

А. М. БЕЛИНСКАЯ, Л. Л. ТЕПЛОВА

ГИСТОХИМИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ ОБ ИЗМЕНЕНИИ ГЛИКОГЕНА ПЕЧЕНИ, ВЫКЛЮЧЕННОЙ ИЗ КРОВООБРАЩЕНИЯ В УСЛОВИЯХ НОРМО- И ГИПОТЕРМИИ

Многие вопросы трансплантации и подсадки печени, в том числе сохранение жизнеспособности органа при ишемии, еще мало изучены.

Замена собственной печени реципиента донорским трансплантатом, подсадка донорской печени всегда связаны с необходимостью выключения данного органа из кровообращения на более или менее длительное время. Ряд авторов [5, 8, 9, 12, 13] сообщает о том, что печень чрезвычайно чувствительна к ишемии и гипоксии. 30-минутная перевязка всех афферентных печеночных сосудов всегда приводила к смерти животных. А этого времени недостаточно для завершения хирургических манипуляций при пересадке и подсадке донорской печени. Необходимо общее охлаждение, которое устраняет весьма реальную опасность, возникающую в связи с гипоксией трансплантируемой печени, и намного повышает устойчивость ее к ишемии [10].

От продолжительности и степени гипоксии в значительной мере зависит направление процессов фосфорилирования в печени, подготавливаемой к подсадке, а следовательно, содержание в ней гликогена. Значительное содержание гликогена в гепатоцитах делает их более устойчивыми к неблагоприятным воздействиям, повышает антитоксическую способность органа.

В литературе имеются сообщения о том, что при гипоксии, обусловленной различными факторами, уменьшаются запасы гликогена в печени и повышается количество сахара в крови [1, 4]. Одни авторы [2] говорят о гипергликемии вследствие ишемии и гипоксии органов, принимающих участие в осуществлении процесса обмена, в первую очередь печени, во время сосудистых катастроф; другие [7], напротив, о снижении уровня сахара в крови при гипоксии. Гликоген печени также уменьшается почти в 7 раз, что является, по мнению авторов, следствием нарушения синтеза его. На основании гистохимического исследования гликогена печени в условиях гипотермии различной глубины установлено, что чем ниже температура тела животного, тем меньше в печени гликогена [3].

В доступной литературе мы не встретили работ об изменении гликогена печени в ранние сроки после наступления ишемии органа в условиях нормо- и гипотермии. Учитывая это, а также противоречивость литературных данных, мы поставили перед собой задачу изучить содержа-

ние гликогена в печени и сахара в крови у животных при различной продолжительности и степени ишемии данного органа на фоне нормо- и гипотермии.

Эксперименты проводились на собаках обоего пола весом от 10 до 15 кг. Животные перед опытом голодали в течение 18 часов. Наркоз внутривенный барбитуровый с интубацией трахеи. Доступ к печени осуществлялся срединной лапоротомией. Воротная вена перевязывалась выше впадения верхней брыжеечной вены.

Печеночная артерия перевязывалась у ворот печени. Гипотермия создавалась путем параллельной вено-артериальной перфузии охлажденной кровью ($+16-20^{\circ}$). Для поддержания жизненно важных функций организма перфузия продолжалась в течение 2 час. после исключения печени из кровообращения. Охладить печень до $16-20^{\circ}\text{C}$ данной методикой нам удалось за 30—50 мин. Выключение печени из кровообращения производилось так же, как в условиях нормотермии.

Для определения гликогена в печени брали кусочки ткани размером $0,5 \times 0,5$ см до выключения печени из кровообращения и через 20, 40 и 60 мин. после перевязки афферентных сосудов.

В условиях гипотермии такие же кусочки ткани брали через 30, 60, 90 и 120 мин. после выключения печени из кровообращения.

Кусочки ткани фиксировались в жидкости Карнуа, проводились через спирты и заливались в парафин. Для определения гликогена в печени ставили ШИК-реакцию. В целях контроля часть срезов подвергали предварительной обработке амилазой. Содержание сахара в крови определяли по методу Гульмана. Кровь для исследования брали из бедренной вены собаки. Материал обработан методом вариационной статистики.

При микроскопическом исследовании контрольных препаратов печени отмечалось довольно высокое содержание гликогена в виде зерен и глыбок малинового цвета, расположенных равномерно в цитоплазме гепатоцитов (рис. 1, а).

Через 20 мин. после выключения печени из кровообращения в препаратах наблюдалось незначительное обеднение гепатоцитов гликогеном. В клетках, расположенных вокруг центральных вен и по периферии печеночных долек, зерна малинового цвета окрашивались бледнее, чем в контрольных препаратах, а в отдельных гепатоцитах гликоген совсем не выявлялся. Отмечалось неравномерное распределение гликогена по дольке (рис. 1, б). Через 40 мин. после выключения печени из кровообращения наблюдалось более значительное обеднение гликогеном. Он выявлялся в виде бледно-малиновых глыбок и зерен, редко расположенных в цитоплазме печеночных клеток. Во многих гепатоцитах гликоген не определялся (рис. 1, в).

После 60-минутного выключения печени из кровообращения отмечалось резкое обеднение печеночных клеток гликогеном.

В одних препаратах гликоген выявлялся в единичных клетках, в других совсем не выявлялся (рис. 1, г).

В крови, взятой из бедренной вены животных, во всех случаях наблюдали повышение содержания сахара, по сравнению с исходным уровнем, т. е. непосредственно перед перевязкой афферентных сосудов печени.

Обеднение печеночной ткани гликогеном и повышение уровня сахара в крови при ишемии печени мы объясняли усилением гликогенолиза

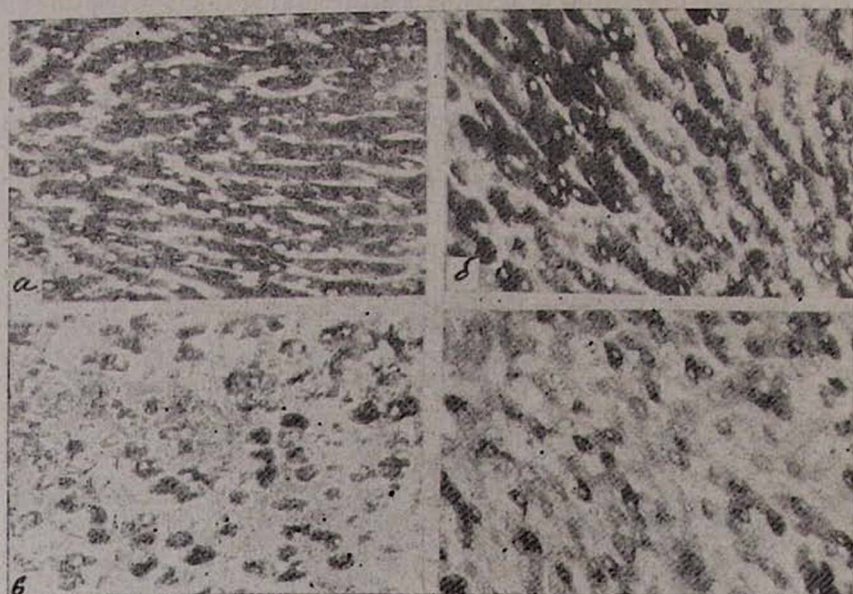


Рис. 1. Изменение гликогена в печени, выключенной из кровообращения в условиях нормотермии: а) гликоген в контрольном препарате, б) гликоген в печени при 20-минутной ишемии, в) гликоген в печени при 40-минутной ишемии, г) гликоген в печени при 60-минутной ишемии.

Таблица 1

II-7 II ¹ -12	Исходный уровень сахара	Сроки отключения печени из кровообращения			
		20 ¹	30 ¹	40 ¹	60 ¹
M±m	73,3±4,25	94±5,46	108,7±4,4	119,1±6,74	123,4±10
t		1,99	4,4	5,7	4,6
		P>0,01 <0,02	P<0,001	P<0,001	P<0,001

в ней. По-видимому, депонированная в печени кровь с высоким содержанием сахара выбрасывалась из печеночной вены в нижнюю полую вену. Для доказательства этого мы в ряде экспериментов одновременно с афферентными сосудами перевязывали и нижнюю полую вену сразу после впадения в нее печеночной вены.

Чтобы предотвратить застой в венозной системе, накладывался портокава-яремный шунт. Кровь для исследования брали непосредственно из печеночной и бедренной вен. В этом случае в периферической крови уже через час после выключения печени из кровообращения наблюдалось заметное снижение уровня сахара по сравнению с исходным (табл. 2).

Таблица 2

Содержание сахара в крови бедренной вены собак в мг % при перевязке афферентных сосудов печени и нижней полой вены в условиях нормотермии

II—7 II ¹ —12	Исходный уровень сахара в крови	Сроки отключения печени из кровообращения		
		20 ¹	40 ¹	60 ¹
M±m t	82,7±4,1	76,5±3,76 1,06 P>0,2 <0,5	69,4±3,27 2,48 P>0,02 <0,05	55,9±1,31 6,16 P<0,001

В крови печеночной вены содержание сахара уже в первые 5 мин. с момента отключения печени значительно превышало исходный уровень и продолжало нарастать (табл. 3).

Таблица 3

Содержание сахара в крови печеночной вены собак в мг % при перевязке афферентных сосудов печени и нижней полой вены в условиях нормотермии

II—7 II ¹ —12	Исходный уровень сахара в крови пече- ночной вены	Сроки отключения печени из кровообращения			
		5 ¹	20 ¹	40 ¹	60 ¹
M±m t	204,9±5,52	232,6±4,8 3,78 P>0,001 <0,01	432,7±4,4 32 P<0,001	733,8±6,4 62 P<0,001	806,0±5,5 77 P<0,001

Об интенсивности гликогенолиза в печени в условиях ишемии свидетельствовало и значительное нарастание концентрации неорганического фосфора крови в печеночной вене. Если в момент перевязки сосудов концентрация его не превышала 4—6 мг %, то к 60-й мин. с момента выключения печени из кровообращения она достигала 20—28 мг %.

После выключения печени из кровообращения в условиях глубокой гипотермии изменения гликогена были менее выражены.

Через 30 мин. после перевязки афферентных сосудов печени в большинстве препаратов гликоген выявлялся в цитоплазме гепатоцитов в виде ярко-малиновых глыбок, близко прилежащих друг к другу. В некоторых случаях в это время отмечалось незначительное снижение интенсивности окраски гликогена, по сравнению с контрольными препаратами (рис. 2,а).

После 60-минутной ишемии печени интенсивность окраски гликогена и характер распределения его в цитоплазме гепатоцитов были такими же, как в предыдущем препарате (рис. 2,б).

Через 90 мин. после выключения интенсивность окраски гликогена во всех препаратах была ниже печени контрольной, но распределение гликогена в цитоплазме клеток было равномерным (рис. 2, в).

Через 120 мин. отмечалось более выраженное обеднение гликогеном гепатоцитов по сравнению с предыдущими препаратами. В клетках, расположенных вокруг центральных вен и по периферии печеночных долек, гликоген совсем не выявлялся или окрашивался очень бледно. Поэтому распределение гликогена в препарате было неравномерным.

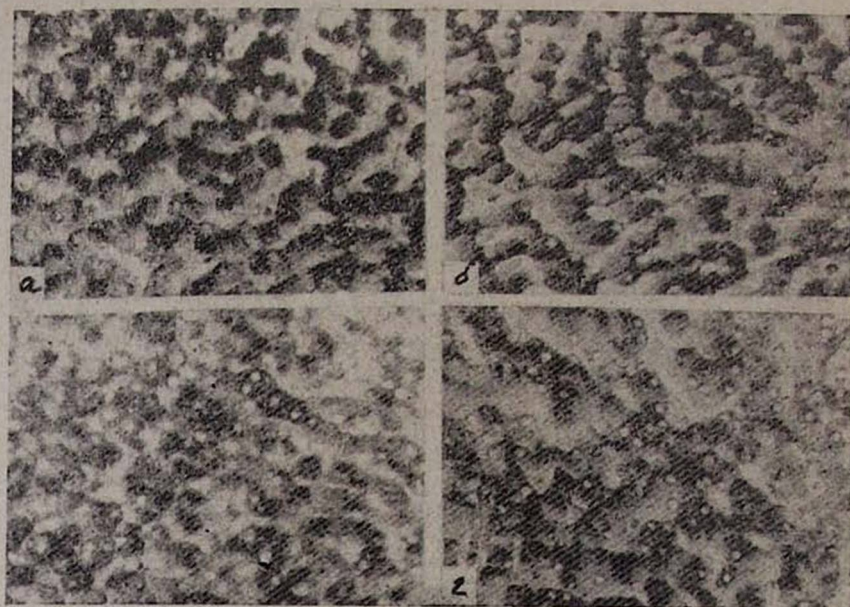


Рис. 2. Изменение гликогена в печени, выключенной из кровообращения в условиях гипотермии: а) гликоген в печени после 30-минутной ишемии, б) гликоген в печени после 60-минутной ишемии, в) гликоген в печени после 90-минутной ишемии, г) гликоген в печени после 120-минутной ишемии. Шик-реакция. Окуляр 6, объектив 25.

Таблица 4
Содержание сахара в крови бедренной вены собаки в мг%
при отключении печени из кровообращения на фоне
глубокой гипотермии

II-7 II-12	Исходный уровень сахара	Сроки отключения печени из кровообращения		
		30 ¹	60 ¹	120 ¹
M ± m t	111,2 ± 2,9	98,9 ± 3,73	92,5 ± 1,69	83,5 ± 1,38
		2,60	5,6	8,6
		P > 0,02 < 0,05	P < 0,001	P < 0,001

Наблюдалась заметная тенденция к снижению содержания сахара в крови через 2 часа после отключения печени из кровообращения.

При последующем подключении печени и согревании животного концентрация сахара в крови повышалась, по сравнению с исходной, достигая через 5 мин. в среднем 165 мг%, а через 20 мин. 200 мг%. Несмотря на более продолжительное время выключения печени из кровообращения на фоне глубокой гипотермии, степень гликогенолиза в печени была значительно ниже, чем при выключении ее в условиях нормотермии, о чем свидетельствуют данные изменения гликогена в печени и сахара в крови. Таким образом, глубокая гипотермия обеспечивает более благоприятные условия для сохранения функциональной способности донорской печени и может быть использована при трансплантации и подсадке.

Институт клинической
и экспериментальной хирургии
МЗ Каз. ССР

Поступило 31/VII 1968 г.

Ա. Մ. ԲԵԼԻՆՍԿԱՅԱ, Լ. Լ. ՏԵՊԼՈՎԱ

ԱՐՅԱՆ ՇՐՋԱՆԱՌՈՒԹՅՈՒՆԻՑ ԱՆՋԱՏՎԱԾ ՆՈՐՄՈ- ԵՎ ՀԻՊՈԹԵՐՄԻԱՅԻ ՊԱՅՄԱՆՆԵՐԻ ԼՅԱՐԴԻ ԳԼԻԿՈԳԵՆԻ ՓՈՓՈԽՈՒԹՅԱՆ ՎԵՐԱԲԵՐՅԱԼ ՀԻՍՏՈԽԵՄԻԿ ԵՎ ԲԻՈԲԻՄԻԿ ՏՎՅԱԼՆԵՐԸ

Ա մ փ ո փ ո լ մ

Շների վրա էքսպերիմենտալ պայմաններում կատարվել են լյարդի գլիկոգենի հիստոխիմիկ հետազոտություններ և որոշվել իշեմիայի տարբեր տևողության պայմաններում շաքարի պարունակությունն արյան մեջ նորմո- և հիպոթերմիայի դեպքում, ընդ որում բացահայտվել են նշանակալից տեղաշարժեր:

A. M. BELINSKAYA, L. L. TEPLOVA

HISTO- AND BIOCHEMICAL DATA ON GLYCOGEN EXCHANGE IN THE LIVER DISCONNECTED FROM CIRCULATION UNDER NORMO- AND HYPOTHERMY CONDITIONS

S u m m a r y

A histochemical estimation of glycogen content in the liver and determination of sugar level in the blood were performed in ischemia of different duration under normo- and hypothermy conditions, considerable changes being revealed.

ЛИТЕРАТУРА

1. Безуглый В. П. Врачебное дело, 1966, 1, 51—54.
2. Боброва О. Л. В кн.: «Труды Московского общества испытателей природы». Отдел биологии, 1966, 171—179.
3. Гурленя А. М. Гистохимия гликогена печени, скелетной и сердечной мускулатуры при экспериментальной гипотермии. Материалы 3-й научной конференции невропатологов. Минск, 1966, 90—91.
4. Добринская М. А. В кн.: «Влияние кислородной недостаточности на обмен веществ в тканях». Л., 1962, 13—19.
5. Лопухин Ю. М., Березов Ю. Е., Островерхов Г. Е., Коган Э. М., Лакин К. М., Лакин М. Д., Малюгин Э. Ф., Ермолова А. Г. В кн.: «Трансплантация органов и ткани». 1966, 180—183.
6. Микаэлофф Ф., Дюро Г., Расса Ж. Р., Дюбернар, Ж. М., Бомель Ж., Дескот Ж. Хирургия, 1967, 1, 53—57.
7. Никонова В. А., Спилиоти З. И., Эпштейн М. М., Дмитриенко Н. П. Врачебное дело, 1966, 2, 140—141.
8. Ellis H. Surgery, 1954, 36, 950.
9. Hines J. R. and Roncoroni M. Surgery, 1956, 102, 6.
10. Moore F. D., Smith T. K., Burnap, Damin G. J., Shaemaker W. G., Steenburg R. W., Ball M. R. and Belko J. S. Transp. Bull. 1959, 6, 103.
11. Moore F. D., Wheeler H. B., Demissanos H. V., Smith L. L., Boloncuro O., Abel K., Greenberg J. B., Damlin F. H. Ann. Surg., 152, 3, 1960.
12. Rof-fucell F. H. Surgery, 33, 342, 1953.
13. Starzl, T. E. PH. D. M. F. G. Marchioro, M. D. D. F. Rowlands, J. R. M. D. C. H. Kirkpatrick, M. D. W. E. G. Waddell Ann. Surg., 160, 3, 1964.