

Государственное ведущее высшее учебное учреждение
«Белорусский государственный медицинский университет»

УДК 616.152.21:616.136.41-089.27:616.36

**ХОДОСОВСКИЙ
МИХАИЛ НИКОЛАЕВИЧ**

**РОЛЬ КИСЛОРОДЗАВИСИМЫХ ПРОЦЕССОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ
РЕПЕРФУЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ**

14.00.16 – Патологическая физиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Минск 2003

Работа выполнена в Гродненском государственном медицинском университете

Научный руководитель -

доктор медицинских наук, заведующий кафедрой нормальной физиологии Гродненского государственного медицинского университета
Зиничук Виктор Владимирович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, главный научный сотрудник Научно-исследовательского института неврологии и пейрохирургии
Нечипуренко Наталия Ивановна

доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии Белорусского государственного медицинского университета
Переверзев Владимир Алексеевич

Оппонирующая организация -

Витебский государственный медицинский университет

Защита состоится «13» июня 2003 г. в 14³⁰ часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.09 при Белорусском государственном медицинском университете (220116, г. Минск, просп. Дзержинского, 83; тел. 272-55-98).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Белорусского государственного медицинского университета

Автореферат разослан «12» мая 2003 года

Учёный секретарь
совета по защите диссертаций
кандидат медицинских наук, доцент

А.И. Герасимович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Изучение патогенетических механизмов повреждений, возникающих при реперфузии органов, является актуальной задачей современной медицины. Знание закономерностей развития реперфузионных повреждений необходимо для таких областей медицины как общая и сосудистая хирургия, травматология, трансплантология, кардиология и др. Ишемия-реперфузия печени часто встречается в клинической практике при травмах, резекциях, трансплантации этого органа, геморрагическом шоке с последующим возмещением кровопотери [Тэйлор Б.С. и др., 1998; Lentsch et al., 2000; Man K. et al., 2003]. Механизмы нарушений в печени, близкие по патогенезу к реоксигенационным, могут наблюдаться при турникетном шоке [Vega V.L. et al., 1998]. Кроме этого феномен ишемии-реперфузии печени может привести к повреждению и дисфункции других органов [Nielsen V.G. et al., 1996; 1997; Weinbaum A.A. et al., 1999, 2001; Gologorsky E. et al., 2001].

Важной причиной развития реперфузионных повреждений считается усиление процессов радикалообразования, нарушение баланса между генерацией активных форм кислорода и факторами антиоксидантной защиты, т.е. прооксидантно-антиоксидантного состояния. Возникающий в процессе ишемии и последующей реперфузии дисбаланс между потребностью ткани в кислороде и его доставкой создаёт условия для усиленного образования свободных радикалов и активации процессов перекисного окисления липидов, ведущих, в конечном счёте, к повреждению клеточных и субклеточных мембранных структур [Nguyen W.D. et al., 1999; Нечипуренко Н.И. и др., 2001]. Для индукции свободнорадикальных процессов в постишемическом периоде в печени возникает ряд условий: увеличение «утечки» электронов в дыхательной цепи митохондрий, поступление O_2 и его участие в реакции гипоксантин-ксантиноксидазы, миграция нейтрофилов и «респираторный взрыв» в них и т.д. [Биленко М.В., 1989; Nunes F.A. et al., 1995; Liu P. et al., 2000]. Повреждения тканей при ишемии-реперфузии печени могут быть обусловлены как прямым токсическим действием свободных радикалов на белки, ДНК, липиды, так и непрямым – через активацию провоспалительных генов, индукцию апоптоза и др. [Hensley K. et al., 2000; Matsui N. et al., 2000; Rudiger H.A. et al., 2002].

Известно, что генерация свободных радикалов кислорода может быть пропорциональна изменению pO_2 , причем наиболее сильная зависимость отмечается при низких значениях pO_2 (от 0 до 74-76 мм рт.ст.) [Dirks R.C. et al. 1982]. При таком pO_2 функционирует большинство клеток в организме. Нарушения механизмов транспорта кислорода в ткани при реперфузии способствуют усилению повреждений, вызываемых свободными радикалами [Kaneda T. et al. 2001; Zinchuk V.V. et al., 2002a]. Однако имеющиеся сведения об эффективности коррекции реперфузионных повреждений с помощью изменения кислородного режима противоречивы. Показано, что предварительная гипероксия

ослабляет ишемические и реперфузионные повреждения печени и сердца [Chen M.F. et al. 1998; Tahep et al. 2001]. Вместе с тем установлено, что гипероксия при реперфузии может усугублять повреждения печени, почек и сердца [Matsumoto F. et al. 1997; Zwemer et al. 2000; Kaneda T. et al. 2001]. Эритроциты являются важным компонентом антиоксидантной системы крови, так как содержат ряд внутриклеточных ферментов (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза). Особое место в антиоксидантной системе организма занимают кислородсвязывающие свойства крови, определяющие условия диффузии кислорода в ткани и величину тканевого pO_2 [Борисюк М.В., 1989; Скулачев В.П., 1995, 1999; Zinchuk V. et al., 1998; Zinchuk V.V. et al., 2002a]. Роль кислородтранспортной функции крови и, в частности, изменение сродства гемоглобина к кислороду в патогенезе реперфузионных повреждений печени ранее не изучалась. Результаты единичных исследований, в которых проводили целенаправленное уменьшение сродства гемоглобина к кислороду при реперфузии головного мозга и сердца [Grocott H.P. et al. 1998; Pagel P.S. et al. 1998], находятся в противоречии с данными об отрицательном влиянии гипероксии при реоксигенации мозга, печени, сердца и почек [Mickel H.S., 1990; Matsumoto F. et al., 1997; Zwemer C.F. et al., 2000; Kaneda T. et al., 2001], что не позволяет раскрыть значение кислородтранспортной функции крови в патогенезе реперфузионных повреждений органов.

Среди различных свободных радикалов в последнее время большое внимание исследователей привлекают оксид азота (NO) и его активные формы [Hensley K. et al., 2000; Hon W.M. et al., 2002; Lhuillier F. et al., 2003]. Эта молекула, взаимодействуя с супероксидным анионом, может образовывать мощный окислитель – пероксинитрит, который считается рядом авторов ответственным за развитие повреждений в печени при реперфузии [Тейлор Б.С. и др., 1998; Isobe M. et al., 2000]. Вместе с тем, показан положительный эффект при ишемии-реперфузии печени L-аргинина, субстрата для синтеза NO в организме [Roth E., 1998; Rivera-Chavez F.A. et al., 2001], что указывает на неоднозначную роль оксида азота при данной патологии.

Таким образом, проведение исследований по изучению роли кислородтранспортной функции крови и L-аргинин-NO системы в патогенезе повреждений печени при ишемии-реперфузии внесет ясность в понимание общих механизмов развития повреждений органа при данной патологии, являясь новым направлением гепатологии.

Связь работы с крупными научными программами, темами. Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательских работ, проводимых в лаборатории по исследованию газотранспортной функции крови ЦНИЛ ГГМУ и на кафедре патологической физиологии ГГМУ по теме: «Разработка концепции дизоксических состояний» (№ гос. регистрации 19981302), которая являлась частью программы фундаментальных исследований МЗ РБ, а также по теме

«Экспериментальная разработка путей профилактики и терапии постишемического реперфузионного синдрома» (№ гос. регистрации 2001239).

Цель и задачи исследования. Целью данной работы является изучение роли кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени, обоснование возможности коррекции этих нарушений путем воздействия на режим кислородного обеспечения и L-аргинин-NO систему организма.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

1. Выявить характер изменений показателей кислородтранспортной функции крови (pO_2 , pCO_2 , pH , сродства гемоглобина к кислороду и др.) и степень моррофункциональных нарушений в печени при ишемии-реперфузии.
2. Определить уровень диеновых коньюгатов, оснований Шиффа, ретинола, α -токоферола и активности каталазы в тканях в реперфузионном периоде.
3. Изучить влияние различных газовых смесей (гипо-, гипероксических и гиперкалийческих) на кислородсвязывающие свойства крови и моррофункциональное состояние печени при реоксигенации.
4. Оценить влияние различных режимов кислородного обеспечения на перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему крови и печени в постишемической стадии.
5. Исследовать влияние L-аргинин-NO системы на прооксидантно-антиоксидантное и моррофункциональное состояние печени в условиях ишемии-реперфузии.
6. Провести сравнительный анализ выявленных изменений показателей кислородсвязывающих свойств крови и прооксидантно-антиоксидантного баланса в условиях коррекции кислородного обеспечения и L-аргинин-NO системы в реперфузионном периоде.

Объект и предмет исследования. Объект исследования - взрослые кролики самцы, печень, кровь (эритроцитарная масса, плазма). Предмет исследования – кислородтранспортная функция крови, процессы перекисного окисления липидов, антиоксидантная система, морфологическое и функциональное состояние печени.

Гипотеза. Нарушения кислородтранспортной функции крови при ишемии-реперфузии печени способствуют усилинию генерации свободнорадикальных форм кислорода, что приводит к росту активности процессов перекисного окисления липидов, истощению факторов антиоксидантной защиты организма. Целенаправленные воздействия на кислородзависимые процессы, а также на L-аргинин-NO систему могут влиять на степень тяжести реоксигенационных повреждений органа.

Методология и методы проведенного исследования. В работе использованы экспериментальные модели ишемии-реперфузии печени, гипоксии, ги-

перкапнии, гипероксии, а также применялись современные спектрофотометрические, флюориметрические, морфологические, физиологические, биохимические и фармакологические методы исследования.

Ишемию-реперфузию печени создавали временным наложением лигатуры на *a. hepatica propria*. Изменение кислородного снабжения у кроликов в реперфузионном периоде проводили с помощью ингаляции гипоксической, гипероксической или гиперкапнической газовыми смесями. Для изучения роли L-аргинин-NO системы в патогенезе реперфузионных повреждений печени использовали L-аргинин и ингибитор NO-синтазы.

При проведении опытов изучали в динамике изменения показателей кислородтранспортной функции крови (сродства гемоглобина к кислороду, pCO_2 , pO_2 , pH, HCO_3^- и др.), перекисного окисления липидов (диеновые коньюгаты и основания Шиффа) и факторов антиоксидантной системы (ретинол, α -токоферол, активность каталазы) в крови и гомогенате печени. О степени повреждения печени судили по общей морфологической картине органа и по активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы в плазме крови.

Научная новизна и значимость полученных результатов. Впервые проведено комплексное изучение кислородтранспортной функции крови при ишемии-реперфузии печени во взаимосвязи с активностью процессов перекисного окисления липидов и состоянием антиоксидантной системы. Впервые оценена роль кислородсвязывающих свойств крови в патогенезе реперфузионных повреждений печени. Показано уменьшение сродства гемоглобина к кислороду крови, возникающее при ишемии, которое сохраняется в реперфузионном периоде. Выявленные особенности кислородтранспортной функции крови сопровождаются усилением свободнорадикальных процессов в печени и крови, что проявляется существенными нарушениями прооксидантно-антиоксидантного состояния. Накопление продуктов перекисного окисления липидов и истощение факторов антиоксидантной системы при ишемии-реперфузии в печени способствуют развитию повреждений органа, о чём свидетельствуют повышение активности трансамина в плазме крови и развитие гидропической «баллонной» дистрофии гепатоцитов. Различные по составу газовые смеси через изменение кислородтранспортной функции крови влияют на тяжесть реперфузионных повреждений печени. Получены новые данные о том, что создание гипоксии, гипероксии и гиперкапнии у кроликов приводит в реперфузионном периоде к уменьшению сродства гемоглобина к кислороду крови. Данные изменения кислородсвязывающих свойств крови были наиболее выраженным в гиперкапнической группе, а наименее – в гипоксической. Во всех группах, за исключением гипоксической, уменьшение сродства гемоглобина к кислороду сопровождается увеличением в крови и гомогенате печени продуктов перекисного окисления липидов, с одновременным снижением содержания α -токоферола и ретинола, т.е. сдвигу прооксидантно-

антиоксидантного состояния в сторону радикалообразования с последующим повреждением печени (баллонная дистрофия гепатоцитов, повышение активности трансаминаз крови). Создание умеренной гипоксии в реперфузионном периоде приводит к уменьшению повреждений печени при данной патологии и сопровождается более сбалансированным состоянием механизмов продукции и инактивации активных форм кислорода, что в определенной степени реализуется через изменение сродства гемоглобина к кислороду.

Получены новые экспериментальные данные об участии L-аргинин-NO системы в патогенезе повреждений печени при реоксигенации. Выявлено, что инфузия L-аргинина уменьшает нарушения прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжесть реперфузионных повреждений печени; ингибирование NO-синтазы таким эффектом не обладает.

Практическая значимость полученных результатов. Полученные новые данные об изменении кислородтранспортной функции крови и, в частности, уменьшение сродства гемоглобина к кислороду при ишемии-реперфузии печени, а также данные о влиянии различных газовых смесей и L-аргинин-NO системы на тяжесть развивающихся при этом нарушений расширяют и углубляют существующие представления о роли кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени.

Материалы исследований указывают на важную роль механизмов транспорта кислорода кровью в патогенезе постишемических повреждений печени. Результаты экспериментальных исследований могут быть использованы в хирургической практике для ослабления степени тяжести развивающихся поражений печени при ишемии-реперфузии. Полученные экспериментальные данные об участии L-аргинин-NO системы в патогенезе реперфузионных повреждений печени позволяют теоретически обосновать новые способы коррекции этих повреждений путем инфузий L-аргинина.

Основные результаты работы и выводы, сделанные на их основе, используются в учебном процессе на кафедрах патологической физиологии Белорусского, Витебского и Гродненского медицинских университетов, на кафедре биохимии Гродненского университета им. Я. Купалы, при проведении научных исследований в лаборатории экспериментальной гепатологии Института биохимии НАН РБ.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. При ишемии-реперфузии развиваются существенные нарушения кислородтранспортной функции крови, проявляющиеся в развитии смешанного ацидоза, уменьшении сродства гемоглобина к кислороду. Одновременно активируются процессы перекисного окисления липидов, снижается уровень антиоксидантной защиты, что, в конечном сче-

те, приводит к тяжелым нарушениям в печени в реперфузионном периоде.

2. Коррекция кислородного обеспечения организма с помощью газовых смесей при ишемии-реперфузии влияет на тяжесть повреждений печени. Гипероксия и гиперкарбния в реперфузионном периоде нарушают прооксидантно-антиоксидантный баланс и усиливают повреждения. Создание умеренной гипоксии в реперфузионном периоде сопровождается менее выраженным сдвигом кривой диссоциации оксигемоглобина вправо и приводит к уменьшению повреждений печени при данной патологии.
3. L-аргинин-NO система принимает важное участие в патогенезе реперфузионных повреждений печени. Инфузия L-аргинина сопровождается уменьшением нарушений прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжести реперфузионных повреждений печени, а ингибирование NO-синтазы приводит к увеличению активности свободнорадикальных процессов и к усилению их повреждающего действия на орган при реперфузии.

Личный вклад соискателя. Автор принимал непосредственное участие в выполнении работы по всем разделам диссертации, включая разработку модели ишемии-реперфузии печени, организацию и проведение экспериментов, физиологических, биохимических, спектрофотометрических и флюориметрических исследований, статистическую обработку полученных данных, обобщение и анализ результатов работы. Экспериментальная часть работы выполнена на базе лаборатории по исследованию газотранспортной функции крови ЦНИЛ ГГМУ (д.м.н. – В.В.Зинчук) и на базе кафедры патологической физиологии (зав. каф., проф., д.м.н. Маслаков Д.А.), морфологическая часть исследований выполнена на базе лаборатории морфофункционального анализа ЦНИЛ ГГМУ (к.б.н. – Р.Е. Лис).

Апробация результатов диссертации. Основные результаты исследований, включенные в диссертацию, представлялись в виде докладов и обсуждены на: Международной конференции студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины-99» (Минск, 1999); Республиканской конференции студентов и молодых ученых «Теоретические и практические вопросы медицины и фармации» (Витебск, 2000); V Республиканской научной конференции студентов, аспирантов и магистрантов «НИРС-2000» (Гродно, 2000); Международных симпозиумах «Актуальные вопросы гепатологии» (Гродно, 2000, 2002); Международной конференции «Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза» (Гродно, 2000); Международной конференции молодых ученых и студентов «Молодые ученые – медицине XXI века» (Гродно, 2001); International medical students scientific conference (Bialystok, 2001); II Международной конференции “Аминокислоты и их производные в

биологии и медицине" (Гродно, 2001); II Международной научно-практической конференции «Дисфункция эндотелия: экспериментальные и клинические исследования» (Витебск, 2002).

Опубликованность результатов. По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ: из них 2 статьи в журналах, 6 статей в сборниках, 7 тезисов докладов на международных и республиканских съездах, симпозиумах, конференциях. Общее количество опубликованных материалов составляет 40 страниц.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 164 страницах машинописного текста и состоит из введения, общей характеристики работы, обзора литературы, описания материала и методов исследований, 3-х глав собственных исследований, главы анализа и обобщения результатов исследования, заключения, списка использованных источников, приложения. В работе содержится 37 рисунков и 43 таблицы. Список литературы включает 312 источников (74 на русском и 238 на иностранном языках).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Эксперименты выполнены на взрослых лабораторных кроликах-самцах массой 3,5-4,5 кг. Анестезия поддерживалась внутривенной инфузией калипсола (1,5 мг/кг/мин). Катетеризировали одну из печеночных вен для забора печеночной венозной крови, правое предсердие - для получения смешанной венозной крови. Ишемию печени создавали путем наложения лигатуры на *a. hepatica propria* в течение 30 минут [Kurokawa T. et al., 1995; Kohli V. et al., 1999]. Реперфузионный период длился в течение 120 минут. Забор образцов крови для оценки показателей кислородтранспортной функции (КТФ) крови, перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной системы (АС) осуществляли до и после ишемии, на 30-й и 120-й минутах реперфузии. В конце реперфузии брали образцы печени для исследования морфологической картины органа и оценки прооксидантно-антиоксидантного баланса. В качестве контроля использовали ткань печени, взятую у животных до выполнения ишемии ($n=6$) и непосредственно после неё ($n=5$).

Изменение кислородного снабжения организма в реперфузионном периоде у кроликов моделировали путем ингаляции газовых смесей различного состава, которую начинали за 5 минут до конца ишемического периода и проводили в течение 1-го часа реперфузии. Гипоксию ($n=6$) моделировали с помощью газовой смеси с 14,8% O_2 и 85,2% N_2 , гипероксию ($n=7$) создавали ингаляцией газовой смеси с 78% O_2 , 20,2% N_2 и 1,8% CO_2 , гиперкарнию ($n=4$) производили с помощью 5% смеси CO_2 в воздухе. Для исследования роли L-аргинин-NO системы при ишемии-реперфузии печени проводили внутривен-

ную инфузию неселективного ингибитора NO-синтазы - N^G-нитро-L-аргинина (L-NNA, "Sigma", Chemical, St.Lois, США) в дозе 15 мг/кг (n=7), а также исходного субстрата для данной системы - L-аргинина (Институт биоорганической химии НАН РБ) в дозе 300 мг/кг (n=8).

Степень повреждения печени оценивали по общей морфологической картине органа и по активности аланинаминотрансферазы (АлАТ) и аспартатаминотрансферазы (АсАТ) в плазме крови. Для изучения общей морфологической картины печени использовали препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, которые микроскопировали в световом микроскопе при увеличении объектива в 10 раз [Меркулов Г.А., 1961]. Снимки печени проводили с помощью системы компьютерного анализа изображения "Bioscan NT". Определение активности АлАТ и АсАТ, отражающих нарушение целостности мембран гепатоцитов, в плазме крови производили колориметрическим динитрофенилгидразиновым методом [Reitman S. et al., 1957].

Оценку показателей КТФ: рO₂, рCO₂, pH крови, действительный избыток оснований (АВЕ), концентрацию гидрокарбоната (HCO₃⁻), концентрацию общей углекислоты (TCO₂), стандартный дефицит буферных оснований (SBE), концентрацию стандартного бикарбоната (SBC) производили на микрогазоанализаторе ABL-330 "Radiometer". Содержание гемоглобина к кислороду (СГК) определяли по показателю p50 (рO₂ крови, соответствующее 50% насыщению ее кислородом) методом "смешивания" в модификации [Борисюк М.В. и др., 1991]. p50_{станд} измеряли при стандартных условиях (pH = 7,4; рCO₂ = 40 мм рт. ст. и T = 37 °C), а p50_{реал} - рассчитывали для реальных значений этих факторов. На основании полученных значений p50 по уравнению Хилла высчитывали положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО).

Оценивались следующие показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния: диеновые коньюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ), ретинол, α-токоферол и активность каталазы. Содержание ДК в биологическом материале определяли методом ультрафиолетовой спектрофотометрии при длине волны 233 нм, типичной для коньюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [Гаврилов В.Б. и др., 1988]. Уровень ОШ определяли по интенсивности флюoresценции хлороформного экстракта при длинах волн возбуждения и эмиссии 344 нм и 440 нм, соответственно [Fletcher et al. 1973], на спектрофлюориметре F-4010 фирмы "Hitachi". Содержание α-токоферола оценивали по интенсивности флюoresценции гексанового экстракта [Черняускене Р.Ч. и др., 1984] на спектрофлюориметре "F-4010" фирмы "Hitachi". Уровень ретинола также определяли флюoresцентным методом [Черняускене Р.Ч. и др., 1984] на спектрофлюориметре "F-4010" фирмы "Hitachi". В качестве стандарта использовались α-токоферол и ретинол фирмы "Sigma". Каталазная активность в биологическом материале оценивалась по методу [Королюк М.А. и др., 1988] на спектрофотометре "СФ-46". Количество белка определяли по Лоури [Lowry et al. 1951].

Все полученные данные обработаны общепринятым методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты исследования

Проведенные исследования показали, что у кроликов на протяжении ишемии-реперфузии печени наблюдалось уменьшение значений показателей pH, АВЕ, HCO_3^- , TCO_2 , SBE, SBC обоих образцов крови, наиболее выраженное в конце реперфузионного периода. В конце ишемии наблюдался сдвиг КДО вправо (увеличение $p_{50\text{real}}$ на 11,3% ($p<0,05$) в печеночной, и на 11,8% ($p<0,05$) в смешанной венозной крови). После восстановления артериального кровотока в органе правосторонний сдвиг КДО сохранялся и к 120-й минуте реперфузии показатель $p_{50\text{real}}$ печеночной и смешанной венозной крови увеличился на 24,7% ($p<0,001$) и 24,4% ($p<0,01$) соответственно (рис. 1).

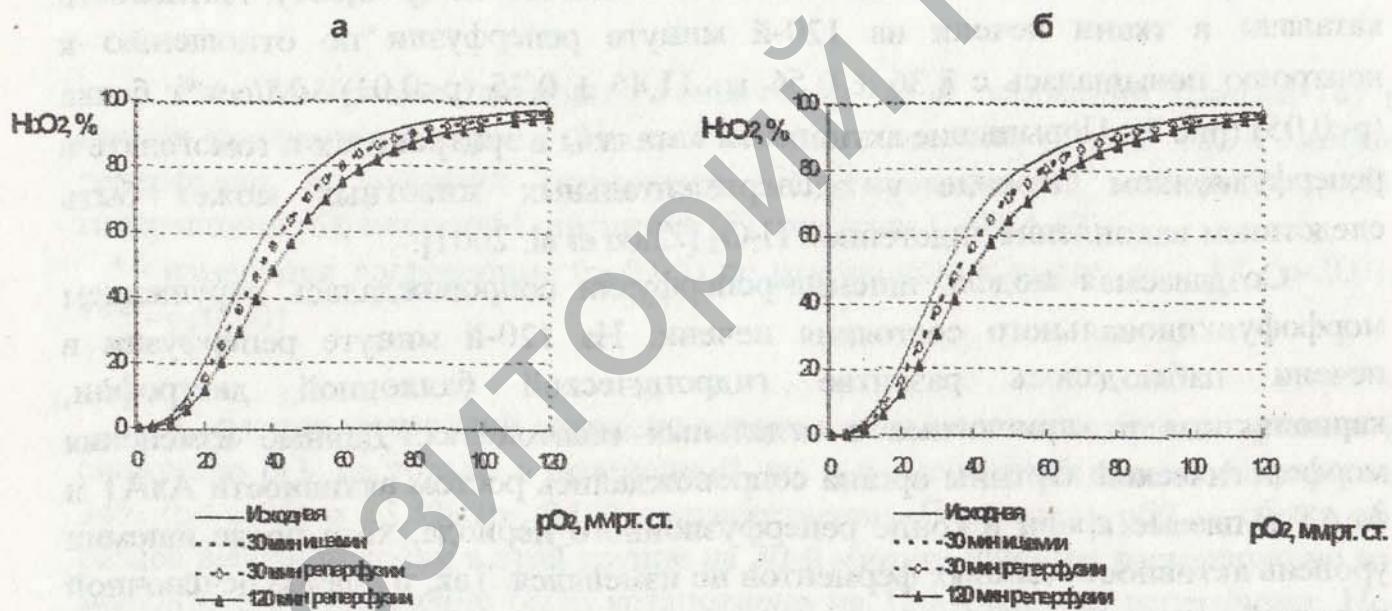


Рис. 1. Кривые диссоциации оксигемоглобина при реальных значениях pH, pCO_2 и температуры печеночной (а) и смешанной (б) венозной крови при ишемии-реперфузии печени у кроликов.

Данные изменения показателей КТФ крови при реперфузии сопровождались увеличением в крови и гомогенате печени продуктов ПОЛ с одновременным снижением концентрации α-токоферола и ретинола. Так, в плазме и эритроцитах крови, оттекающей от печени, уровень ДК после ишемии увеличился на 94,8% ($p<0,01$) и 156,6% ($p<0,01$) соответственно. 30 минут ишемии печени привели к повышению в её тканях уровня ДК с $4,97 \pm 0,54$ до $7,8 \pm 0,7 \Delta D_{233}/\text{Г}$

($p<0,01$). Одновременно отмечалось увеличение содержания ОШ в гомогенате печени (рис.2). Уровень показателей АС в тканях печени в этот период существенно не отличался от контрольной группы кроликов, тогда как в плазме печёночной и смешанной венозной крови содержание α -токоферола снизилось на 7,0% ($p<0,05$) и 12,7% ($p<0,01$) соответственно.

Уровень продуктов ПОЛ в крови и тканях печени на 120-й минуте реперфузии продолжал увеличиваться у опытных животных. Так в конце реперфузии в печёночной венозной крови уровень ДК был выше исходного в плазме на 267,2% ($p<0,001$), а в эритроцитах – на 304,4% ($p<0,001$) соответственно. В печени в этот период наблюдались схожие изменения в содержании ДК и ОШ (рис. 2).

В конце реперфузионного периода уровень α -токоферола снизился в плазме печёночной и смешанной венозной крови при нормоксии на 20,5% ($p<0,001$) и 24,6% ($p<0,001$) соответственно. В гомогенате печени кроликов к концу реперфузии установлено уменьшение по отношению к контролю уровня α -токоферола с $19,77 \pm 0,68$ до $12,2 \pm 0,22$ нМ/100 мг ($p<0,001$). Активность каталазы в ткани печени на 120-й минуте реперфузии по отношению к контролю повышалась с $8,36 \pm 0,56$ до $11,45 \pm 0,35$ ($p<0,01$) мМ/сек*г белка ($p<0,05$) (рис.3). Повышение активности каталазы в эритроцитах и гомогенате в реперфузионном периоде у экспериментальных животных может быть следствием накопления эндогенной H_2O_2 [Zhou et al. 2001].

Создаваемая модель ишемии-реперфузии сопровождалась нарушением морффункционального состояния печени. На 120-й минуте реперфузии в печени наблюдалось развитие гидропической баллонной дистрофии, кариопикноза и кариолизиса в отдельных гепатоцитах. Данные изменения морфологической картины органа сопровождались ростом активности АлАТ и АсАТ в плазме крови в конце реперфузионного периода, хотя после ишемии уровень активности данных ферментов не изменялся. Так, в плазме печёночной венозной крови по отношению к исходному уровню активность АлАТ и АсАТ к концу реперфузии увеличилась на 96,3% ($p<0,001$) и 93,2% ($p<0,001$) соответственно. В плазме смешанной венозной крови активность данных трансаминаз на 120-й минуте реперфузии повысилась на 161,3% ($p<0,001$) и 184,8% ($p<0,001$) соответственно. Повышение активности АлАТ и АсАТ в плазме крови указывает на нарушение целостности плазматической мембраны гепатоцитов при реперфузии.

Полученные данные свидетельствуют о том, что при реперфузии печени уменьшение СГК сопровождается выраженным ростом активности процессов ПОЛ и снижением содержания ряда антиоксидантов. Снижение СГК может быть одним из патогенетических звеньев повреждений печени при реперфузии.

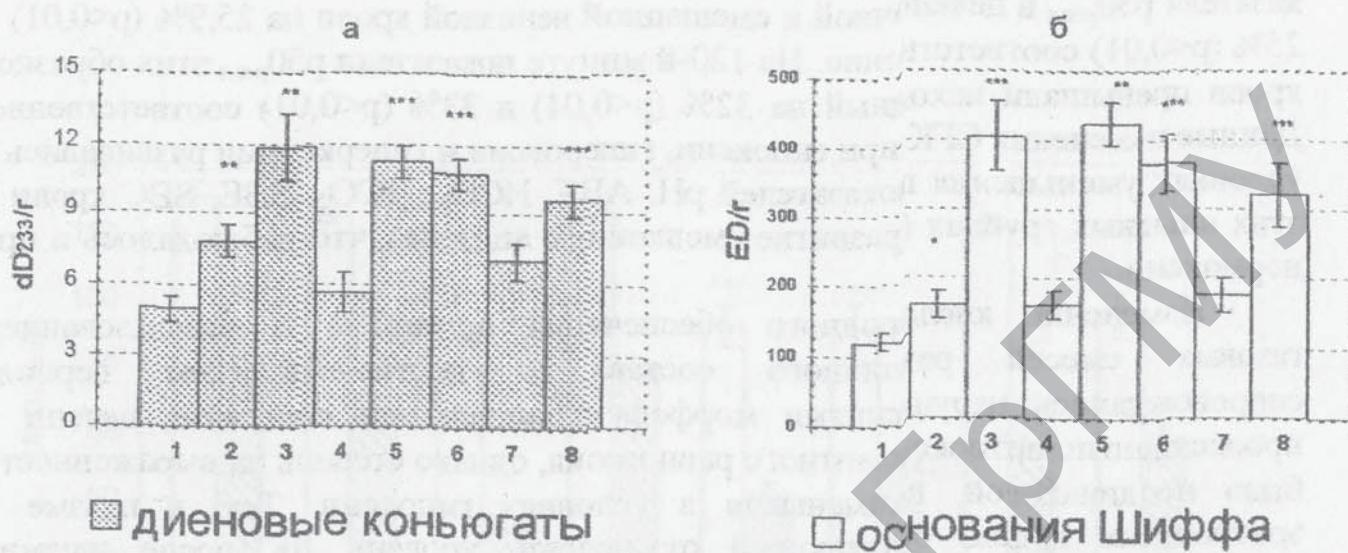


Рис. 2. Уровень диеновых коньюгатов (а) и оснований Шиффа (б) в печени кроликов: контроль (1); на 30 минуте ишемии (2); на 120-й минуте реперфузии в условиях нормоксии (3), гипоксии (4), гипероксии (5), гиперкарпнии (6), инфузии L-аргинина (7), инфузии L-NAME (8).

* - изменения достоверные ($p<0,05$) по отношению к контролю ; ** - $p<0,01$; *** - $p<0,001$

Создание умеренной гипоксии в конце ишемического периода привело к снижению pO_2 не только в печёночной, но и в смешанной венозной крови на 34% ($p<0,05$) и 23,3% ($p<0,05$) соответственно. Показатель $p50_{\text{реал}}$ обоих образцов венозной крови в этой группе на 30-й минуте ишемии достоверно не изменился, его увеличение было установлено на 120-й минуте реперфузии. Повышение уровня показателя $p50_{\text{реал}}$ в конце реперфузии у животных, получавших гипоксическую газовую смесь, характеризовалось менее значительными цифрами, чем у кроликов, которым не проводили изменение режима кислородного обеспечения в соответствующем периоде (в среднем меньше на 2,24 и 2,34 мм рт.ст. в печёночной и смешанной венозной крови соответственно). Ингаляция животным гипероксической газовой смеси в конце ишемического периода привела к повышению показателя pCO_2 в смешанной венозной крови на 24,2% ($p<0,05$). К концу реперфузионного периода pO_2 печёночной венозной крови снизилось на 30,6% ($p<0,05$). Гипероксия привела к уменьшению $p50_{\text{станд}}$ на 9,8% ($p<0,05$) в печёночной венозной крови на 30 минуте ишемии, однако, $p50_{\text{реал}}$ обоих образцов венозной крови в этот период достоверно увеличивались. Так, в печеночной венозной крови $p50_{\text{реал}}$ возрос на 11,2% ($p<0,05$), а в смешанной – на 13,8% ($p<0,001$). На 120-й минуте реперфузии показатели

$p50_{\text{реал}}$ обоих образцов венозной крови превышали исходные значения на 19,5% ($p<0,001$) и 21% ($p<0,001$) соответственно. Ингаляция гиперкапнической смеси перед началом реперфузии привело к увеличению на 30-й минуте ишемии показателя $p50_{\text{реал}}$ в печёночной и смешанной венозной крови на 25,9% ($p<0,01$) и 25% ($p<0,01$) соответственно. На 120-й минуте показатели $p50_{\text{реал}}$ этих образцов крови превышали исходный на 32% ($p<0,01$) и 33% ($p<0,01$) соответственно. Данные изменения СГК при гипоксии, гипероксии и гиперкапнии развивались в условиях уменьшения показателей pH, АВЕ, HCO_3^- , TCO_2 , SBE, SBC крови в этих опытных группах (развитие смешанного ацидоза), что наблюдалось и при нормоксии.

Изменение кислородного обеспечения организма с использованием газовых смесей различного состава в постишемическом периоде сопровождалось нарушениями морффункционального состояния печени и прооксидантно-антиоксидантного равновесия, однако степень их выраженности была неодинаковой, наименьшая в условиях гипоксии. Так, в плазме и эритроцитах крови, оттекающей от печени, уровень ДК после ишемии увеличился при гипоксии – на 161% ($p<0,001$) и 66,3% ($p<0,01$), гипероксии – на 88% ($p<0,05$) и 82,9% ($p<0,05$) и в гиперкапнии – на 66,9% ($p<0,05$) и 33,3% ($p<0,05$) соответственно. Уровень показателей АС в тканях печени на 30-й минуте ишемии существенно не отличался от контрольной группы кроликов, тогда как в плазме печёночной и смешанной венозной крови содержание α -токоферола снизилось на 12,5% ($p<0,01$) и 11,1% ($p>0,05$) при гипоксии, на 8,1% ($p<0,05$) и 6,8% ($p<0,05$) при гипероксии, на 5,5% ($p<0,05$) и 4,8% ($p<0,05$) при гиперкапнии, соответственно (рис. 3). На 120-й минуте реперфузии в печёночной венозной крови при гипероксии уровень ДК был выше исходного в плазме на 169,9% ($p<0,001$), а в эритроцитах – на 97,4% ($p<0,001$), при гиперкапнии – на 190,9% ($p<0,001$) и 104,5% ($p<0,01$) соответственно. В печени в этот период наблюдались схожие изменения в содержании ДК и ОЦН (см. рис. 2). У кроликов при гипоксии на 120-й минуте реперфузии в крови, а также в гомогенате печени содержание ДК не отличалось от исходных значений. В конце реперфузионного периода уровень α -токоферола упал в плазме печёночной и смешанной венозной крови при гипероксии на 17,4% ($p<0,001$) и 17,3% ($p<0,001$), при гиперкапнии – на 11% ($p<0,01$) и 11,4% ($p<0,01$) соответственно. В гомогенате печени при гипероксии и гиперкапнии, к концу реперфузии установлено уменьшение по отношению к контролю уровня α -токоферола с $19,77 \pm 0,68$ до $13,93 \pm 0,91$ ($p<0,001$), $13,69 \pm 1,19$ ($p<0,01$) нМ/100мг соответственно. У группы животных, получавших гипоксическую газовую смесь, в конце реперфузии наблюдалась лишь тенденция к снижению содержания α -токоферола в гомогенате (см. рис.3).

Активность каталазы в ткани печени на 120-й минуте реперфузии по отношению к контролю при гипоксии не изменялась ($9,1 \pm 0,26$ мМ/сек \cdot г белка ($p>0,05$)), а при гипероксии и гиперкапнии снижалась с $8,36 \pm 0,56$ до $5,11 \pm 0,49$ ($p<0,05$) и до $5,57 \pm 0,75$ ($p<0,05$) мМ/сек \cdot г белка, соответственно (см.

рис.3). Падение активности каталазы в ткани печени к концу реперфузионного периода при гипероксии и гиперкарпии свидетельствует о выраженному срыве прооксидантно-антиоксидантного баланса.

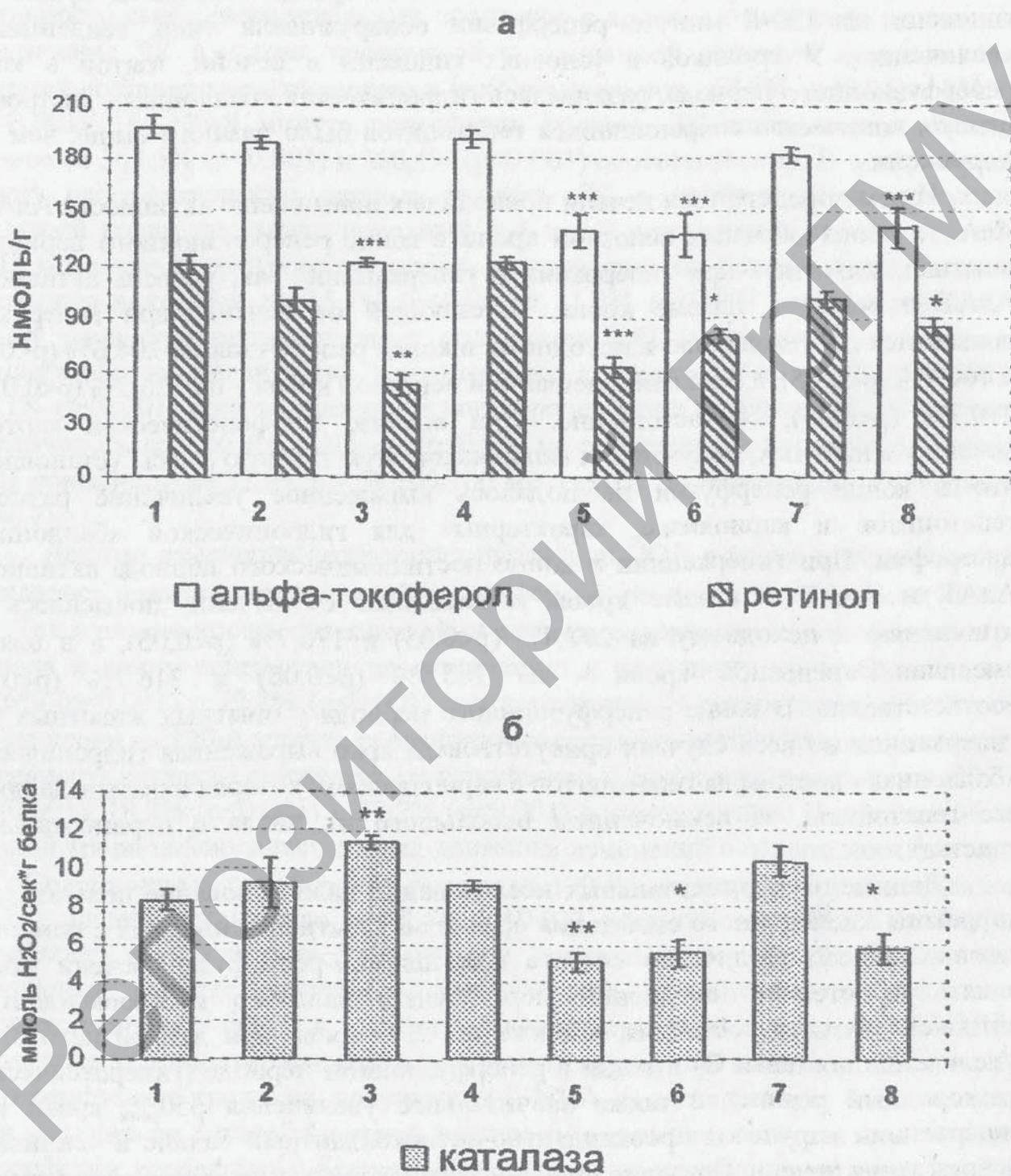


Рис. 3. Изменение показателей антиоксидантной системы в печени кроликов: альфа-токоферол, ретинол (а), активность каталазы (б), где 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, *, **, *** - то же, что и на рис. 2

В группе животных, получавших гипоксическую газовую смесь, на 120-й минуте реперфузии отмечалось увеличение уровня АлАТ только в печёночной венозной крови, однако, это увеличение было на 43,9% ($p<0,05$) меньше, чем у животных, которым не изменяли кислородный режим. Активность АлАТ смешанной венозной крови и AcAT обоих образцов венозной крови при гипоксии на 120-й минуте реперфузии обнаруживала лишь тенденцию к увеличению. У кроликов в условиях гипоксии в печени, взятой в конце реперфузионного периода, развивалась гидропическая «баллонная» дистрофия, однако, количество сохранившихся гепатоцитов было намного выше, чем при нормоксии.

Ишемия-реперфузия печени приводила к повышению активности АлАТ и AcAT в обоих образцах венозной крови в конце реперфузионного периода у опытных животных при гипероксии и гиперкапнии. Так, уровень активности АлАТ и AcAT в плазме крови, оттекающей от печени, при гипероксии повышался по отношению к исходному в конце реперфузии на 204,6% ($p<0,05$) и 160,1% ($p<0,05$), а в плазме смешанной венозной крови - на 126,5% ($p<0,05$) и 210,7% ($p<0,05$), соответственно. При анализе морфологической картины печени у животных, получавших гипероксическую газовую смесь, установлено, что в конце реперфузии наблюдалось выраженное увеличение размеров гепатоцитов и кариолизис, характерные для гидропической «баллонной» дистрофии. При гиперкапнии в конце постишемического периода активность АлАТ и AcAT в плазме крови, оттекающей от печени, повысилась по отношению к исходному на 207,4% ($p<0,05$) и 176,7% ($p<0,05$), а в плазме смешанной венозной крови - на 185,9% ($p<0,05$) и 316,7% ($p<0,05$) соответственно. В конце реперфузионного периода у опытных животных при гиперкапнии во всех случаях присутствовала ярко выраженная гидропическая «баллонная» дистрофия гепатоцитов с кариолизисом, которая охватывала почти все гепатоциты, за исключением небольшого их числа в перипортальных участках.

Данные экспериментальных исследований дали основание полагать, что коррекция кислородного снабжения организма опытных животных с помощью газовых смесей различного состава при ишемии-реперфузии печени может влиять на степень нарушений морффункционального и прооксидантно-антиокси-дантного состояния, а также на СГК крови при данной патологии. Увеличение доставки O_2 в ткани в реперфузионном периоде (гипероксический кислородный режим), а также значительное увеличения $p_{50\text{real}}$ крови при гиперкапнии нарушают прооксидантно-антиоксидантный баланс и усиливают повреждения печени. Создание умеренной гипоксии в реперфузионном периоде сопровождается меньшим сдвигом КДО вправо и способствует минимизации повреждений печени при данной патологии.

Учитывая противоречивость имеющихся литературных сведений относительно роли системы L-аргинин-NO в патогенезе реперфузионных повреждений печени [Тейлор Б.С. и др., 1998; Uhlmann D. et al., 1998; Isobe M. et al.,

2000; Hsu C.M. et al., 2002], нами изучено влияние внутривенной инфузии L-аргинина и L-NNA на морфофункциональное состояние печени и прооксидантно-антиоксидантное равновесие у кроликов при ишемии-реперфузии органа.

Проведенные исследования показали, что ингибиция NO-синтазы с помощью L-NNA при ишемии-реперфузии печени не приводило к ограничению активности свободнорадикальных процессов в крови и гомогенате органа. Так увеличение ДК в плазме печёночной и смешанной венозной крови в конце ишемии составило по отношению к исходному уровню 63,5% ($p<0,01$) и 191,1% ($p<0,001$). На 120-й минуте реперфузии уровень ДК плазмы этих образцов возрос на 363,5% ($p<0,001$) и 366,1% ($p<0,001$) соответственно. В эритроцитах к концу реперфузионного периода уровень ДК в печёночной и смешанной венозной крови превышал исходный в 3 и 2,9 раза соответственно. Уровень ОШ в плазме и эритроцитах крови, оттекающей от печени, после ишемии превышал исходный на 15,1% ($p<0,05$) и 31,5% ($p<0,001$) соответственно. К концу реперфузионного периода содержание ОШ в плазме и эритроцитах данного образца увеличилось по отношению к исходному на 61,9% ($p<0,001$) и 44,1% ($p<0,001$) соответственно. В конце реперфузии содержание ДК в печени увеличилось до $9,66 \pm 0,7 \Delta D_{233}/\text{г}$ ($p<0,001$ по отношению к контролю). Уровень ОШ повысился до $31,99 \pm 4,54 \text{ ED}/100 \text{ мг}$ ($p<0,01$ по отношению к контролю) (рис.2).

Данные изменения содержания продуктов ПОЛ в крови и печени сопровождались понижением уровней α -токоферола, ретинола и активности каталазы. Так в плазме крови, оттекающей от печени, содержание α -токоферола и ретинола к концу реперфузии по отношению к исходному уровню составили 81,6% ($p<0,001$) и 79,2% ($p<0,001$) соответственно. В эритроцитах данного образца крови на 120-й минуте реперфузии содержание α -токоферола, ретинола и активность каталазы снижались по отношению к исходному значению на 12,5% ($p<0,001$), 18,8% ($p<0,001$) и 32,7% ($p<0,001$) соответственно. В смешанной венозной крови наблюдалась схожая динамика изменений в содержании факторов АС. Содержание α -токоферола в печени на 120-й минуте реперфузии снизилось по отношению к контролю на 28,5% ($p<0,01$), ретинола – на 28,8% ($p<0,05$), а активность каталазы – на 30% ($p<0,05$), соответственно (рис.3). Выявленные изменения свидетельствуют о значительном нарушении прооксидантно-антиоксидантного баланса в крови и печени кроликов, получавших L-NNA. Снижение активности каталазы в эритроцитах крови и в печени на 120-й минуте реперфузии у кроликов, получавших L-NNA, свидетельствует о декомпенсации механизмов антиоксидантной защиты (у животных, которым при ишемии-реперфузии коррекцию L-аргинин-NO системы не проводили, активность фермента в печени повышалась (рис. 3)). Глубокие нарушения прооксидантно-антиоксидантного баланса у кроликов, получавших L-NNA, приводили к наиболее тяжелым среди всех опытных групп повреждениям печени в конце реперфузионного периода (развитие порогового некроза тканей органа). Ингибирование NO-синтазы в реперфузионном периоде способствовало развитию на-

рушений микроциркуляции, что отражалось на морфологической картине печени (случаи венозного застоя с гемолизом эритроцитов как внутриенно, так и внутри синусоидов). Повышение активности АлАТ и АсАТ в плазме обоих образцов крови в конце реперфузии указывало на нарушение целостности мембран гепатоцитов у кроликов данной группы.

Введение L-аргинина ослабляло выраженность нарушений прооксидантно-антиоксидантного баланса в крови и тканях печени кроликов при ишемии-реперфузии. На 30-й минуте ишемии в плазме печёночной венозной крови уровень ДК увеличился по отношению к исходному уровню на 52,4% ($p<0,05$), содержание α -токоферола снизилось на 5,2% ($p<0,05$), активность каталазы эритроцитов крови данного образца возросла на 18,7% ($p<0,01$). Содержание ДК и α -токоферола в эритроцитах, ОШ и ретинола в плазме и эритроцитах в конце ишемического периода не изменилось в отличие от кроликов, получавших L-NNA. В смешанной венозной крови в этот период наблюдалось повышение активности каталазы эритроцитов на 14,9% ($p<0,05$). Остальные показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса в конце ишемии не отличались от исходных значений. В конце реперфузионного периода отмечалось достоверное повышение содержания ОШ в плазме печёночной и смешанной венозной крови по отношению к исходному уровню на 18,8% ($p<0,01$) и 19,1% ($p<0,05$) соответственно. Содержание ДК в крови и уровень ОШ эритроцитов данных образцов в этот период по отношению к исходным значениям не изменился. К концу реперфузии в плазме печёночной и смешанной венозной крови содержание α -токоферола снизилось по отношению к исходному уровню на 7,3% ($p<0,05$) и 7,6% ($p<0,05$), а ретинола на 7,9% ($p<0,05$) и 8,4% ($p<0,05$) соответственно. Содержание α -токоферола и ретинола в эритроцитах обоих образцов крови группы, получавшей L-аргинин, на 120-й минуте реперфузии не отличались от исходных значений. На 120-й минуте реперфузии содержание ДК, ОШ и показателей АС в гомогенате печени у получавших L-аргинин животных отличалось от контрольной (рис.2 и 3). Активность АлАТ и АсАТ в плазме печёночной и смешанной венозной крови на протяжении ишемии-реперфузии в этой группе опытных животных достоверно не изменялась. При оценке общей морфологической картины установлено, что «баллонная» дистрофия и кариолизис встречается очагами и далеко не во всех случаях, гепатоциты имеют нормальный вид. Синусоиды несколько расширены, что может быть обусловлено вазодилатирующим эффектом NO. Сохранность паренхимы максимальная, по сравнению с остальными опытными группами.

Выявленные изменения КТФ крови, изменения прооксидантно-антиоксидантного и морффункционального состояния печени при ишемии-реперфузии в условиях коррекции кислородного обеспечения и L-аргинин-NO системы организма отражают участие исследуемых кислородзависимых механизмов в патогенезе реперфузионных повреждений органа. Путем целенаправленного воздействия на данные механизмы можно ослабить повреждающее действие реоксигенации на печень.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При ишемии-реперфузии печени наблюдаются существенные нарушения кислородтранспортной функции крови, проявляющиеся в развитии смешанного ацидоза, уменьшении сродства гемоглобина к кислороду, что способствует возникновению реоксигенационных повреждений органа [7, 8, 9, 11, 12, 13].
2. При реперфузии печени наблюдается активация процессов перекисного окисления липидов, снижение уровня ряда антиоксидантов, что свидетельствует о сдвиге прооксидантно-антиоксидантного состояния в сторону радикалообразования и способствует развитию тяжелых нарушений в органе в постишемическом периоде [1, 4, 7, 8, 10, 11, 12, 13].
3. Коррекция режима кислородного обеспечения организма при ишемии-реперфузии влияет на тяжесть реперфузионных повреждений печени. Умеренная гипоксия через механизмы, обеспечивающие оптимальное изменение кислородсвязывающих свойств крови в постишемическом периоде способствует улучшению прооксидантно-антиоксидантного и морффункционального состояния печени [2, 3, 5, 8, 15].
4. Гипероксия в реперфузионном периоде приводит к срыву компенсаторных возможностей механизмов поддержания прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжелым повреждениям органа при реперфузии. Гиперкапния при ишемии-реперфузии способствует усугублению ацидоза, значительному смещению КДО вправо, что приводит к сдвигу прооксидантно-антиоксидантного состояния в сторону радикалообразования и развитию тяжелых реперфузионных повреждений печени [5, 8, 15].
5. L-аргинин-NO система участвует в патогенезе реперфузионных повреждений печени: инфузия L-аргинина уменьшает нарушения прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжесть реперфузионных повреждений органа, ингибиция NO-синтазы приводит к увеличению активности свободнорадикальных процессов и срыву механизмов антиоксидантной защиты, а также к усугублению повреждений печени при данной патологии [6, 14].
6. Выявленные изменения кислородтранспортной функции крови, прооксидантно-антиоксидантного и морффункционального состояния печени при ишемии-реперфузии отражают кислородзависимый механизм патогенеза повреждений органа и предполагают, что путем целенаправленного воздействия на кислородное обеспечение и L-аргинин-NO систему можно ослабить повреждающее действие реоксигенации на печень [6, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15].

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи

1. Ходосовский М.Н. Антиоксидантный статус у кроликов при ишемии/реперфузии печени // В сб.: «Теоретические и практические вопросы медицины и фармации»: материалы конф. студентов и молодых ученых (Витебск, 6-7 апреля 2000 г.).- Витебск: ВГМУ, 2000.- С.32-33.
2. Ходосовский М.Н. Влияние гипоксической газовой смеси на антиоксидантный статус при реперфузии печени // В сб.: «Биологически активные соединения в регуляции метаболического гомеостаза»: материалы междунар. науч. конф. (Гродно, 28-29 сент. 2000 г.) / Под общ. ред. Л.И. Нефёдова. – Гродно: ГрГУ, 2000. – Ч. 2.- С. 263-267.
3. Ходосовский М.Н. Сродство гемоглобина к кислороду при ишемии/реперфузии печени в условиях дыхания гипоксической газовой смесью // В сб.: Актуальные вопросы медицины и новые технологии медицинского образования: материалы междунар. науч.-практ. конф., посв. 10-летию образования ГГМИ, (22-23 ноября 2000г., г.Гомель).- Мозырь, 2000.- Т. 2. - С. 282 – 285.
4. Ходосовский М.Н. Активность процессов перекисного окисления липидов при реперфузии печени// В сб.: «Молодые ученые – медицине XXI века»: материалы междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых и студентов (Гродно, 12-13 апреля 2001г.).- Гродно: ГГМУ, 2001.- Ч. 2.- С. 177–179.
5. Ходосовский М.Н. Влияние различных кислородных режимов на активность процессов перекисного окисления липидов при ишемии-реперфузии печени // В сб.: «Успехи современной медицины и биологии»: материалы научно-практической конференции молодых ученых и студентов ГГМУ (Гродно, 19 апреля 2002 г.).- Гродно, 2002.- С. 131-134.
6. Ходосовский М.Н., Маслаков Д.А. Эндотелийзависимые механизмы реперфузионных повреждений печени // В сб.: «Дисфункция эндотелия»: труды II международной науч.-практ. конф. (Витебск, 23-24 мая 2002 г.).- Витебск: ВГМУ, 2002.- С.139-142.
7. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н., Дремза И.К. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при реперфузии печени // Патол. физиология и эксперим. терапия.- 2002. - № 4.- С. 8-11.
8. Ходосовский М.Н., Лис Р.Е., Зинчук В.В. Морфофункциональное состояние при ишемии-реперфузии печени // Весні НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук.- 2003.- № 1.- С. 17-20.

Тезисы

9. Ходосовский М.Н. Сродство гемоглобина к кислороду у кроликов при ишемии реперфузии печени // В сб.: «Актуальные проблемы современной медицины – 99»: материалы междунар. науч. конф. молодых ученых и студентов (Минск, 14-16 мая 1999 г.) / Под ред. С.Л. Кабака, АС Леонюка.– Минск, 1999. –С.74.
- 10.Ходосовский М.Н., Зинчук В.В. Роль свободнорадикальных процессов в механизмах реперфузионных повреждений печени // В сб.: Актуальные вопросы гепатологии. Тез. докл. IV симпозиума гепатологов Беларуси (Гродно, 27-28 сент. 2000г.).– Гродно, 2000.– С. 171.
- 11.Зинчук В.В., Ходосовский М.Н., Дремза И.К. Оценка роли кислородтранспортной функции крови в механизмах развития реперфузионных повреждений // Достижения медицинской науки Беларуси.– Минск: БелЦНМИ, 2000.- Вып. 5.– С. 162.
- 12.Khodosovsky M.N. Oxygen transport, lipid peroxidation and ischemia/reperfusion liver injury // Abstracts of the medical students scientific conference (17 may).- Białystok, 2001.– P. 14.
- 13.Ходосовский М.Н. Участие кислородзависимых механизмов в развитии повреждений печени при реперфузии // Тез. докл. X-го съезда Белорусского общества физиологов (Минск, 3-4 сент. 2001 г.).– Минск: Бизнесофсет, 2001.– С.158 –159.
- 14.Ходосовский М.Н., Зинчук В.В., Маслаков Д.А. Положительный эффект L-аргинина на прооксидантно-антиоксидантный баланс при ишемии/реперфузии печени // В сб.: Аминокислоты и их производные в биологии и медицине: материалы II-й междунар. науч.конф. (Гродно, 10-12 октяб. 2001 г.) / Под ред. Л.И. Нефёдова– Гродно: ГрГУ, 2001. – С. 108-110.
- 15.Ходосовский М.Н., Зинчук В.В., Маслаков Д.А., Лис Р.Е. Влияние различных кислородных режимов на сродство гемоглобина к кислороду и прооксидантно-антиоксидантное состояние при ишемии-реперфузии печени // В сб.: Актуальные вопросы гепатологии. Тез. докл. V симпозиума гепатологов Беларуси (Гродно, 25-26 сент. 2002 г.).– Гродно, 2002. –С.32-33.



РЕЗЮМЕ

Ходосовский Михаил Николаевич

Роль кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени

Ключевые слова: кислород, свободные радикалы, реперфузия, гипоксия, гипероксия, гиперкарбия, L-аргинин, N^G -нитро-L-аргинин, печень

Объект исследования: кролики (53), печень, печёночная и смешанная венозная кровь (эритроцитарная масса, плазма).

Цель работы: изучение роли кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени, обоснование возможности коррекции этих нарушений путем воздействия на режим кислородного обеспечения и L-аргинин-NO систему организма.

Методы исследования: спектрофотометрические, флюориметрические, морфологические, физиологические, биохимические и фармакологические.

Использованная аппаратура: спектрофотометр (СФ-46), спектрофотометр "Solar" PV 1251 С, центрифуга (ОПН-3), флюоресцирующий спектрофотометр F-4010 "Hitachi", микрогазоанализатор ABL-330 "Radiometer", система компьютерного анализа изображения "Bioscan NT", автоматический дозатор «Lineomat».

При проведении исследований на кроликах установлено, что при реперфузии печени наблюдается уменьшение сродства гемоглобина к кислороду, которое сопровождается значительным увеличением активности процессов перекисного окисления липидов, снижением содержания ряда антиоксидантов в крови и печени, повышением активности аланинаминотрасферазы и аспартатаминотрансферазы в плазме крови, а также развитием гидропической «баллонной» дистрофии гепатоцитов на 120-й минуте реперфузионного периода. Ингаляция животных гипоксической газовой смесью в постишемическом периоде способствовала менее значимому сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина вправо, минимизации нарушений прооксидантно-антиоксидантного равновесия и морфофункционального состояния печени. Гипероксия и гиперкарбия в реперфузионном периоде приводят к срыву компенсаторных возможностей механизмов поддержания прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжелым повреждениям органа при реперфузии. Установлено, что L-аргинин-NO система участвует в патогенезе реперфузионных повреждений печени: инфузия L-аргинина уменьшает нарушения прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжесть реперфузионных повреждений органа, ингибирование NO-синтазы приводит к увеличению активности свободнорадикальных процессов и срыву механизмов антиоксидантной защиты, а также к усугублению повреждений печени при данной патологии.

Область применения: научно-исследовательские лаборатории, теоретический курс патологической физиологии и биохимии в вузах медико-биологического профиля.

РЭЗЮМЭ

Хадасоўскі Міхail Мікалаевіч

Роля кіслародзалежных працэсаў у патагенэзе рэперфузійных пашкоджанняў пячонкі

Ключавыя слова: кісларод, свабодныя радыкалы, рэперфузія, гіпаксія, гіпераксія, гіперкарнія, L-аргінін, N^G-нітра-L-аргінін, пячонка.

Аб'ект даследвания: трусы (53), пячонка, пячоначная і змешаная вянозная кроў (плазма і эрытрактыты).

Мэта працы: вывучэнне ролі кіслародзалежных працэсаў у патагенэзе рэперфузійных пашкоджанняў пячонкі, аргументаванне магчымасці выпраўлення гэтых парушэнняў шляхам уздзеяння на рэжым кіслароднага забесплечэння і L-аргінін-NO сістэму.

Методы даследвания: спектрафлюарыметрычныя, фізіялагічныя, марфалагічныя, біяхімічныя, фармакалагічныя.

Выкарыстаная апаратура: спектрафатометр (СФ-46), спектрафатометр "Solar" PV 1251 C, цэнтрыфуга (ОПН-3), спектрафлюарыметр F-4010 "Hitachi", мікрагазааналізатор ABL-330 "Radiometer", сістэма камп'ютэрзыаванага аналізу адлюстрывання "Bioscan NT", аўтаматычны дазатар «Lineomat».

Пры правядзенні доследаў на трусах устаноўлена, што пры рэперфузіі пячонкі назіраецца зніжэнне роднасці гемаглабіна да кіслароду, якое супраджаецца значным павелічэннем актыўнасці працэсаў перакіснага акіслення ліпідаў, зніжэнне зместу шэрага антыаксідантаў у крыві і пячонцы, павышэнне актыўнасці аланинамінатрансферазы і аспартатамінатрансферазы ў плазме крыві, а таксама развіцце гідрапічнай "балоннай" дыстрафіі гепатацитаў на 120-й хвіліне рэперфузійнага пярыяды. Інгаляванне жывёлам гіпаксічнай газавай сумесі ў іасляшэмічным пярыядзе судзейнічала менее значнаму зрушу крываі дысацыяцыі оксігемаглабіна ўправа, мінімізацыі парушэнняў прааксідантина-антыхаксідантнай раўнавагі і морфафункциянальнага стану пячонкі. Гіпераксія і гіперкарнія прыводзяць да зрыву кампенсацыйных магчымасцяў механізмаў падтрымлівання прааксідантина-антыхаксідантнага стану і цяжкім пашкоджанням органа пры рэперфузіі. Устаноўлена, што L-аргінін-NO сістэма прымае ўдзел у патагенэзе рэперфузійных пашкоджанняў пячонкі: інфузія L-аргініну памяньшае парушэнні прааксідантина-антыхаксідантнага стану і цяжкасць рэперфузійных пашкоджанняў органа, інгібіраванне NO-сінтазы прыводзіць да павелічэння актыўнасці свабоднарадыкальных працэсаў і зрыву механізмаў антыаксідантнай абароны, а таксама да паглыблення пашкоджанняў пячонкі пры гэтай паталогії.

Галіна прымянення: навукова-даследчыя лабараторыі, тэарэтычны курс па паталагічнай фізіялогіі і біяхіміі ў ВНУ медыка-біялагічнага профілю.

SUMMARY

Khodosovsky Michail Mikalaevich

The role of oxygen-dependent processes in the pathogenesis of reperfusion hepatic injury

Keywords: oxygen, free radicals, reperfusion, hypoxia, hyperoxia, hypercapnia, L-arginine, N_ω-nitro-L-arginine, liver.

Study objects: rabbits ($n = 53$), liver, hepatic and mixed venous blood (red blood cells, plasma).

Aim of research: investigation of the oxygen-dependent process role in the pathogenesis of reperfusion hepatic injury and of possibilities to correct such injury with oxygen delivery mode and body L-arginine-NO system as the therapeutic targets.

Methods: spectrophotometric, fluorometric, morphologic, physiologic, biochemical and pharmacological investigation tools.

Devices used: spectrophotometer SF-46, spectrophotometer "Solar" PV 1251 C, centrifuge OPN-3, fluorospectrophotometer F-4010 "Hitachi", micro gas analyzer ABL-330 "Radiometer", image analyse system "Bioscan NT", autodizer "Lineomat".

Experiments in rabbits had shown, that the hepatic reperfusion was accompanied by the lower hemoglobin-oxygen affinity associated with a prominent enhancement of the lipid peroxidation processes, lower blood and hepatic contents of the several antioxidants, higher plasma activities of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase, and development of the hepatocyte hydropic 'balloon' dystrophy after 120 min of reperfusion. Inhalation of the hypoxic gas mixture during the post-ischemic period resulted in the less considerable oxyhemoglobin dissociation curve shift rightwards, minimization of the prooxidant-antioxidant balance disturbances and of the hepatic morpho-functional state. Hyperoxia and hypercapnia during the reperfusion resulted in a failure of the compensatory mechanisms for prooxidant-antioxidant homeostasis and in the severe organ damage. L-arginine-NO system was proven to be involved in the pathogenesis of reperfusion hepatic injury: infusion of L-arginine reduced the prooxidant-antioxidant imbalances and the severity of the injury, and NO synthase inhibition led to more active free radical processes and aggravated the hepatic injury.

Field of application: scientific investigation labs, theoretical course of the pathophysiology and biochemistry in the higher biomedical schools.