й серии опытов. ФЧ — фагоцитарное число; ФИ — фагоцитарный индекс.

Сигналом для этого, вероятно, является снижение их содержания в притекающей к печени крови. Что касается причин снижения БИС_{coli} артериальной и портальной крови у животных 2-й серии опытов, то можно думать о двух механизмах.

Во-первых, это снижение сродства, находящихся в крови, антител к *E.coli*, например, в результате блокирования их гетероантителами, образующимися, как известно [14, 15], при РП.

Во-вторых, выход антиколибактериальных факторов (антител) в пищеварительный тракт в результате повышения проницаемости его гистогематического барьера, отмеченного при оперативных вмешательствах на органах брюшной полости и малого таза [1, 16].

На 3-и сутки после РП оставшаяся после резекции часть органа теряла, свойственную интактным крысам, способность обогащать кровь нейтрофилами и моноцитами, активно фагоцитирующими *E.coli*. На это указывает исчезновение достоверного преобладания ФЧ исследуемых клеток в крови печёночных вен над аналогичными показателями артериальной и портальной крови (см. таблицу). Как видно из таблицы, у животных 2-й серии опытов ФЧ нейтрофилов артериальной крови достоверно преобладало (на 30%) над аналогичным показателем крови печёночных вен. Это указывает на избирательное депонирование в оперированном органе части нейтрофилов, активно фагоцитирующих исследуемый микроб.

Как видно из таблицы, снижение ФЧ в оттекающей от печени крови у животных 2-й серии опытов по сравнению с нормой не приводит к аналогичным изменениям в артериальной крови и крови воротной вены. Это позволяет говорить о запуске внепечёночных механизмов, компенсирующих снижение фагоцитозстимулирующей функции печени. Одним из них может являться снижение выхода «активных» нейтрофилов и моноцитов из крови в ткань, другим — стимуляция по-

ступления этих клеток из костного мозга в кровь. В отличие от моноцитов, «дозревание» нейтрофилов происходит в костном мозге [17]. Нельзя исключить, что стимуляция РП выделения нейтрофилов из костного мозга в кровотоки приведёт к появлению в крови незрелых клеток, обладающих низкой интенсивностью поглощения микробов. В результате этого ФИ этих клеток будет снижен. Неслучайно (см. таблицу), на 3-и сутки после РП у животных 2-й серии отмечено достоверное снижение (на 21%) ФИ нейтрофилов артериальной крови к *E.coli*. Что касается снижения (на 28%) ФИ нейтрофилов в крови печёночных вен, то к одной из причин этого можно отнести задержку в оперированной ткани нейтрофилов, обладающих максимальной интенсивностью поглощения исследуемого микроба.

Как видно из рисунка, в условиях ГБО не восстанавливался сниженный БИС_{coli} в артериальной крови, тогда как в крови воротной вены он нормализовался. При этом восстанавливалось, характерное для нормы, преобладание БИС_{coli} крови воротной вены над аналогичным показателем крови печёночных вен. Можно полагать, что в условиях ГБО устраняется повышенная проницаемость гистогематического барьера органов желудочно-кишечного тракта, наблюдаемая после РП [18]. В результате предотвращается выход в его просвет из крови гуморальных факторов, детерминирующих бактерицидность сыворотки к *E.coli*. Нормализация в условиях ГБО антиколибактериальной активности сыворотки крови воротной вены содействует восстановлению способности печени к частичному депонированию веществ, обуславливающих бактерицидность сыворотки к *E.coli*.

Как видно из таблицы, в условиях ГБО отмечено увеличение ФЧ нейтрофилов и моноцитов крови печёночных вен по сравнению с аналогичным показателем животных 2-й серии опытов, соответственно, на 33 и 44%. При этом у моноцитов оно достигало нормальной

величины, тогда как у нейтрофилов оставалось на 28% ниже. Кроме этого у оксигенированных животных с РП обнаружено преобладание ФЧ нейтрофилов и моноцитов крови печёночных вен над аналогичным показателем артериальной крови (см. таблицу). Следовательно, гипербарический кислород, ограничивая ингибирующее влияние операции на фагоцитозстимулирующую способность печени в отношении нейтрофилов, полностью восстанавливает данное свойство в отношении моноцитов. При этом устраняется, характерное для неоксигенированных животных с РП, частичное депонирование в оперированном органе «активных» нейтрофилов, фагоцитирующих *E.coli*.

Как видно из таблицы, в условиях ГБО сохраняется ингибирующее влияние РП на интенсивность поглощения *E.coli* нейтрофилами артериальной крови и крови печёночных вен (на это указывает достоверное различие их ФИ по сравнению с нормой). Однако появляется значимое снижение ФИ моноцитов артериальной и портальной крови к *E.coli* по сравнению с аналогичным показателем нормы, соответственно, на 32 и 45% (см. таблицу). Нельзя исключить, что в условиях

ГБО активируется избирательная задержка в тканях желудочно-кишечного тракта моноцитов, обладающих максимальной интенсивностью поглощения *E.coli*. На фоне нормализации, сниженных при операции, бактерицидных свойств сыворотки крови воротной вены и восстановления фагоцитозстимулирующей функции печени можно говорить об усилении в гипероксических условиях антиколибактериального барьера органов портальной системы у животных с РП.

Заключение

Таким образом, курсовое воздействие ГБО в первые трое суток после резекции печени предотвращает снижение антиколибактериальной защиты оперированного организма. Нормализация в условиях гипероксии содержания в крови гуморальных факторов, определяющих бактерицидность сыворотки к *E.coli*, сочетается с восстановлением способности печени стимулировать фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов по отношению к данному микробу.

Литература

1. Александр Дж., Гуд З. А. Иммунология для хирургов. Пер. с англ. М.: Медицина; 1975.
2. Белокуров Ю. Н., Рыбачков В. В. Гипербарическая оксигенация при критических состояниях в хирургии. Ярославль: Верхне-Волжское изд-во; 1983.
3. Ройт А. Основы иммунологии. Пер. с англ. М.: Мир; 1991.
4. Маянский Д. Н., Виссе Э., Деккер К. Новые рубежи в гепатологии. Новосибирск: Изд-во НГУ; 1982.
5. Яковлев М. Ю. Системная эндотоксинемия в физиологии и патологии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М.; 1992.
6. Савилов П. Н. Антистафилококковая защита организма после резекции печени в эксперименте. В кн.: Мороз В. В. (ред.) Реаниматология. Её роль в современной медицине. М.: НИИ общей реаниматологии; 2004. 191–195.
7. Рыбачков В. В., Малофеева Э. В. Влияние ГБО на состояние иммунитета в неотложной хирургии. Гипербарическая физиология и медицина 1996; 4: 20–21.
8. Лотовин А. Н. Этюды клеточного и гуморального иммунитета при физиологическом, токсическом и лечебном действии гипербарического кислорода. В кн.: Кулешев В. И. (ред.) Режимы оксигенобаротерапии в комплексном лечении и реабилитации раненых, больных и поражённых. СПб.: ВМедА; 1994. 53.
9. Савилов П. Н., Кузьмина Н. И., Дьячкова С. Я. Материалы по изучению антимикробной функции печени здорового организма. Вестн. ВГУ. Сер. Проблемы химии, биологии. Воронеж 2001; 1: 41–43.
10. Дьячкова С. Я. Бактерицидные свойства в исследованиях общей сывороточной бактерицидности лизоцима, β -лизинов и чувствительности химиопрепаратов к микроорганизмам. Вестн. ВГУ. Сер. Химия, биология, фармация. Воронеж 2003; 1: 96–98.
11. Учитель И. Я. Макрофаги в иммунитете. М.: Медицина; 1978.
12. Yagawa K., Onone K., Aida Y. Structural studies of Fc receptor. I. Binding properties solubilization and partial characterization of Fc receptors of macrophages. J. Immunology 1979; 122 (1): 366–373.
13. Фримель Х., Брок Й. Основы иммунологии. Пер. с нем. М.: Мир; 1986.
14. Евнин Д. Н. Особенности иммунного ответа у животных, подвергнутых частичной гепатэктомии. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1970; 9: 61–65.
15. Sakai A. Effect of partial hepatectomy on immune response to sheep red. Acta Path. Microbiol. Scand. 1970; 78 (4): 652–660.
16. Зубарева Н. А., Черешнев В. А., Горовиц Э. С. Роль бактериальной транслокации в развитии хирургического сепсиса. Аллергология и иммунология 2001; 2 (1): 86–91.
17. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. М.: Медицина; 1984.
18. Ходжанов С. А. Динамика приспособительных перестроек кровеносных сосудов и слизистой оболочки подвздошной и толстой кишок после резекции печени: дис. ... канд. мед. наук. Ташкент; 1988.

Поступила 15.05.07