

вета клеток, активности кислой фосфатазы и способности клеток продуцировать ЛАФ через 40 дней от начала перегревания.

Таким образом, тепловое воздействие, которое у неадаптированных животных, по-видимому, закономерно вызывает на определенных этапах длительного перегревания нарушение функции перитонеальных макрофагов, утрачивает свое повреждающее свойство после адаптации организма к дозированной тепловому фактору. Однако, несмотря на восстановление функций макрофагов при адаптации животных к тепловому воздействию, все же в течение длительного времени сохраняется дефект фагоцитов. Депрессия фагоцитарной активности, проявляющаяся снижением поглотительной способности клеток, киллинга и расщепления микроорганизмов, поглощенных макрофагами, указывает на снижение неспецифической защиты организма на определенных этапах адаптационного процесса. Подавление продукции макрофагами ЛАФ, важнейшим компонентом которых является интерлейкин-1, сказывается, по-видимому, на участии макрофагов в реакциях иммунного ответа и может быть одной из причин развития иммуносупрессии, отмечаемой нами ранее [6], при длительном перегревании животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцева Л. Г., Фаворская Ю. Н. // Бюл. экспер. биол. — 1980. — № 11. — С. 576—578.
2. Зайцева Л. Г., Васильева Е. И., Туманян М. А. Комплексное исследование функциональной активности фагоцитирующих клеток. — М., 1989.
3. Козлов Н. Б. Гипертермия: биохимические основы патогенеза, профилактики, лечения. — Воронеж, 1990.
4. Любимов Г. Ю., Зенков Н. К., Вольский Н. Н., Козлов В. А. // Иммунология. — 1992. — № 1. — С. 40—42.
5. Маянский А. Н., Ляляев В. А., Шальнова Е. Е., Заславский М. И. // Пат. физиол. — 1994. — № 2. — С. 3—4.
6. Соловьев А. С. // Иммунология. — 1994. — № 4. — С. 21—23.
7. Фомина В. Г., Давыдов Т. В., Евсеев В. А. // Пат. физиол. — 1988. — № 2. — С. 55—58.
8. Фрейдлин И. С. Система мононуклеарных фагоцитов. — М., 1984.
9. Шапов Р. М., Пинегин Б. В. // Иммунология. — 1995. — № 4. — С. 3—8.
10. Шанин С. Н., Козинец И. А., Фомичева Е. Е., Рыбакина Е. Г. // Бюл. экспер. биол. — 1996. — № 2. — С. 135—138.
11. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — P. 265.

Поступила 30.09.99

PERITONEAL MACROPHAGES FUNCTION IN GENERAL ADAPTATION TO DOSED HEAT FACTOR

O.D. Prostsevlch, A.S. Solovyev

Experiments on mice were made to study functional activity of peritoneal macrophages in adaptation of the animals to dosed heat factor by a phagocytic ability of the cells, chemiluminescence (CL), activity of acid phosphatase and phagocyte production of lymphocyte-activating factors (LAF). Daily overheating of mice (20 min, 43–44°C) for 5, 10, 20 and 30 days resulted in suppression of macrophage function. The deepest depression of phagocyte functional activity was observed on overheating day 10–20. This was evident from subnormal phagocytic ability of the cells, suppression of CL response and activity of acid macrophage phosphatase, low production of LAF. Thermotraining led to recovery of macrophage function as the studied parameters returned to control 40 days after overheating onset.

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2002

УДК 616.36-005.4-008.66-07:616.152.21

В. В. Зинчук, М. Н. Ходосовский, И. К. Дремза

КИСЛОРОДТРАНСПОРТНАЯ ФУНКЦИЯ КРОВИ И ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ СОСТОЯНИЕ ПРИ РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ

Лаборатория по исследованию газотранспортной функции крови (зав. — доктор мед. наук В. В. Зинчук) Гродненского государственного медицинского университета (Беларусь)

Кислородзависимая природа образования свободных радикалов предполагает влияние кислородтранспортной функции крови (КТФ) на активность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических системах [18]. Однако роль КТФ в ин-

циации свободнорадикальных процессов при реоксигенации органов изучена недостаточно.

Цель данной работы — исследование показателей КТФ, ПОЛ и факторов антиоксидантной системы (АС) у кроликов в условиях реперфузии печени.

Методика. Работа выполнена на взрослых кроликах-самцах массой 3,5–4,5 кг, предварительно выдержанных в стандартных условиях вивария. Под комбинированным внутривенным наркозом (реланиум 1,5 мг/кг, гексенал 30 мг/кг, калипсо 1,5 мг/кг/мин) вводили катетеры: один — в vv. hepaticae для взятия печеночной венозной крови, другой — в правое предсердие для получения смешанной венозной крови. Ишемию печени в течение 30 мин вызывали наложением лигатуры на a. hepatica propria, реперфузионный период составлял 120 мин. Образцы крови для оценки КТФ, продуктов ПОЛ и факторов АС брали до и в конце ишемии, через 30 и 120 мин после ее прекращения. В конце реперфузии брали ткань печени для оценки показателей ПОЛ и факторов АС. В качестве контроля использовали ткань печени ложнооперированных животных.

На микрогазоанализаторе ABL-330 "Radiometer" (Дания) оценивали показатели КТФ крови: $p50_{ст}$, $p50_{ра}$, pO_2 , pCO_2 , pH, бикарбонат плазмы (HCO_3^-), общий CO_2 плазмы (TCO_2), действительный избыток оснований (АВЕ). Средство гемоглобина к кислороду (СГК) определяли по показателю $p50$ (pO_2 крови, соответствующее 50% насыщению ее кислородом) методом "смешивания" в модификации [2]. $p50_{ст}$ измеряли при стандартных условиях (pH 7,4; pCO_2 40 мм рт. ст. и T 37°C), а $p50_{ра}$ рассчитывали для реальных значений этих факторов. На основании полученных значений $p50$ по уравнению Хилла высчитывали положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО).

Продукты ПОЛ: диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ) и факторы АС: α -токоферол, ретинол и каталаза измеряли в крови и гомогенате печени. Содержание ДК оценивали по интенсивности УФ-поглощения при длине волны 232–234 нм конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [15]. На спектрофлуориметре F-4010 фирмы "Hitachi" определяли уровень ОШ, содержание α -токоферола и ретинола. Уреаль ОШ определяли по интенсивности флюоресценции хлороформного экстракта при длине волн возбуждения и эмиссии 344 и 440 нм соответственно [10]. Содержание α -токоферола измеряли по интенсивности флюоресценции гептанового экстракта при длине волн возбуждения и флюоресценции 294 и 325 нм соответственно [15]. (В качестве стандарта использовали α -токоферол фирмы "Sigma".) Содержание ретинола определяли по интенсивности флюоресценции гептанового экстракта при длине волн возбуждения и длине волны флюоресценции (эмиссии) 335 и 460 нм соответственно [6]. (В качестве стандарта использовали ретинол фирмы "Sigma".) Каталазную активность в биологическом материале оценивали по количеству израсходованной перекиси водорода, способной образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс, на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 410 нм [8]. Статистическую обработку полученных данных проводили на персональном компьютере.

Результаты и обсуждение. Результаты исследования суммированы в табл. 1 и 2. Ишемия печени приводила к уменьшению pO_2 на 26,25% по отношению к исходному уровню в крови, оттекающей от печени. На 120-й минуте реперфузии более выражено снижались pH, HCO_3^- , TCO_2 , увеличивалось pCO_2 в оттекающей от печени крови, отражая развитие метаболического ацидоза. В конце ишемического периода наблюдалось увеличение $p50_{ра}$ с $32,12 \pm 0,86$ до $35,76 \pm 1,4$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) и с $32,55 \pm 1,05$ до $36,39 \pm 1,06$ мм рт. ст. ($p < 0,05$) в печеночной и смешанной венозной крови соответственно. Реперфузионный период характеризовался также более высокими значениями $p50_{ра}$ по отношению к исходным.

Динамика изменения показателя ПОЛ печеночной и смешанной венозной крови представлена на рис. 1. Уровень ДК на 30-й минуте ишемии возрастал в печеночной и смешанной венозной крови с $0,58 \pm 0,05$ и $0,57 \pm 0,05$ до $1,13 \pm 0,14$ ($p < 0,05$) и $1,56 \pm 0,31$ $\Delta A_{233}/мл$ ($p < 0,05$) (плазма); с $5,05 \pm 1,12$ и $6,56 \pm 1,27$ до $12,88 \pm 2,1$ ($p < 0,05$) и $11,76 \pm 2,09$ ($p < 0,05$) $\Delta A_{233}/мл$ (эритроциты) соответственно. В реперфузионный период уровень ДК как в плазме, так и в эритроцитах исследуемых образцов крови продолжал расти, достигая максимума к 120-й минуте реперфузии: в плазме до $2,13 \pm 0,1$ ($p < 0,001$) и $2,58 \pm 0,55$ ($p < 0,001$) $\Delta A_{233}/мл$, а в эритроцитах — до $20,3 \pm 1,28$ ($p < 0,001$) и $21,77 \pm 0,44$ ($p < 0,001$) $\Delta A_{233}/мл$ печеночной и смешанной венозной крови соответственно. Близкая динамика изменений уровня ОШ наблюдалась в плазме и эритроцитах печеночной и смешанной венозной крови.

Показатели кислородтранспортной функции печеночной венозной крови в реперфузионном периоде ($M \pm m$)

Показатель	Исходное значение (10)	30 мин ишемии (9)	Реперфузионный период	
			через 30 мин (7)	через 120 мин (7)
pO_2 , мм рт. ст.	$30,40 \pm 3,04$	$22,42 \pm 2,25$	$28,60 \pm 6,32$	$25,09 \pm 3,67$
pH, ед.	$7,308 \pm 0,024$	$7,262 \pm 0,017$	$7,248 \pm 0,019$	$7,156 \pm 0,035^*$
pCO_2 , мм рт. ст.	$53,73 \pm 2,67$	$58,73 \pm 3,41$	$57,36 \pm 2,77$	$62,07 \pm 1,76^*$
HCO_3^- , ммоль/л	$26,23 \pm 1,05$	$25,50 \pm 0,84$	$24,37 \pm 0,84$	$21,37 \pm 0,86^*$
TCO_2 , ммоль/л	$27,88 \pm 1,08$	$27,32 \pm 0,92$	$26,16 \pm 0,88$	$23,21 \pm 0,84^*$
ABE, ммоль/л	$-0,27 \pm 1,20$	$-1,72 \pm 0,72$	$-2,93 \pm 0,88$	$-6,96 \pm 1,27^*$
$p50_{ст}$, мм рт. ст.	$26,85 \pm 0,57$	$28,35 \pm 0,80$	$28,04 \pm 0,80$	$28,00 \pm 0,66$
$p50_{рп}$, мм рт. ст.	$32,12 \pm 0,86$	$35,76 \pm 1,40^*$	$36,05 \pm 1,53^*$	$40,06 \pm 1,83^*$

Примечание. Здесь и в табл. 2 звездочкой отмечены достоверные изменения по отношению к исходному значению ($p < 0,05$). В скобках — число наблюдений.

Таблица 2

Показатели кислородтранспортной функции смешанной венозной крови в реперфузионном периоде ($M \pm m$)

Показатель	Исходное значение (10)	30 мин ишемии (9)	Реперфузионный период	
			через 30 мин (7)	через 120 мин (7)
pO_2 , мм рт. ст.	$35,26 \pm 2,00$	$38,77 \pm 2,18$	$39,76 \pm 2,82$	$28,89 \pm 2,58$
pH, ед.	$7,293 \pm 0,015$	$7,260 \pm 0,018$	$7,262 \pm 0,016$	$7,146 \pm 0,036^*$
pCO_2 , мм рт. ст.	$55,76 \pm 2,11$	$56,94 \pm 2,92$	$53,33 \pm 2,57$	$60,20 \pm 2,12$
HCO_3^- , ммоль/л	$26,62 \pm 0,89$	$24,66 \pm 0,60$	$21,59 \pm 1,43^*$	$20,64 \pm 0,87^*$
TCO_2 , ммоль/л	$28,36 \pm 0,91$	$26,62 \pm 0,67$	$23,26 \pm 0,66^*$	$22,50 \pm 0,83^*$
ABE, ммоль/л	$-0,22 \pm 0,92$	$-2,59 \pm 0,63$	$-3,60 \pm 0,67^*$	$-7,73 \pm 1,28^*$
$p50_{станд}$, мм рт. ст.	$26,78 \pm 0,70$	$28,76 \pm 0,74$	$28,64 \pm 0,96$	$27,96 \pm 0,76$
$p50_{реалин}$, мм рт. ст.	$32,55 \pm 1,05$	$36,39 \pm 1,06^*$	$36,50 \pm 1,48^*$	$40,48 \pm 1,89^*$

Характер изменений факторов АС показан на рис. 2. Содержание α -токоферола на 30-й минуте ишемии в плазме печеночной и смешанной венозной крови понижалось с $20,8 \pm 0,58$ и $21,25 \pm 0,48$ до $19,34 \pm 0,24$ ($p < 0,05$) и $18,56 \pm 0,43$ мкмоль/л ($p < 0,05$) соответственно; в эритроцитах печеночной и смешанной венозной крови не наблюдалось существенных изменений уровня α -токоферола. Далее в реперфузионном периоде мини-

мальное содержание α -токоферола отмечалось на 120-й минуте реперфузии как в плазме, так и в эритроцитах обоих образцов крови. Уровень ретинола менялся аналогично динамике изменений содержания α -токоферола на протяжении всего периода ишемии/реперфузии печени (см. рис. 2). Активность каталазы в отличие от других антиоксидантов на протяжении ишемии/реперфузии повышалась и уже на 30-й минуте ишемии достоверно

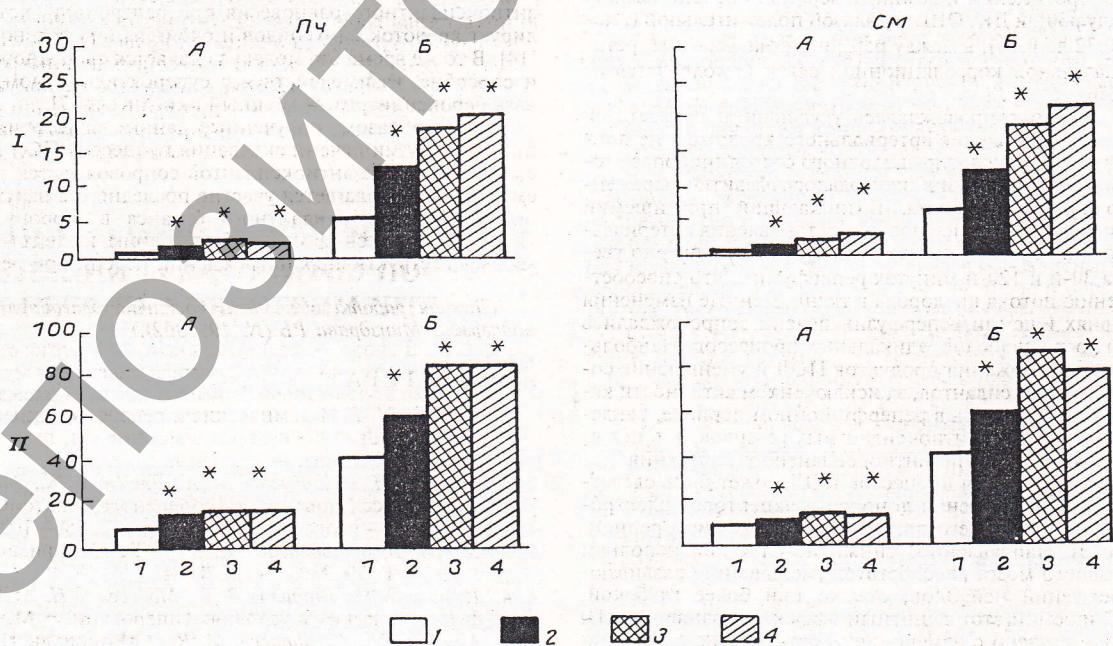


Рис. 1. Показатели ПОЛ в смешанной (См) и печеночной (Пч) венозной крови кроликов на протяжении ишемии/реперфузии печени. А — плазма, Б — эритроциты. 1 — исходные значения, 2 — через 30 мин ишемии, 3, 4 — через 30 и 120 мин реперфузии соответственно. Звездочка — $p < 0,05$. I — диеновые конъюгаты, A_{233}/ml (ось ординат); II — основания Шиффа, ЕД/мл (ось ординат).

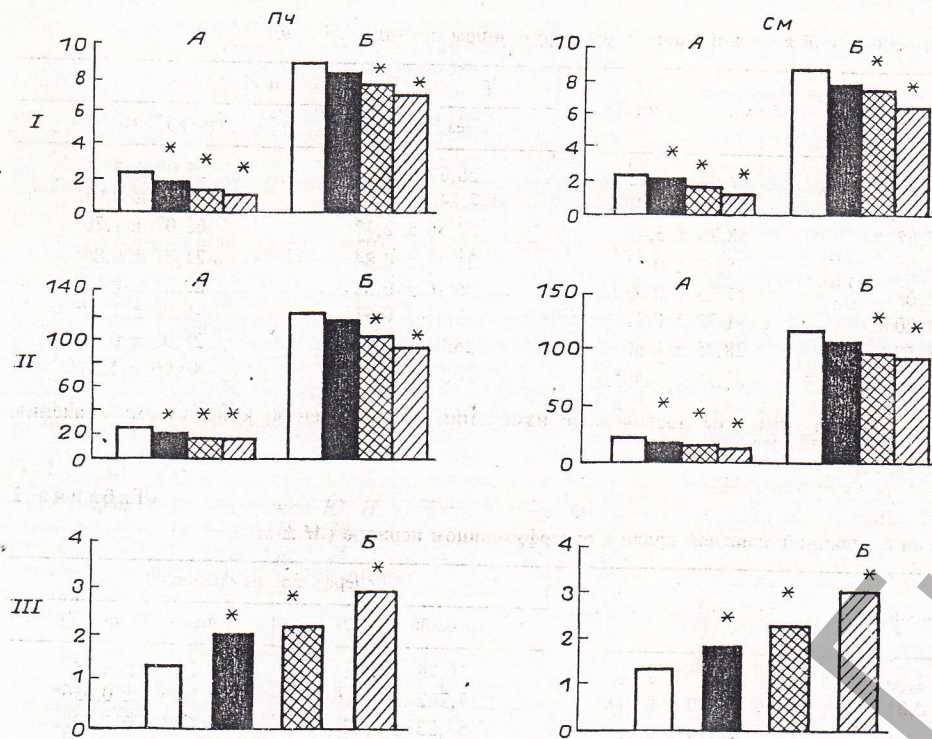


Рис. 2. Параметры антиоксидантной защиты в крови у кроликов при реперфузии печени.

I — ретинол, мкмоль/л (ось ординат), II — α -токоферол, мкмоль/л (ось ординат), III — каталаза, моль H_2O_2 /гHb/c (ось ординат).
Остальные обозначения те же, что и на рис. 1.

возрастала в эритроцитах печеночной и смешанной венозной крови с $1,37 \pm 0,16$ и $1,4 \pm 0,16$ до $1,91 \pm 0,17$ ($p < 0,05$) и $1,91 \pm 0,18$ ($p < 0,05$) моль H_2O_2 /гHb/c соответственно. Далее в реперфузионном периоде активность каталазы продолжала расти и достигала максимума на 120-й минуте реперфузии (см. рис. 2).

На 120-й минуте реперфузии установлено увеличение концентрации ДК на 129,8%, ОШ — на 215,5% и уменьшение ретинола на 60,8%, α -токоферола — на 38,3%, а также повышение активности каталазы в гомогенате печени на 37,1%. Корреляционно-регрессионный анализ изменений показателей СГК, ПОЛ и АС на протяжении ишемии/реперфузии печени выявил наличие между $r50_{pa}$ и ДК, ОШ, каталазой положительной (r колеблется от 0,72 до 0,76), а между $r50_{pa}$ и α -токоферолом, ретинолом отрицательной корреляционной связи (r колеблется от -0,71 до -0,76).

Ишемия печени сопровождалась ухудшением показателей КТФ крови. Восстановление артериального кровотока не привело к улучшению кислотно-щелочного состояния; более того на 120-й минуте реперфузии наблюдалось развитие выраженного метаболического ацидоза. Возникающий при ишемии сдвиг КДО вправо сохранялся после восстановления артериального кровотока в печени (показатель $r50_{pa}$ был достоверно увеличен на 30-й и 120-й минутах реперфузии), что способствовало усилению потока кислорода в ткани. Данные изменения КТФ в условиях ишемии/реперфузии печени сопровождались ростом активности свободнорадикальных процессов. Наибольшее увеличение содержания продуктов ПОЛ и уменьшение содержания ряда антиоксидантов, за исключением активности каталазы, в крови отмечались в реперфузионном периоде, свидетельствуя об истощении антиоксидантных резервов, и в целом о нарушении прооксидантно-антиоксидантного состояния.

Избыточная активация процессов ПОЛ может быть следствием изменения соотношения доноров и акцепторов электронов в тканях, возникающего при нарушении их кислородного обеспечения [3]. Направленное снижение СГК при неполной ишемии головного мозга способствует уменьшению развивающихся повреждений нейронов, однако при более глубокой, "глобальной" ишемии этот защитный эффект устраняется [11], что, возможно, связано с изменением соотношения доноров и акцепторов электронов при ишемических состояниях различной степени тяжести.

Факт возникающего нарушения способности тканей к полноценному четырехэлектронному восстановлению кислорода вследствие повреждения дыхательной цепи при ишемии позволяет предположить, что в реперфузионный период возникает

состояние относительного избытка акцепторов электронов. Показано, что тканевое pO_2 печени в реперфузионном периоде снижается [16, 17]. Парадоксально, но восстановление потока O_2 , и, в частности, уменьшение СГК в реперфузионном периоде, наблюдаемое в наших экспериментах, не улучшают кислородный режим печени. Более того в печени в отличие от других органов ингаляция животных кислородом на фоне перевязки печеночной артерии не приводит к росту тканевого pO_2 [5]. Вместе с тем установлено, что предварительная гипербарическая оксигенация ослабляет ишемические и реперфузионные повреждения печени [9], что, возможно, обусловлено наблюдаемым смещением КДО влево, возникающим как следствие гипероксии [4]. Также установлено положительное влияние гипоксических газовых смесей непосредственно в реперфузионном периоде, применение которых уменьшает образование продуктов ПОЛ [1]. Участие кислорода в реакциях инициации, продолжения и разветвления цепей ПОЛ позволяет предполагать, что на механизмы активации свободнорадикальных процессов при реперфузии может влиять КТФ крови [3]. При гипертермических состояниях различного генеза, которые по патогенетическим механизмам нарушения кислородного обеспечения близки к реперфузионным [13], направленное повышение СГК уменьшало нарушения прооксидантно-антиоксидантного равновесия [19].

Сдвиг КДО вправо, имеющий положительное значение на начальных этапах ишемии, в условиях восстановления кровотока не способствует поддержанию оптимального уровня прооксидантно-антиоксидантного состояния. Вероятно, снижение СГК при реперфузии содействует увеличению дисбаланса между донорами и акцепторами электронов, в результате чего дыхательная цепь не может полноценно восстанавливать кислород, что ведет к активации свободнорадикальных процессов (рост продуктов ПОЛ и истощение АС). Нельзя также исключить участие оксида азота в генезе нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия при реперфузии, который регулирует кровоток синусоидов и оксигенацию печеночной ткани [14]. В то же время эта молекула является свободнорадикальной и способна, взаимодействуя с супероксиданионом, образовывать пероксинитрит — мощный окислитель [7].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что при реперфузии печени активация процессов ПОЛ и снижение содержания ряда антиоксидантов сопровождается уменьшением СГК. Предполагается участие последнего в нарушении прооксидантно-антиоксидантного баланса в сторону активации ПОЛ. Его снижение может быть одним из патогенетических звеньев деструктивных повреждений печени при реперфузии.

(Данная работа выполнена частично благодаря финансовой поддержке Минздрава РБ (№ 1998302).)

ЛИТЕРАТУРА

1. Биленко М. В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). — М., 1989.
2. Борисюк М. В., Добродей М. А., Дремза И. К., Зинчук В. В. // Методы исследования массопереноса в системе микроциркуляции. — Новосибирск, 1991. — С. 156—162.
3. Зинчук В. В., Борисюк М. В. // Успехи физиол. наук. — 1999. — Т. 30, № 3. — С. 38—48.
4. Иржак Л. И., Гладиллов В. В., Мойсеенко Н. А. Дыхательная функция легких в условиях гипероксии. — М., 1985.
5. Маслаков Д. А., Борисюк М. В. // Материалы III съезда Белорусского физиологического общества им. И. П. Павлова. — Минск, 1970. — С. 168—169.
6. Черняускене Р. Ч., Варшавявичене З. З., Грибаускас П. С. // Лаб. дело. — 1984. — N 6. — С. 362—365.
7. Arteel G. E., Briviba K., Sties H., Sties H. // FEBS Lett. — 1999. — Vol. 445, N 2—3. — P. 226—230.

8. *Aruoma O. I., Cuppett S. L.* Antioxidant Methodology: In Vivo and in Vitro Concepts. — 1997.
9. *Chen M. F., Chen H. M., Ueng S. W.* et al. // *Liver*. — 1998. — Vol. 18, N 2. — P. 110—116.
10. *Fleicher B. L., Dillard C. J., Tappel A. L.* // *Anal. Biochem.* — 1973. — Vol. 52, N 1. — P. 1—19.
11. *Grocott H. P., Bart R. D., Sheng H.* et al. // *Stroke*. — 1998. — Vol. 29, N 8. — P. 1650—1655.
12. *Nielsen V. G., Tan S., Weinbroum A.* et al. // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* — 1996. — Vol. 154, N 5. — P. 1364—1369.
13. *Oleson J. R.* // *Int. J. Hyperthermia*. — 1995. — Vol. 11, N 3. — P. 315—322.
14. *Pannen B. H., Al Adili F., Bauer M.* et al. // *Hepatology*. — 1998. — Vol. 27, N 3. — P. 755—764.
15. *Rice-Evans C. A., Diplock A. T., Symons M. C. R.* Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology: Techniques in Free Radical Research. — Amsterdam, 1991.
16. *Uhlmann D., Scommotau S., Witzigmann H.* et al. // *Eur. Surg. Res.* — 1998. — Vol. 30, N 3. — P. 175—184.
17. *van-Wagensveld B. A., van-Gulik T. M., Gabeler E. E.* et al. // *Ibid.* — N 1. — P. 13—25.
18. *Zinchuk V. V.* // *Respiration*. — 1999. — Vol. 66, N 5. — P. 448—454.
19. *Zinchuk V. V.* // *J. Physiol. Biochem.* — 1999. — Vol. 55, N 4. — P. 301—308.

Поступила 15.06.2000

BLOOD OXYGEN TRANSPORT AND PROOXIDANT-ANTIOXIDANT STATE DURING LIVER REPERFUSION

V.V. Zinchuk, M.N. Khodosovsky, I.K. Dremza

Indices of blood oxygen transport (hemoglobin-oxygen affinity, pCO_2 , pH, pO_2 , etc.) and prooxidant-antioxidant state (Schiff bases, conjugated dienes, catalase, retinal, α -tocopherol) were measured in rabbit blood and the liver during postischemic reperfusion. Hepatic ischemia was induced for 30 min by ligation of a. hepatica propria, and reperfusion lasted for 120 min. Hepatic ischemia worsened blood oxygen transport. Restoration of arterial blood flow did not result in improvement of oxygen delivery. Moreover, marked metabolic acidosis was observed throughout 2 hr of reperfusion. Ischemia induced a shift of oxyhemoglobin dissociation curve to the right. This shift persisted after restoration of hepatic arterial blood flow facilitating increased oxygen transport to tissues. Changes in blood oxygen transport during hepatic ischemia/reperfusion were accompanied with high activity of free radical processes. During reperfusion, the largest increase in content of lipid peroxidation products and the greatest fall of some antioxidant levels except catalase were observed indicating impairment of liver prooxidant-antioxidant balance. The results showed that activation of lipid peroxidation and a decrease in some antioxidant levels during hepatic reperfusion were associated with lowering of hemoglobin-oxygen affinity and suggest participation of the latter in impairment of prooxidant-antioxidant balance.

© П. Н. САВИЛОВ, 2002

УДК 616.36-089.873]-072.7-092.9

П. Н. Савилов

СОСТОЯНИЕ АММИАКОБЕЗВРЕЖИВАЮЩЕЙ ФУНКЦИИ ГЕПАТОЦИТОВ ПОСЛЕ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Кафедра патологической физиологии (зав. — проф. В. А. Ворновский), кафедра нормальной физиологии (зав. — проф. В. Н. Яковлев) Воронежской государственной медицинской академии им. Н. Н. Бурденко

Одним из направлений в современной трансплантологии печени является пересадка части печени от здоровых взрослых, "живых доноров", детям [17, 25]. Это стало возможным благодаря высокой репаративной способности органа, установленной в ходе многочисленных экспериментальных исследований и клинических наблюдений. Вместе с тем печень выполняет в организме человека множество специализированных функций, одной из которых является обезвреживание эндогенного токсина аммиака [8, 9], осуществляемое благодаря сопряженной работе обратимого (образование глутамина) и необратимого (синтез мочевины) метаболических путей его связывания в гепатоцитах [5]. При этом не только обезвреживается метаболит, оказывающий выраженное нейротоксическое действие [9], но и образуются нетоксические вещества (глутамин, мочевина), актив-

но участвующие во многих физиологических реакциях организма. Так, глутамин регулирует пластические процессы в клетке [1], а мочевина является сильным эндогенным антиоксидантом [2]. Однако состояние аммиакобезвреживающей функции гепатоцитов после резекции печени (РП) в настоящее время неизвестно, что затрудняет разработку реабилитационных мероприятий у "живых доноров" в послеоперационном периоде.

Целью настоящего исследования явилось изучение метаболических путей обезвреживания аммиака в печени здорового организма после частичной гепатэктомии.

Методика. Опыты проведены на 125 белых крысах-самках массой 180—220 г. РП проводили в утренние часы под эфирным наркозом по разработанной нами [11] методике, которая заключалась в удалении электроножом части левой доли печени, что составляло 15—20% массы органа. Учитывая, что лапаротомия у здоровых животных не изменяет азотистый метаболизм в печени [1], выделения отдельных серий "ложнооперированных" животных не проводили, здоровые неоперированные животные служили контролем. Всего было выделено 5 серий опытов. 1-я серия — здоровые животные (контроль); 2, 3, 4 и 5-я серии — животные, исследованные соответственно на 3, 7, 14 и 21-е сутки после РП. Животных забивали декапитацией на фоне этилового наркоза. В оставшейся после резекции части левой доли печени определяли содержание аммиака и глутамината [12], глутамата [16] и мочевины [22] после предварительного замораживания ткани в жидком азоте. Для определения активности ферментов печень предварительно перфузировали охлажденным 0,125 М раствором КСl и гомогенизировали в 0,25 М растворе сахарозы (рН 7,4). Далее методом дифференциального центрифугирования [21] выделяли субклеточные фракции гепатоцитов. В митохондриальной фракции определяли активность фосфатзависимой глутаминазы (ФЗГ) [15] и глутаматдегидрогеназы (ГДГ) [24]; в микросомальной фракции — активность глутаминсинтетазы (ГС) [10], в цитозоле — активность аргиназы [14]. Содержание белка в субклеточных фракциях гепатоцитов определяли по методу Лоури [19]. Результаты обработаны статистически с учетом критерия Стьюдента [4].

Результаты и обсуждение. Как показали наши исследования (см. таблицу), в оставшейся после резекции части печени отмечено накопление аммиака, концентрация которого превышала норму на 22—77% в течение 21-х суток послеоперационного периода. Это указывает на стойкое нарушение аммиакобезвреживающей функции гепатоцитов даже при резекции малых (15—20%) объемов печени. Одним из метаболических путей связывания аммиака в печени является образование глутамина, которое происходит исключительно в гепатоцитах, расположенных вблизи центральной вены (перивенулярно), где локализована ГС [18], катализирующая данную метаболическую реакцию [5, 18]. В нашем опыте РП вызывала снижение концентрации глутамината в гепатоцитах, которая оставалась на 26—30% ниже нормы на протяжении всего периода наблюдений (см. таблицу). Активность ГС на 3-и сутки после операции составляла 119%, тогда как на 7-е, 14-е и 21-е сутки после РП соответственно 65, 71 и 84% нормы (см. рисунок). Следовательно, одной из причин снижения концентрации глутамината в регенерирующей печени является угнетение активности ГС гепатоцитов в послеоперационном периоде. Другой причиной следует рассматривать снижение содержания в ней АТФ [6, 13] в результате ее повышенного использования в пластических процессах регенерирующей печени [13]. Можно предположить, что при этом происходит "обкрадывание" других АТФ-зависимых метаболических реакций клеток печени, в том числе и образования глутамината. Не случайно даже в условиях повышенной активности ГС (3-и сутки после РП, см. рисунок) отмечалось снижение концентрации глутамината в гепатоцитах на фоне накопления ими аммиака (см. таблицу). Касаясь причин снижения активности ГС гепатоцитов в поздние сроки после РП, можно предположить как уменьшение концентрации фермента в гепатоцитах, так и накопление в них аллостерических ингибиторов энзима. К последним относятся аланин и АДФ [5], концентрация которых в регенерирующей печени повышается [6, 18].

Глутамин, поступающий в печень с кровью, дезаминируется в гепатоцитах перипортальной зоны дольки печени при участии глутаминаз с образованием глутамата и амидной группы [3, 21], которая в обычных условиях включается в первое звено орнитинового цикла синтеза мочевины [5]. Основную роль в дезаминировании глутамината принадлежит ФЗГ [3], локализованной на внутренней поверхности митохондриальной мембраны [21]. В ранние (3-и и 7-е сутки) сроки после РП отмечено увеличение активности ФЗГ гепатоцитов соответственно на 32 и 30%, однако на 21-е сутки после операции ее активность снижалась на 22% по сравнению с нормой. Следовательно, ингибируя образование глутамината в гепатоцитах, РП стимулирует в них его де-