

ФАРМАКОЛОГИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ

УЧАСТИЕ L-АРГИНИН-NO СИСТЕМЫ В РАЗВИТИИ РЕПЕРFUЗИОННЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ ПЕЧЕНИ

М. Н. Ходосовский, В. В. Зинчук¹

Проводили коррекцию L-аргинин-NO системы при ишемии-реперфузии печени у кроликов путем инфузии ингибитора NO-синтазы (N^G-нитро-L-аргинин, 15 мг/кг) и L-аргинина (300 мг/кг). Измеряли продукты перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, основания Шиффа), факторы антиоксидантной системы (α-токоферол, ретинол, активность каталазы). Тяжесть реперфузионных повреждений оценивали по активности аланин- и аспаратаминотрансфераз в крови. Ишемия-реперфузия приводит к значительному усилению процессов перекисного окисления липидов, истощению факторов антиоксидантной системы в крови и тканях печени, а также к повышению активности соответствующих трансфераз крови, что свидетельствует о значительном повреждении этого органа. Инфузия L-аргинина перед началом реперфузионного периода способствовала уменьшению нарушений прооксидантно-антиоксидантного состояния и нормализации активности аланин- и аспаратаминотрансфераз в крови. Ингибирование NO синтазы перед началом ишемии такой эффект не оказывает.

Ключевые слова: оксид азота, перекисное окисление липидов, реперфузия, печень, кролики

ВВЕДЕНИЕ

Ишемия-реперфузия печени часто встречается в клинической практике при травмах, резекциях и трансплантации этого органа, геморрагическом шоке и других состояниях [1, 7]. Патогенез этого синдрома в значительной степени определяется прооксидантно-антиоксидантным состоянием, т.е. балансом между генерацией активных форм кислорода (АФК) и факторами антиоксидантной защиты [3]. Изменение данного состояния при реперфузии может быть следствием усиления процессов радикалообразования. Для индукции последних в постишемическом периоде возникает ряд условий: увеличение “утечки” электронов в митохондриях, конверсия ксантиндегидрогеназы в ксантиноксидазу, миграция и “респираторный взрыв” нейтрофилов и т.д. [1, 13, 14]. Повреждения тканей могут быть обусловлены как прямым токсическим действием АФК на белки, ДНК, липиды, так и непрямым — через активацию провоспалительных генов, индукцию апоптоза и др.

Среди различных АФК привлекают внимание оксид азота (NO) и его активные формы [12]. Эта молекула считается одним из универсальных регуляторов клеточного и тканевого метаболизма [5]. В организме её синтез осуществляется из L-аргинина под действием NO-синтазы и ряда кофакторов (L-аргинин-NO система). Роль данной системы в патогенезе реперфузион-

ных повреждений печени неоднозначна и остается изученной недостаточно [7, 13]. Целью данной работы явилось изучение влияния коррекции L-аргинин-NO системы на тяжесть реперфузионных повреждений печени.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на взрослых кроликах-самцах массой 3,5 – 4,5 кг, предварительно выдержанных в стандартных условиях вивария. Анестезию поддерживали внутривенной инфузией кетамина (1,5 мг/кг/мин). Ишемию печени в течение 30 мин вызывали наложением лигатуры на *a. hepatica propria*, реперфузионный период длился 120 мин. Вводили катетеры: один - в *v. hepatica* для забора печёночной венозной крови, другой — в правое предсердие для получения смешанной венозной крови.

Животные были разделены на 5 групп. В 1-й группе ($n = 10$) моделировали ишемию-реперфузию печени. Во 2-й группе ($n = 8$) за 5 мин до начала реперфузии проводили инфузию L-аргинина (300 мг/кг, Институт биоорганической химии НАН РБ). В 3-й группе ($n = 7$) перед выполнением ишемии осуществляли инфузию неселективного ингибитора NO-синтазы — N^G-нитро-L-аргинина (L-NNA, “Sigma”) в дозе 15 мг/кг. В 4-й ($n = 6$) и 5-й ($n = 5$) группах животных брали образцы печени до и непосредственно после выполнения ишемии, соответственно. Взятие образцов крови для оценки продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и факторов антиоксидантной системы (АС) осуществляли до, в конце и через 120 мин после пре-

¹ Кафедра нормальной физиологии (зав. — В. В. Зинчук) Гродненского медицинского университета, Гродно, Беларусь, 230015, ул. Горького, 80, E-mail: zinchuk@grsmi.unibel.by.

кращения ишемии. У первых трех групп кроликов ткань печени для оценки показателей прооксидантно-антиоксидантного состояния брали в конце реперфузии. Степень повреждения печени оценивали по активности в крови аланин- и аспаратаминотрансфераз (АлАТ и АсАТ соответственно).

Изучали следующие параметры прооксидантно-антиоксидантного состояния: диеновые конъюгаты (ДК), основания Шиффа (ОШ) α -токоферол, ретинол и активность каталазы. Содержание ДК в биологическом материале определяли методом ультрафиолетовой спектрофотометрии при длине волны 233 нм, типичной для конъюгированных диеновых структур гидроперекисей липидов [2]. Уровень ОШ определяли по интенсивности флюоресценции хлороформного экстракта при длине волн возбуждения и эмиссии 344 и 440 нм, соответственно [11] на спектрофлюориметре F-4010 фирмы "Hitachi".

Содержание α -токоферола и ретинола изучали методом одновременного флюориметрического определения по интенсивности флюоресценции гексанового экстракта [6] на спектрофлюориметре "F-4010". В качестве стандарта использовали α -токоферол и ретинол фирмы "Sigma". Каталазная активность в биологическом материале оценивали спектрофотометрическим методом, основанном на способности перекиси водорода (H_2O_2) образовывать с солями молибдена стойко окрашенный комплекс, на спектрофотометре СФ-46 "ЛОМО" [8]. Количество белка определяли по Лоури. Активность АлАТ и АсАТ определяли в плазме венозной крови, стабилизированной гепарином, по S. Reitman и соавт. [15]. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Показатели ПОЛ и АС, а также активность АлАТ и АсАТ крови, оттекающей от печени опытных животных представлены в табл. 1. В 1-й группе животных ишемия и особенно реперфузия печени привели к значительному росту уровня ДК и ОШ в плазме и эритроцитах. Так, в крови, оттекающей от печени, содержание ДК в плазме и эритроцитах после ишемии увеличилось на 94,8 и 156,6% соответственно. В конце реперфузии уровень ДК плазмы в данном образце крови отличался по отношению к исходному уже на 267,2%, а в эритроцитах — на 304,4%. Одновременно наблюдалось снижение содержания α -токоферола и ретинола, максимально выраженное на 120-й минуте реперфузии. Так в конце реперфузионного периода уровень α -токоферола упал в плазме печеночной и смешанной венозной крови на 20,5 и 24,6% соответственно. Активность каталазы, АлАТ и АсАТ на протяжении ишемии-реперфузии печени возрастала, однако уровни АлАТ и АсАТ достоверно отличались от исходных только в конце реперфузионного периода, тогда как активность каталазы была достоверно выше уже через 30 мин ишемии. Схожая динамика исследуемых показателей наблюдалась в смешанной венозной крови (табл. 2).

Инфузия *L*-аргинина перед началом реперфузионного периода способствовала нормализации показателей прооксидантно-антиоксидантного баланса, а также активности АлАТ и АсАТ в обоих образцах крови (см. табл. 1 и 2). В конце реперфузионного периода отмечалось достоверное повышение содержания ОШ в плазме печеночной и смешанной венозной крови на 18,8 и 19,2% соответственно. К концу реперфузии в плазме данных образцов крови снизилось содержание

Таблица 1. Показатели прооксидантно-антиоксидантного равновесия и активности трансаминаз печеночной венозной крови при ишемии-реперфузии печени ($M \pm m$)

Показатель	Ишемия-реперфузия			Ишемия- <i>L</i> -аргинин-реперфузия			<i>L</i> -NNA-ишемия-реперфузия		
	Исходное значение	30 мин ишемии	120 мин реперфузии	Исходное значение	30 мин ишемии	120 мин реперфузии	Исходное значение	30 мин ишемии	120 мин реперфузии
<i>n</i>	10	9	7	8	8	8	7	7	7
ДК _{пл} , $\Delta D_{233}/мл$	0,58 $\pm$ 0,05	1,13 $\pm$ 0,14*	2,13 $\pm$ 0,1*	0,42 $\pm$ 0,05	0,64 $\pm$ 0,08*	0,51 $\pm$ 0,05	0,52 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,08*	2,41 $\pm$ 0,2*
ДК _{эр} , $\Delta D_{233}/мл$	5,02 $\pm$ 1,12	12,88 $\pm$ 2,1*	20,3 $\pm$ 1,28*	4,71 $\pm$ 0,33	5,16 $\pm$ 0,5	4,86 $\pm$ 0,31	5,76 $\pm$ 0,28	11,13 $\pm$ 0,69*	17,45 $\pm$ 0,43*
ОШ _{пл} , ED/мл	8,49 $\pm$ 0,42	12,75 $\pm$ 0,58*	14,35 $\pm$ 0,47*	8,89 $\pm$ 0,28	9,76 $\pm$ 0,59	10,56 $\pm$ 0,51*	9,02 $\pm$ 0,25	10,38 $\pm$ 0,38*	14,59 $\pm$ 0,44*
ОШ _{эр} , ED/мл	40,66 $\pm$ 2,63	58,52 $\pm$ 5,38*	83,91 $\pm$ 6,7*	41,8 $\pm$ 1,68	44,01 $\pm$ 1,92	46,99 $\pm$ 3,74	40,32 $\pm$ 0,78	53,01 $\pm$ 1,27*	58,11 $\pm$ 1,87*
Ретинол _{пл} , мкМ/л	2,29 $\pm$ 0,03	1,97 $\pm$ 0,05*	1,47 $\pm$ 0,08*	2,13 $\pm$ 0,06	2,02 $\pm$ 0,06	1,96 $\pm$ 0,05*	2,16 $\pm$ 0,05	1,97 $\pm$ 0,04*	1,71 $\pm$ 0,03*
Ретинол _{эр} , мкМ/л	8,81 $\pm$ 0,24	8,2 $\pm$ 0,23	6,81 $\pm$ 0,12*	9,2 $\pm$ 0,27	8,9 $\pm$ 0,28	8,51 $\pm$ 0,28	8,97 $\pm$ 0,23	8,31 $\pm$ 0,21	7,28 $\pm$ 0,22*
α -токоферол _{пл} , мкМ/л	20,8 $\pm$ 0,58	19,34 $\pm$ 0,24*	16,54 $\pm$ 0,26*	20,88 $\pm$ 0,4	19,8 $\pm$ 0,31*	19,33 $\pm$ 0,38*	20,64 $\pm$ 0,31	19,0 $\pm$ 0,28*	16,84 $\pm$ 0,26*
α -токоферол _{эр} , мкМ/л	115,82 $\pm$ 2,17	111,19 $\pm$ 2,54	90,65 $\pm$ 1,34*	116,9 $\pm$ 1,36	113,9 $\pm$ 1,39	113,05 $\pm$ 1,53	118,07 $\pm$ 11,29	112,06 $\pm$ 2,03*	103,28 $\pm$ 11,7*
Каталаза _{эр} , мМ/с · гНб	2,77 $\pm$ 0,31	3,81 $\pm$ 0,33*	5,57 $\pm$ 0,06*	2,53 $\pm$ 0,13	3,0 $\pm$ 0,2*	2,85 $\pm$ 0,08	2,47 $\pm$ 0,06	2,21 $\pm$ 0,03*	1,66 $\pm$ 0,11*
АлАТ, мкат/л	80 $\pm$ 3	85 $\pm$ 3	157 $\pm$ 9*	71 $\pm$ 6	79 $\pm$ 7	75 $\pm$ 6	73 $\pm$ 6	75 $\pm$ 4	127 $\pm$ 16*
АсАТ, мкат/л	59 $\pm$ 3	66 $\pm$ 3	114 $\pm$ 14*	57 $\pm$ 8	57 $\pm$ 8	66 $\pm$ 7	47 $\pm$ 6	49 $\pm$ 6	95 $\pm$ 1*

Примечание. Здесь и в табл. 2: пл — плазма, эр — эритроциты. * — $p < 0,05$ по отношению к исходному значению в каждой группе животных.

α -токоферола на 7,4 и 7,5%, а ретинола на 8 и 8,3% соответственно. Однако, как и в предыдущем случае, эти изменения показателей прооксидантно-антиоксидантного состояния были менее выраженными, чем у животных, у которых коррекция L-аргинин-NO системы во время ишемии-реперфузии печени не проводилась. Продукты ПОЛ в эритроцитах обоих образцов крови группы, получавшей L-аргинин, на 120-й минуте реперфузии значимо не отличались от исходных значений. Активность каталазы, АлАТ и АсАТ обнаруживала лишь тенденцию к увеличению.

Использование L-NNA перед началом ишемии привело к росту ДК и ОШ плазмы и эритроцитов в обоих образцах крови (см. табл. 1 и 2). Так, увеличение ДК в плазме печеночной и смешанной венозной крови на 30-й минуте ишемии составило по отношению к исходному уровню 63,5 и 191,1%, а на 120-й минуте реперфузии 363,5 и 366,1% соответственно. Параллельно истощались факторы антиоксидантной защиты, что выражалось в снижении уровней α -токоферола и ретинола в плазме и эритроцитах как печеночной, так и смешанной венозной крови. Так, в плазме крови, оттекающей от печени, содержание α -токоферола и ретинола к концу реперфузии составляло 81,6 и 79,2% соответственно. На 120-й минуте реперфузии повысилась активность АлАТ и АсАТ в обоих образцах крови. В отличие от других опытных групп, у животных, получавших L-NNA, наблюдалось снижение активности каталазы эритроцитов в конце реперфузионного периода (см. табл. 1 и 2).

30 мин ишемии печени привели к повышению в её тканях уровня ДК с $4,97 \pm 0,54$ до $7,8 \pm 0,7 \Delta D_{233}/г$ ($p < 0,01$). Одновременно отмечалось увеличение содержания ОПШ в гомогенате печени (рис. 1). Уровень

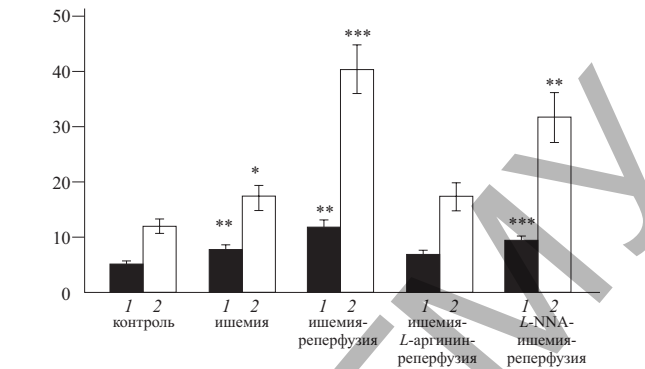


Рис. 1. Уровень диеновых конъюгатов (1, $\Delta D_{233}/г$), оснований Шиффа (2, ЕД/100 мг) в печени.

Здесь и на рис. 2 различия статистически значимы по отношению к контролю: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$.

показателей АС в этот период существенно не отличался от контрольной группы кроликов (рис. 2). В конце реперфузионного периода содержание ДК в гомогенате печени 1-й группы кроликов по отношению к контролю составило $11,42 \pm 1,04 \Delta D_{233}/г$ ($p < 0,01$), у получавших L-аргинин животных — $7,03 \pm 0,78 \Delta D_{233}/г$ ($p > 0,05$), а у животных, которым проводили инфузию L-NNA, — $9,66 \pm 0,7 \Delta D_{233}/г$ ($p < 0,001$). Схожая динамика изменений у этих групп животных на 120-й минуте реперфузии наблюдалась в содержании ОПТ (см. рис.1). В гомогенате печени 1-й группы и группы животных, получавшей L-NNA, к концу реперфузионного периода установлено уменьшение по отношению к контролю уровня α -токоферола с $19,77 \pm 0,68$ нМ/100 мг до $12,17 \pm 0,26$ ($p < 0,001$) и $14,14 \pm 1,07$ ($p < 0,01$) нМ/100 мг соответственно. В группе, получавших L-аргинин, в конце реперфузии

Таблица 2. Показатели прооксидантно-антиоксидантного равновесия и активности трансаминаз смешанной венозной крови при ишемии-реперфузии печени ($M \pm m$)

Показатель	Ишемия-реперфузия			Ишемия-L-аргинин-реперфузия			L-NNA-ишемия-реперфузия		
	Исходное значение	30 мин ишемии	120 мин реперфузии	Исходное значение	30 мин ишемии	120 мин реперфузии	Исходное значение	30 мин ишемии	120 мин реперфузии
n	10	9	7	8	8	8	7	7	7
ДК _{пл} , $\Delta D_{233}/мл$	$0,57 \pm 0,05$	$1,56 \pm 0,31^*$	$2,58 \pm 0,55^*$	$0,44 \pm 0,05$	$0,5 \pm 0,07$	$0,58 \pm 0,08$	$0,56 \pm 0,05$	$1,63 \pm 0,07^*$	$2,61 \pm 0,13^*$
ДК _{эр} , $\Delta D_{233}/мл$	$6,56 \pm 1,27$	$11,76 \pm 2,09^*$	$21,77 \pm 0,44^*$	$4,56 \pm 0,28$	$4,73 \pm 0,34$	$5,09 \pm 0,55$	$5,09 \pm 0,24$	$9,5 \pm 0,42^*$	$14,71 \pm 0,79^*$
ОШ _{пл} , ЕД/мл	$9,47 \pm 0,12$	$11,65 \pm 0,59^*$	$12,86 \pm 0,28^*$	$8,45 \pm 0,41$	$9,25 \pm 0,42$	$10,07 \pm 0,53^*$	$9,12 \pm 0,36$	$10,86 \pm 0,35^*$	$15,16 \pm 0,64^*$
ОШ _{эр} , ЕД/мл	$40,48 \pm 1,93$	$60,31 \pm 4,84^*$	$77,55 \pm 5,67^*$	$39,41 \pm 1,73$	$43,87 \pm 2,45$	$44,06 \pm 3,56$	$39,57 \pm 1,07$	$49,48 \pm 2,11^*$	$58,51 \pm 1,64^*$
Ретинол _{пл} , мкМ/л	$2,29 \pm 0,03$	$1,98 \pm 0,06^*$	$1,43 \pm 0,06^*$	$2,17 \pm 0,06$	$2,08 \pm 0,07$	$1,99 \pm 0,05^*$	$2,15 \pm 0,05$	$1,98 \pm 0,03^*$	$1,67 \pm 0,05^*$
Ретинол _{эр} , мкМ/л	$8,8 \pm 0,18$	$8,01 \pm 0,37$	$6,82 \pm 0,05^*$	$9,03 \pm 0,28$	$8,8 \pm 0,28$	$8,3 \pm 0,35$	$8,84 \pm 0,27$	$8,23 \pm 0,22$	$7,11 \pm 0,2^*$
α -токоферол _{пл} , мкМ/л	$21,25 \pm 0,48$	$18,56 \pm 0,43^*$	$16,02 \pm 0,28^*$	$20,27 \pm 0,4$	$19,32 \pm 0,27$	$18,74 \pm 0,38^*$	$20,67 \pm 0,36$	$18,56 \pm 0,31^*$	$16,78 \pm 0,29^*$
α -токоферол _{эр} , мкМ/л	$118,88 \pm 2,68$	$110,25 \pm 3,28$	$95,11 \pm 0,91^*$	$117,04 \pm 1,2$	$114,05 \pm 1,3$	$113,24 \pm 1,41$	$118,49 \pm 1,57$	$113,84 \pm 1,27$	$101,97 \pm 1,5^*$
Каталаза _{эр} , мМ H ₂ O ₂ /г Hb/c	$2,5 \pm 0,33$	$3,82 \pm 0,37^*$	$6,18 \pm 0,02^*$	$2,69 \pm 0,12$	$3,09 \pm 0,13^*$	$2,82 \pm 0,07$	$2,44 \pm 0,05$	$2,19 \pm 0,04^*$	$1,81 \pm 0,04^*$
АлАТ, мкат/л	75 ± 4	80 ± 4	$196 \pm 19^*$	71 ± 4	78 ± 6	79 ± 6	71 ± 4	71 ± 3	$130 \pm 24^*$
АсАТ, мкат/л	66 ± 6	78 ± 4	$188 \pm 20^*$	63 ± 5	68 ± 7	66 ± 5	46 ± 8	56 ± 7	$122 \pm 27^*$

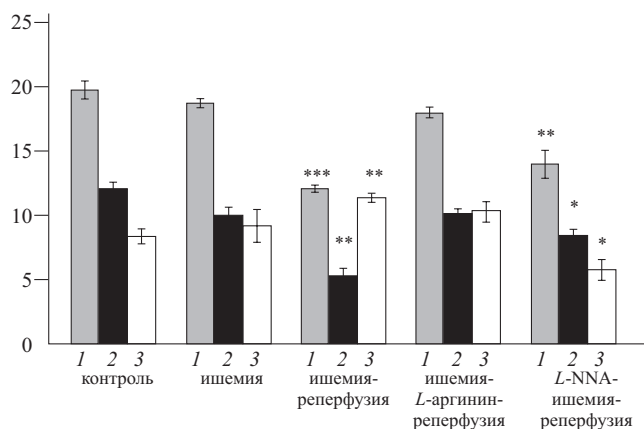


Рис. 2. Показатели антиоксидантной системы печени: α-токоферол (1, нМ/100 мг), ретинол (2, нМ/100 мг), активность каталазы (3, мМ/сек · г белка).

Обозначения те же, что на рис. 1.

наблюдалась лишь тенденция к снижению содержания α-токоферола в гомогенате (см. рис. 2). Активность каталазы в тканях печени на 120-й минуте реперфузии у 1-й группы по отношению к контролю повышалась с $8,36 \pm 0,56$ мМ/сек · г белка до $11,45 \pm 0,35$ мМ/сек · г белка ($p < 0,01$), в группе с L-аргинином существенно не изменялась, а в группе, получавших L-NNA, снижалась до $5,85 \pm 0,81$ мМ/сек · г белка ($p < 0,05$), см. рис. 2.

Таким образом, ишемия-реперфузия печени приводила к усилению свободнорадикальных процессов, о чем свидетельствует накопление в крови и гомогенате печени продуктов ПОЛ и одновременное снижение концентрации α-токоферола и ретинола. Снижение уровня данных антиоксидантов отражает неконтролируемость процессов ПОЛ при реперфузии. Повышение активности каталазы эритроцитов и гомогената в реперфузионном периоде у животных 1-й группы может быть следствием накопления эндогенной H_2O_2 , которая может образовываться при спонтанной дисмутации супероксид аниона ($O_2^{\cdot-}$) [12]. Установлено резкое усиление генерации $O_2^{\cdot-}$ ксантиноксидазой на модели изолированной перфузированной печени крыс, максимум которого после 30 мин ишемии печени приходится на 10-ую минуту реперфузии, постепенно снижаясь к исходному уровню примерно к 30-й минуте [14]. Усиление свободнорадикальных процессов в печени после её ишемии и одновременное снижение уровня факторов АС (α-токоферола и ретинола) способствует развитию повреждений органа, что подтверждается ростом активности АЛАТ и АсАТ крови в конце реперфузионного периода.

Взаимодействие $O_2^{\cdot-}$ с NO может приводить к образованию мощного окислителя - пероксинитрита [5]. В связи с этим указывается на опасность использования высоких доз L-аргинина при реперфузии печени [16]. При этом повреждающее действие повышенного уров-

ня NO в постишемическом периоде связывают с активацией индуцибельной изоформы NO-синтазы в печени [7]. Однако известно, что небольшие дозы пероксинитрита (2 мкмоль/кг) могут уменьшать тяжесть реперфузионных повреждений печени, опосредуемых лейкоцитами, за счет ингибирования экспрессии молекул межклеточной адгезии [13]. Использование ингибиторов NO-синтазы перед началом реперфузии может приводить к усилению реперфузионных повреждений печени [7], поэтому для предупреждения активации индуцибельной изоформы NO-синтазы мы применили инфузию L-NNA перед ишемическим периодом.

Инфузия L-NNA перед началом ишемии в наших экспериментах не приводила к ограничению свободнорадикальных процессов при реперфузии печени. Снижение активности каталазы в конце реперфузионного периода в этой группе животных указывает на срыв компенсаторных возможностей механизмов поддержания прооксидантно-антиоксидантного состояния. Возможно, это является следствием того, что L-NNA, наряду с ингибированием индуцибельной изоформы NO-синтазы, необратимо подавляет активность конститутивной. Последняя может оказывать протективное влияние при реперфузии печени [7]. Необратимое ингибирование конститутивной изоформы NO-синтазы во время ишемии снижает продукцию NO в реперфузионном периоде, что может усиливать дисбаланс между NO и вазоконстрикторами. Преобладание последних над продукцией NO в реперфузионном периоде приводит к развитию в синусоидах феномена *no-reflow* [18], что замедляет восстановление функции печени после ишемии и усугубляет развивающиеся повреждения.

Использование L-аргинина в наших опытах способствовало улучшению прооксидантно-антиоксидантного баланса, а также нормализации уровня АЛАТ и АсАТ в крови. Возможно, защитное влияние L-аргинина при реперфузии связано с улучшением условий микроциркуляции в печени. Введение L-аргинина при ишемии-реперфузии печени ведёт к нормализации тканевого напряжения кислорода [18]. Антиоксидантное действие L-аргинина может быть обусловлено взаимодействием NO с генерируемыми при реперфузии АФК, главным эффектом которого является устранение этих радикалов [10]. NO в данном случае действует как эндогенный гаситель свободных радикалов, в его присутствии цитотоксичность $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2 заметно уменьшается [17]. Кроме того, непосредственно L-аргинин, обладая антиоксидантными свойствами, может предупреждать истощение антиоксидантного потенциала организма, что оказывает стабилизирующий эффект на мембраны, ограничивая проникновение АФК в глубь гидрофобного слоя [4]. Защитный эффект L-аргинина может быть обусловлен, в частности, модификацией функциональных свойств гемоглобина, участия последнего в формировании кислородного по-

тока в ткани и поддержания прооксидантно-антиоксидантного равновесия в организме [19]. Образование NO, катализируемое индуцибельной изоформой NO-синтазы, может вызывать развитие косвенных эффектов в связи с потенциально высокими потоками NO. Активные формы азота и кислорода могут реагировать со многими молекулами-мишенями, причём по разным механизмам, относительное равновесие между этими реакциями является ключевым для определения роли NO в содействии окислительному стрессу либо в защите от него [9]. Как видим, L-аргинин-NO система может оказывать как защитное, так и повреждающее действие на развитие реперфузионных повреждений, что свидетельствует о сложном характере взаимодействия составляющих ее компонентов, нарушение которого и может быть одним из патогенетических звеньев данной патологии. Представляется перспективным создание новых фармакологических средств, способствующих образованию оптимальных количеств NO, для коррекции реперфузионных осложнений.

ВЫВОДЫ

1. У экспериментальных животных в условиях ишемии-реперфузии печени наблюдается выраженный сдвиг прооксидантно-антиоксидантного состояния в сторону радикалообразования, что играет важную роль в развитии реперфузионных повреждений печени.

2. L-аргинин-NO система участвует в генезе реперфузионных повреждений печени: инфузия L-аргинина уменьшает нарушения прооксидантно-антиоксидантного состояния и тяжесть реперфузионных повреждений печени; ингибирование NO-синтазы не приводит к ограничению активности свободнорадикальных процессов и к уменьшению их повреждающего действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. М. В. Биленко, *Ишемические и реперфузионные повреждения органов*, Медицина, Москва (1989).
2. В. Б. Гаврилов, А. Р. Гаврилова, Н. Ф. Хмара, *Лаб. дело*, № 2, 60 – 64 (1988).
3. В. В. Зинчук, М. В. Борисюк, *Усп. физиол. наук*, **30**(3), 38 – 48 (1999).
4. С. П. Львова, Т. Ф. Горбунова, Е. М. Абаева, *Вопр. мед. химии*, **39**(3), 21 – 24 (1993).
5. Ю. М. Петренко, Д. А. Шашурин, В. Ю. Титов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(2), 72 – 80 (2001).
6. Р. Ч. Черняускене, З. З. Варшкявичене, П. С. Грибаускас, *Лаб. дело*, № 6, 362 – 365 (1984).
7. Б. С. Тэйлор, Л. Х. Аларсон, Т. Р. Биллиар, *Биохимия*, **63**(7), 905 – 923 (1998).
8. O. I. Aruoma and S. L. Cuppett, *Antioxidant Methodology: in vivo and in vitro Concepts*, AOCS Press (1997).
9. M. G. Espey, K. M. Miranda, M. Feelisch, et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **899**, 209 – 221 (2000).
10. J. Gaboury, R. C. Woodman, D. N. Granger, et al., *Am. J. Physiol.*, **265**(3), H862 – H867 (1993).
11. B. L. Fletcher, C. J. Dillard, and A. L. Tappel, *Analyt. Biochem.*, **52**(1), 1 – 19 (1973).
12. K. Hensley, K. A. Robinson, S. P. Gabbita, et al., *Free Rad. Biol. Med.*, **28**(10), 1456 – 1462 (2000).
13. P. Liu, B. Xu, J. Quilby, and P. Y. Wong, *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, **279**(6), C1970 – C1977 (2000).
14. F. A. Nunes, C. Kumar, B. Chance and C. A. Brass, *Dig. Dis. Sci.*, **40**(5), 1045 – 1053 (1995).
15. S. Reitman, S. Frankel, *J. Clin. Path.*, **28**(1), 56 – 63 (1957).
16. E. Roth, *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, **1**(1), 97 – 99 (1998).
17. D. A. Wink, J. A. Cook, R. Pacelli, et al., *Toxicol. Lett.*, **82** – **83**, 221 – 226 (1995).
18. D. Uhlmann, S. Scommotau, H. Witzigmann, and H. U. Spiegel, *Eur. Surg. Res.*, **30**(3), 175 – 184 (1998).
19. V. V. Zinchuk, and E. V. Dorochina, *Nitric Oxide*, **5**(6), 600 – 606 (2001).

Поступила 11.01.02

PARTICIPATION OF THE L-ARGININE – NO SYSTEM IN THE HEPATIC REPERFUSIVE INJURY DEVELOPMENT

M. N. Khodosovskii and V. V. Zinchuk

Department of Biochemistry, Grodno State Medical University, ul. M. Gor'kogo 80, Grodno, 230015 Belarus

The L-arginine – NO system functioning in rabbits with hepatic ischemia and reperfusion was modified by infusing the NO synthase (NOS) inhibitor N^G-nitro-L-arginine (15 mg/kg) or the NOS substrate L-arginine (300 mg/kg). The effect was evaluated by determining the lipid peroxidation (LPO) products (conjugated dienes, Schiff bases) and antioxidant system factors (α -tocopherol, retinol, catalase activity factor). The degree of reperfusion damage was evaluated by the alanine amino transferase (AlAT) and aspartate amino transferase (AsAT) activity in the blood of experimental animals. The development of ischemia and reperfusion leads to a significant growth in the LPO rate, depletion of the antioxidant system factors in the blood and liver tissue, and increase in the AlAT and AsAT activity. The L-arginine infusion prior to the reperfusion period decreased violation of the prooxidant – antioxidant state and favored normalization of the AlAT and AsAT activity in the blood. No such effects were observed as a result of the NOS inhibition prior to the onset of ischemia.