

УДК 616.36-005.4:612.015.6

ИЗМЕНЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ У КРЫС В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ 1-МЕТИЛНИКОТИНАМИДА

М.Н. ХОДОСОВСКИЙ, к.м.н., доцент; В.В. ЗИНЧУК, д.м.н., профессор

Кафедра нормальной физиологии

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Изучено состояние параметров кислородтранспортной функции крови у крыс при ишемии-реперфузии печени в условиях введения 1-метилникотинамида. Установлено, что в крови экспериментальных животных после ишемии печени и в конце реперфузионного периода происходит существенное снижение сродства гемоглобина к кислороду. Показано, что у крыс, получавших 1-метилникотинамид, наблюдаются менее значимые изменения кислородсвязывающих свойств крови в конце реперфузионного периода, чем у животных, которые не получали препарат. Анализируются роль кислородтранспортной функции крови и возможные механизмы протективного влияния 1-метилникотинамида на печень при ишемии-реперфузии.

Ключевые слова: печень, ишемия, реперфузия, 1-метилникотинамид, крысы.

The blood oxygen transport parameters were investigated in rats during hepatic ischemia-reperfusion under 1-methylnicotinamide administration. It has been determined that hemoglobin oxygen affinity significantly decreased in experimental animals after ischemia and at the end of reperfusion. It has been shown that in rats under 1-methylnicotinamide administration blood oxygen-binding properties changed less at the end of reperfusion period than in animals that didn't receive the preparation. The role of blood oxygen transport function and possible mechanisms of 1-methylnicotinamide protective effect on the liver during ischemia-reperfusion are analyzed.

Key words: liver, ischemia, reperfusion, 1-methylnicotinamide, rats.

Введение

Повреждения печени после ишемии-реперфузии часто встречается в клинической практике при резекциях, трансплантации органа, а также при геморрагическом шоке с последующим возмещением кровопотери [1, 3, 10, 11]. В развитии реперфузионных повреждений печени важную роль играют активация процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), истощение факторов антиоксидантной защиты, нарушения микроциркуляции, иммиграция лейкоцитов в паренхиму органа, воспалительная реакция с последующим некрозом, активация проапоптотических ферментов (каспаз) и апоптоз [1, 4, 10, 11, 12]. Установлено, что состояние кислородтранспортной функции (КТФ) крови может влиять на тяжесть постишемических расстройств в печени, причем ключевую роль играет сродство гемоглобина к кислороду (СГК), как один из параметров многоуровневой системы антиоксидантной защиты организма [3, 4].

1-Метилникотинамид (1-МНА) является одним из главных метаболитов никотинамида в печени. В работе [9] показано, что данное соединение обладает противовоспалительными свойствами при дерматологических заболеваниях. Известно, что воспалительная реакция является одним из механизмов реперфузионного повреждения печени [10, 12]. Установлено, что при ишемии-реперфузии печени у крыс введение 1-МНА приводило к снижению содержания продуктов ПОЛ, меньшим нарушениям параметров антиоксидантной системы и показателей функционального состояния печени

[6]. Механизм данного эффекта остаётся неясным, так как прямых антиоксидантных свойств у 1-МНА не выявлено [9]. Возможно, 1-МНА обладает некоторыми вазоактивными свойствами, что может оказывать влияние на процессы микроциркуляции в постишемическом периоде [7]. Вместе с тем, система транспорта кислорода, задавая условия диффузии последнего в ткани, может выполнять роль одного из уровней антиоксидантной защиты организма, ограничивая активность свободнорадикальных процессов [3]. Цель исследования – изучить влияние 1-МНА на показатели КТФ крови у крыс при ишемии-реперфузии печени.

Материалы и методы

Работа выполнена на взрослых крысах-самцах Wistar массой 360-440 г, предварительно выдержанных в стандартных условиях вивария. Под комбинированным наркозом (тиопентал натрия 30 мг/кг, калипсол 100 мг/кг) ишемию печени вызывали наложением сосудистого зажима на *a. hepatica* и *v. portae* (маневр Прингла) в течение 30 мин, после снятия зажима реперфузионный период длился 120 мин. Вводили силиконовый катетер в правое предсердие для получения смешанной венозной крови. Забор образцов крови для оценки показателей КТФ осуществляли до, в конце ишемии и через 120 мин после её прекращения. Все опыты проведены в соответствии с этическими стандартами по проведению исследований на экспериментальных животных Гродненского государственного медицинского университета.

Животных разделили на 4 экспериментальные

группы: 1-я группа – контроль (осуществляли забор крови до ишемии, $n=8$), 2-я – исследовали кровь после ишемии ($n=5$), в 3-й – моделировали ишемию-реперфузию печени и оценивали параметры КТФ крови в конце реперфузионного периода ($n=8$), в 4-й – за 10 мин до ишемии-реперфузии печени интраперитонеально вводили 1-МНА в дозе 100 мг/кг и исследовали кровь на 120-й мин реперфузии ($n=8$).

На микрогазоанализаторе Synthesis-15 (США) оценивали показатели КТФ крови: $p50_{\text{станд}}$, $p50_{\text{реал}}$, pO_2 , pCO_2 , pH, бикарбонат плазмы (HCO_3^-), общий CO_2 плазмы (TCO_2), действительный избыток оснований (ABE), а также уровни метгемоглобина (MetHb) и карбоксигемоглобина (COHb). Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) определяли по показателю $p50$ (pO_2 крови, соответствующее 50% насыщению ее кислородом) [13]. $p50_{\text{станд}}$ измеряли при стандартных условиях (pH = 7,4; pCO_2 = 40 мм рт. ст. и $T = 37^\circ C$), а $p50_{\text{реал}}$ – рассчитывали для реальных значений этих факторов. На основании полученных значений $p50$ по уравнению Хилла высчитывали положение кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО). Все полученные результаты обработаны методом вариационной статистики с использованием t -критерия Стьюдента или U -теста, в зависимости от нормальности распределения выборок.

Результаты и обсуждение

Изменения основных показателей КТФ смешанной венозной крови при ишемии и последующей реперфузии печени отражены в таблице 1. Ишемия печени приводила к снижению показателей кислотно-основного состояния крови: pH, HCO_3^- , TCO_2 и ABE, по отношению к исходным уровням, указывая на развитие метаболического ацидоза. Так, уровни HCO_3^- и TCO_2 после ишемии понизились, по отношению к исходным значениям, на 16,4% ($p<0,05$) и 15,3% ($p<0,05$), соответственно. Одновременно в конце ишемического периода наблюдалось увеличение показателя $p50_{\text{реал}}$ на 19,3% ($p<0,05$), по отношению к исходному уровню, что свидетельствует о снижении СГК крови после ишемии и сдвиге КДО вправо. На 120-й минуте реперфузии у животных 3-й группы более выражено понижались pH, HCO_3^- , TCO_2 , ABE, увеличивалось pCO_2 крови, отражая усиление метаболического ацидоза и гиперкапнии. Так, уровни HCO_3^- и TCO_2 в конце реперфузии оставались ниже исходных значений на 16,2% ($p<0,05$) и 14,3% ($p<0,05$), соответственно. Показатель pCO_2 вырос на 18,9% ($p<0,05$) по отношению к исходному уровню. В конце реперфузионного периода у крыс 3-й экспериментальной группы сохранялось увеличение $p50_{\text{реал}}$ на 18,0% ($p<0,05$), по отношению к доишемическому уровню.

Инфузия 1-МНА перед моделированием ишемии-реперфузии печени способствовала менее вы-

Таблица 1 – Изменение параметров кислородтранспортной функции крови при ишемии-реперфузии печени у крыс в условиях введения 1-метилникотинамида ($M \pm m$)

Показатель	Исходное значение	30 минут ишемии	120 минут реперфузии	
			3-я группа	4-я группа
n	8	5	8	8
pO_2 , мм рт. ст.	$34,8 \pm 1,5$	$36,4 \pm 1,4$	$42,9 \pm 6,6$	$35,8 \pm 3,1$
pH, ед.	$7,32 \pm 0,02$	$7,21 \pm 0,05^*$	$7,17 \pm 0,04^*$	$7,25 \pm 0,03^{\#}$
pCO_2 , мм рт. ст.	$62,7 \pm 2,2$	$65,4 \pm 3,1$	$74,5 \pm 8,4^*$	$73,3 \pm 4,1^*$
HCO_3^- , ммоль/л	$32,3 \pm 0,6$	$27,0 \pm 2,4^*$	$27,0 \pm 1,8^*$	$29,9 \pm 1,5$
TCO_2 , ммоль/л	$34,2 \pm 0,6$	$29,0 \pm 2,4^*$	$29,3 \pm 2,0^*$	$32,2 \pm 1,5$
ABE, ммоль/л	$5,2 \pm 0,7$	$-1,5 \pm 2,9^*$	$-2,4 \pm 1,7^*$	$1,0 \pm 1,8^*$
Hb, г/л	$119,5 \pm 5,4$	$127,0 \pm 10,1$	$126,5 \pm 12,4$	$126,6 \pm 4,6$
$p50_{\text{станд}}$, мм рт. ст.	$33,7 \pm 1,2$	$35,5 \pm 0,9$	$33,2 \pm 1,4$	$34,2 \pm 1,2$
$p50_{\text{реал}}$, мм рт. ст.	$36,9 \pm 1,5$	$44,0 \pm 2,3^*$	$43,5 \pm 1,1^*$	$40,2 \pm 1,0^{\#}$
MetHb, г/л	$0,48 \pm 0,12$	$0,28 \pm 0,13$	$0,5 \pm 0,21$	$0,41 \pm 0,07$
COHb, г/л	$0,65 \pm 0,37$	$0,0 \pm 0,0$	$0,9 \pm 0,49$	$0,31 \pm 0,14$

Примечание: * – достоверные изменения, по отношению к исходному значению ($p<0,05$), # – достоверные изменения, по отношению к 3-й группе

раженным изменениям параметров КТФ крови в конце реперфузии. На 120-й минуте реперфузионного периода значительно изменились только показатели ABE и pCO_2 по отношению к исходным. Так, увеличение показателя pCO_2 в конце реперфузии у этой группы животных составило 17,0% ($p<0,05$) по отношению к исходному уровню. Показатель $p50_{\text{реал}}$ в конце реперфузии у животных 4-й группы увеличивался всего на 9,1% ($p>0,05$) по отношению к исходному уровню, однако был значительно меньшим, чем у животных 3-й группы. Важно отметить, что в конце реперфузионного периода уровни MetHb и COHb, по отношению к исходным, у крыс, получавших 1-МНА, существенно не изменялись (табл. 1).

Проведенные исследования показали, что ишемия печени приводила к снижению показателей кислотно-основного состояния крови (pH, HCO_3^- , TCO_2 и ABE), по отношению к исходным уровням, указывая на развитие метаболического ацидоза, который неизбежен при ишемии такого крупного органа как печень [1]. Смещение КДО вправо (судя по показателю $p50_{\text{реал}}$) носило, по-видимому, компенсаторный характер, способствуя увеличению отдачи кислорода в ишемизированные ткани [3]. В конце реперфузии у животных 3-й группы правосторонний сдвиг КДО сохранялся на фоне прогрессирующего ацидоза, что могло усиливать дисбаланс между доставкой кислорода в постишемическом периоде и способностью тканей к его утилизации. Данные изменения СГК, по-видимому, были обусловлены преимущественно за счет эффекта Бора, так как показатели MetHb и COHb на протяжении экспериментов существенно не изменялись.

Парадоксально, но восстановление кровотока в печени не способствовало улучшению параметров

КТФ крови у крыс, что согласуется с полученными ранее данными на схожей модели экспериментов у кроликов [4]. Вместе с тем, установлено, что в условиях введения 1-МНА в конце реперфузии КДО сдвигается влево (судя по показателям $p50_{\text{реал}}$). По-видимому, данный эффект мог в большей степени быть обусловлен меньшими нарушениями кислотно-основного состояния крови у животных, получавших 1-МНА, и как следствие, снижением эффекта Бора на СГК. Нельзя исключить, что 1-МНА мог стимулировать выработку оксида азота в печени, что может существенно улучшить прооксидантно-антиоксидантное состояние органа в постишемическом периоде, а также за счет образования S-нитрозогемоглобина увеличить СГК и сместить КДО влево [5, 8].

Повышение СГК в конце постишемического периода у животных 4-й группы, по сравнению с крысами 3-й группы, может быть одним из факторов, определяющих улучшение прооксидантно-антиоксидантного состояния при ишемии-реперфузии печени у крыс в условиях инфузии 1-МНА [3]. Так, за счет более высокого СГК крови и уменьшения отдачи O_2 в ткани в реперфузионном периоде возможно ограничение участия кислорода в свободнорадикальных процессах. Известно, что избыточная активация процессов ПОЛ может быть следствием изменения соотношения доноров и акцепторов электронов в тканях, возникающего при нарушении их кислородного обеспечения [1]. Возможно, 1-МНА в реперфузионном периоде мог оказать положительное влияние на работу митохондрий, подавляя активность восстановленных переносчиков НАДН и НАДФН и улучшая процессы утилизации кислорода [2], что в конечном счете выразилось в меньшей степени нарушений показателей кислотно-основного состояния у животных 4-й группы. Кроме того, 1-МНА мог способствовать активации синтеза простаглицина, который, обладая значительными вазодилаторными свойствами, оказывал положительное влияние на процессы микроциркуляции в постишемическом периоде [7]. Таким образом, показано, что 1-МНА улучшает кислотно-основное состояние крови, повышает СГК в реперфузионном периоде. Повышение СГК в конце постишемического периода при введении 1-МНА может быть одним из механизмов протективного действия препарата на печень при ишемии-реперфузии. Однако механизм защитного влияния 1-МНА при ишемии-реперфузии печени нуждается в дальнейших исследованиях.

Выводы

1. При ишемии и последующей реперфузии печени у экспериментальных животных развива-

ются существенные нарушения кислотно-основного состояния, наблюдается снижение сродства гемоглобина к кислороду.

2. Введение 1-метилникотинамида способствует улучшению отдельных показателей кислотно-основного состояния и повышению аффинитета гемоглобина к кислороду в реперфузионном периоде.

Литература

1. Биленко М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения). - М.: Медицина, 1989. - 267 с.
2. Бучаченко А.Л., Кузнецов Д.А., Архангельский С.Е., и др. Зависимость митохондриального синтеза АТФ от ядерного магнитного момента ионов магния // Доклады академии наук. - 2004. - Т. 396, № 6. - С. 828-830.
3. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н. Участие кислородзависимых процессов в патогенезе реперфузионных повреждений печени // Успехи физиол. наук. - 2006, № 4. - С. 45-56.
4. Зинчук В.В., Ходосовский М.Н., Дремза И.К. Кислородтранспортная функция крови и прооксидантно-антиоксидантное состояние при реперфузии печени // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2002. - №4. - С. 8-11.
5. Ходосовский М.Н. Влияние нитропруссиды натрия на прооксидантно-антиоксидантную систему печени при ее ишемии-реперфузии у кроликов // Вестн НАН Беларуси. Сер. мед. наук. - 2008. - № 3. - С. 23-27.
6. Ходосовский М.Н., Зинчук В.В. Регуляция прооксидантно-антиоксидантного состояния печени в остром постишемическом периоде // Проблемы регуляции висцеральных функций: сб. науч. ст.: в 2 кн./ редкол.: В.С. Улащик [и др.]. - Минск: РИВШ, 2008. - Кн. 1. - С. 247-250.
7. Chlopicki S., Swies J., Mogielnicki A., et al. 1-Methylnicotinamide (MNA), a primary metabolite of nicotinamide, exerts anti-thrombotic activity mediated by a cyclooxygenase-2/prostacyclin pathway // Br. J. Pharmacol. - 2007. - Vol. 152, N 2. - P. 230-239.
8. Gow A.J., Stamler J.S. Reactions between nitric oxide and haemoglobin under physiological conditions // Nature. - 1998. - Vol. 391. - P. 169-173.
9. Gebicki J., Sysa-Jedrzejowska A., Adamus J. et al. 1-Methylnicotinamide: a potent anti-inflammatory agent of vitamin origin // Pol. J. Pharmacol. - 2003. - Vol. 55. - P. 109-112.
10. Jaeschke H. Molecular mechanisms of hepatic ischemia-reperfusion injury and preconditioning // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. - 2003. - Vol. 284, N 1. - P. G15-G26.
11. Kohli V., Selzner M., Madden J.F. et al. Endothelial cell and hepatocyte deaths occur by apoptosis after ischemia-reperfusion injury in the rat liver // Transplantation. - 1999. - Vol. 67, N 8. - P. 1099-1105.
12. Lentsch A.B., Kato A., Yoshidome H. et al. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury // Hepatology. - 2000. - Vol. 32, № 2. - P. 169-173.
13. Scheid P., Meyer M. Mixing technique for study of oxygen-hemoglobin equilibrium: a critical evaluation // J. Appl. Physiol. - 1978. - Vol. 45. - P. 818-822.

Поступила 08.04.09

Работа частично выполнена благодаря поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор № Б07М-232).