

13. Saito T. A technique for perfusion of the isolated rabbit pancreas // Jap. J. Pharmacol. — 1984. — 34, N 1. — P. 43—50.
14. Schulz J. The role extracellular Ca^{2+} and cyclis nucleotides in the mechanisms of enzyme secretion from the cat pancreas // Pflugers Arch. — 1975. — 360, N 2. — P. 165—181.
15. Tournut R., Estival A., Vaysse N. et al. In-situ-isolated perfused rat pancreas: a new method for pharmacological studies of the exocrine pancreas // Digestion. — 1977. — 15, N 4. — P. 329—337.

Львов. ун-т им. И. Франко
МВССО УССР

Поступила 29.07.85

УДК 612.339:615.777.99:577.156

А. А. Синовец, В. Л. Базелян, С. В. Вовчук

ПРОТЕОЛИЗ И ПРОНИЦАЕМОСТЬ ГИСТОГЕМАТИЧЕСКИХ БАРЬЕРОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПЕРИТОНИТЕ

Проблема лечения гнойного перитонита, которая и сегодня далека от разрешения, выдвигает необходимость углубленного изучения различных сторон патогенеза этого заболевания. Один из самых существенных моментов патогенеза перитонита — эндогенная интоксикация, причины возникновения и механизм развития которой являются объектом изучения в эксперименте и клинике [5, 8].

В ряде работ показана важная роль в патогенезе интоксикации при перитоните активации калликреин-кининовой системы, развития трипсинемии [5], что приводит к нарушению микроциркуляции, функции сердечно-сосудистой и дыхательной систем, повышению сосудистой проницаемости [10].

При перитоните в брюшной полости накапливается большое количество токсических веществ, в том числе протеаз и продуктов их взаимодействия с белковыми структурами, которые, всасываясь в кровь, усиливают интоксикацию и способствуют образованию среднемолекулярных пептидов. В настоящее время полагают, что эти вещества играют важную роль в формировании интоксикации [3, 8].

Цель нашей работы — изучение протеолиза, ингибиторного потенциала, содержания среднемолекулярных пептидов и токсичности сыворотки крови животных в динамике развития гнойного перитонита, состояния некоторых гистогематических барьеров, а также изучение влияния ингибиторов протеолиза (контрикала) на эти показатели.

Методика

Эксперименты выполнены на 173 белых разнополых крысах линии Вистар массой 250—280 г. Разлитый гнойный перитонит воспроизводили по методике Дерябина (1963). Протеолиз в сыворотке крови изучали методами Kunitz, Anson в модификации Левицкого [6]; содержание белка — по Lowry, ингибитор трипсина — по Левицкому [6]; концентрацию среднемолекулярных пептидов — по Габриэляну [2]; биологическую токсичность — по Сахновской [9].

Проницаемость гистогематических барьеров исследовали радионуклидным методом, используя в качестве индикатора $Na^{125}I$ (В/О «Изотоп»). Изотоп вводили внутривенно в дозе $14,8 \cdot 10^5$ Бк/кг массы животного за 1 ч до исследования. Для радиометрии отбирали по 0,1 мл крови, а также навески сырой ткани печени, почек и головного мозга. Кровь и исследуемые ткани наносили на мишени и высушивали до постоянной массы. Исследуемый материал радиометрировали на низкофоновой установке УМФ-1500-М. Эффективность счета составила 10 % при фоне 0,17 Бк. Животным контрольной группы внутрибрюшинно вводили по 1,0 мл физиологического раствора два раза в сутки, животным опытной группы внутрибрюшинно вводили контрикал (ГДР) по 4000 АТРЕ/кг два раза в сутки. Забор крови и тканей осуществляли после выведения из опыта путем обескровливания под эфирным наркозом.

Результаты

Как видно из данных, представленных в табл. 1, развитие перитонита у экспериментальных животных сопровождается резкой активацией протеолитических ферментов крови, почти в девять раз превосходящей показатели здоровых животных. Активация кислых катепсинов (лизосомальных протеаз), достоверно повышена только в ранние сроки перитонита и, очевидно, является реакцией на операционную травму. Изменение содержания сывороточного ингибитора трипсина (α_1 -антитрипсин) имеет фазный характер — резкое снижение его содержания за 1 сутки заболевания сменяется значительным усилением продукции в более поздние сроки. Повышение уровня сывороточного ингибитора трипсина отражает общую адаптационную способность организма при травмах, шоке [7].

Таблица 1. Изменение протеолитической активности крови, содержания сывороточного ингибитора трипсина, концентрации среднемoleкулярных пептидов и биологической токсичности в динамике развития экспериментального перитонита

Показатель	Контроль	Перитонит			
		24 ч	48 ч	72 ч	72 ч + введение контрикала
Трипсиноподобная активность, н.кат/л	2,7±0,5	11,7±1,0 $P < 0,001$	24,0±3,3 $P < 0,001$	16,7±2,0 $P < 0,001$	10,7±0,8 $P < 0,05$ $P_1 < 0,05$
Активность кислых протеаз, н.кат/л	10,0±0,63	16,7±1,8 $P < 0,05$	13,5±1,8 $P > 0,05 < 0,1$	10,3±1,7 $P > 1$	11,5±1,3 $P > 0,5$ $P_1 > 0,1$
Среднемoleкулярные пептиды, усл. ед.	0,18±0,02	0,19±0,02 $P > 1,0$	0,2±0,04 $P > 1,0$	0,22±0,04 $P > 0,5$	0,24±0,01 $P < 0,05$ $P_1 > 1,0$
Ингибитор трипсина, г/л инакт. тр.	0,93±0,1	0,4±0,05 $P < 0,05$	1,0±0,07 $P > 0,5$	2,0±0,1 $P < 0,05$	2,4±0,2 $P < 0,05$ $P_1 > 0,05 < 0,1$
Белок сыворотки, кг/л	0,097±0,003	0,079±0,005 $P < 0,05$	0,08±0,002 $P < 0,01$	0,06±0,003 $P < 0,01$	0,05±0,003 $P < 0,01$ $P_1 > 0,5$
Паракейный тест, мин	36,2±2,0	17,1±2,3 $P < 0,01$	13,4±1,9 $P < 0,001$	9,4±0,3 $P < 0,001$	17,1±2,1 $P < 0,01$ $P_1 < 0,01$

P — по отношению к здоровым животным; P_1 — по отношению к животным с перитонитом контрольной группы.

С развитием перитонита отмечается тенденция к росту концентрации в крови среднемoleкулярных пептидов, однако приближение к достоверным значениям отмечается только в терминальной стадии. По мере развития перитонита усиливается гипопроteinемия, а также значительно возрастает биологическая токсичность. Введение контрикала животным с экспериментальным перитонитом достоверно удлиняет паракейный тест на фоне снижения общей протеолитической активности крови и повышения концентрации сывороточного ингибитора трипсина. Вероятно, в условиях наших экспериментов дезинтоксикационное действие контрикала связано с нейтрализацией скопившихся в брюшной полости протеаз и способностью его тормозить перитонеальную резорбцию [4].

Учитывая, что в патогенезе интоксикации при перитоните существенное значение имеет активация сывороточных протеаз, которые могут оказывать влияние на состояние гистогематических барьеров [1], мы изучили проницаемость некоторых из них.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, развитие экспериментального перитонита сопровождается снижением радиоактив-

ности крови и увеличением радиоактивности тканей. Если радиоактивность ткани печени значительно возрастает к исходу третьих суток, то радиоактивность ткани головного мозга повышена более чем в два раза уже через сутки от начала развития перитонита и удерживается на высоком уровне весь период заболевания.

Т а б л и ц а 2. Влияние контрикала на радиоактивность крови, ткани печени и головного мозга при экспериментальном перитоните, Бк/(кг·10²)

Исследуемый материал	Контроль		Перитонит (24 ч)	
	без контрикала	с контрикалом	без контрикала	с контрикалом
Кровь	4477±630	4133±583 $P>1$	2448±647 $P<0,05$	3380±303 $P>0,05$ $\sim<0,1$ $P_1>0,05$
Печень	1514±380	1478±183 $P>1$	1564±1065 $P>1$	1611±277 $P>0,5$ $P_1>0,5$
Относительная активность, %	34	36	64	48
Мозг	150±27	124±21 $P>0,5$	368±72 $P<0,05$	235±28 $P<0,05$ $P_1<0,05$
Относительная активность, %	3,3	3	15	6,9
Исследуемый материал	Перитонит (48 ч)		Перитонит (72 ч)	
	без контрикала	с контрикалом	без контрикала	с контрикалом
Кровь	1665±330 $P<0,01$	2782±614 $P<0,05$ $P_1>0,05$ $<0,1$	2470±770 $P=0,05$	2672±510 $P>0,05$ $P_1<1$
Печень	1101±85 $P>0,2$	1980±356 $P>0,05$ $<0,1$ $P_1<0,05$	3252±148 $P<0,01$	3530±615 $P<0,01$ $P_1>1$
Относительная активность, %	67	71	131	132
Мозг	327±73 $P<0,05$	290±36 $P<0,05$ $P_1>0,5$	303±25 $P<0,01$	327±61 $P<0,01$ $P_1>0,5$
Относительная активность, %	19,6	10,4	12,3	12,2

Примечание. P — по отношению к здоровым животным; P_1 — по отношению к животным с перитонитом без введения контрикала.

Внутрибрюшинное введение контрикала приводит к увеличению радиоактивности крови во все сроки заболевания за счет значительного уменьшения проникновения изотопа из крови в ткани. Так, относительная активность для ткани мозга при введении контрикала снижается в среднем в два раза при 24- и 48-часовом перитоните. Для ткани печени этот эффект выражен только в ранние сроки (24 ч). В терминальной фазе перитонита введение контрикала не влияет на скорость проникновения изотопа из крови в ткани.

Таким образом, проведенные исследования показали, что развитие экспериментального перитонита сопровождается резкой активацией протеолиза в сыворотке крови в основном за счет трипсина и трипсиноподобных протеаз, что сопровождается повышением гистогематической проницаемости и увеличением токсичности сыворотки крови. Внутрибрюшинное введение контрикала снижает токсичность сыворотки крови

на фоне уменьшения ее протеолитической активности и усиления продукции сывороточного ингибитора трипсина. Введение контрикала уменьшает проникновение изотопа из крови в ткани на ранних этапах развития перитонита, что, вероятно, объясняется способностью этого препарата нормализовывать проницаемость сосудов при различных патологических состояниях [1].

Выводы

1. Развитие экспериментального перитонита у крыс сопровождается активацией сывороточных трипсиноподобных протеаз во все сроки заболевания и лизосомальных протеаз (кислые протеазы) в ранние сроки.

2. Развитие экспериментального перитонита сопровождается резким уменьшением содержания сывороточного ингибитора трипсина в ранние сроки заболевания (24 ч), с последующим значительным увеличением его продукции.

3. При экспериментальном перитоните повышается проницаемость гистогематических барьеров.

4. Применение контрикала при перитоните в качестве дезинтоксикационного средства основано на его способности снижать общую протеолитическую активность крови, увеличивать ингибиторный потенциал, нормализовать проницаемость гистогематических барьеров, уменьшать биологическую токсичность сыворотки крови.

A. A. Sinovetz, V. L. Bazelyan, S. V. Vovchuk

PROTEASE ACTIVITY AND PERMEABILITY OF HISTOHEMATIC BARRIES IN EXPERIMENTAL PERITONITIS

An increase in the activity of trypsin-like and lysosomal proteases, in the level of α_1 -antitrypsin, concentration of average-molecular peptides and biological toxicity is observed in blood of white rats with experimental peritonitis. Development of experimental peritonitis is accompanied by the increase of blood-tissue permeability for Na^{125}I . Intraperitoneal administration of a contrical in a dose of 4000 АТрЕ/kg decreases high permeability of Na^{125}I to the liver and brain tissue as well as casein-activity and biological toxicity of blood.

1. Веремеенко К. Н. Кининовая система. — Киев : Здоров'я, 1977. — 183 с.
2. Габриэлян Н. И., Коновалов Г. А., Дмитриев А. А. и др. Прогностическое значение некоторых лабораторных показателей у больных с острой почечной недостаточностью // Анестезиология и реаниматология. — 1983. — № 1. — С. 48—50.
3. Галактионов С. Г., Николайчик В. В., Цейтин В. М., Михнева Л. Н. «Средние молекулы» — эндотоксины пептидной природы // Хим.-фармацевт. журн. — 1983. — 17, № 11. — С. 1286—1293.
4. Зубков О. Б., Синовец А. С., Синовец А. А. Влияние калликреина, трипсина и их ингибиторов на всасывание Na^{125}I из брюшной полости крыс // Физиол. журн. — 1983. — № 2. — С. 115—119.
5. Ивашкевич Г. А., Вуйв Г. П., Химка А. С. Происхождение интоксикации при гнойном перитоните // Хирургия. — 1977. — № 1. — С. 74—77.
6. Левицкий А. П. Пищеварительные ферменты слюнных желез: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — Одесса, 1974. — 428 с.
7. Мешалкин Е. М., Сергеевский В. С., Сувернев А. В., Глейм Г. К. Трипсинемия в реакции организма на повреждение // Новосибирск : Наука, 1982. — 81 с.
8. Рейс Б. А., Машков О. А., Карманов П. А., Тогузов Р. Т. Исследование токсина при перитоните // Хирургия. — 1983. — № 6. — С. 77—80.
9. Сахновская Г. К. Изменения токсических для парамеций свойств крови при экспериментальной ожоговой болезни // Патол. физиология и эксперим. терапия. — 1965. — № 1. — С. 56—59.
10. Цой Г. В., Нейков Г. Н., Волобоев Н. А. О механизме нарушения проницаемости стенок капилляров при остром аппендиците и перитоните у детей // Вестн. хирургии. — 1977. — № 11. — С. 127—130.

Одес. мед. ин-т им. Н. И. Пирогова
МЗ УССР

Поступила 09.09.85