

УДК 547.495.9 +546.172.6

ВЛИЯНИЕ НИТРОГЛИЦЕРИНА НА ПОКАЗАТЕЛИ КИСЛОРОДТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ КРОВИ ПРИ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ ПЕЧЕНИ У КРОЛИКОВ

М.Н. Ходосовский, доцент, к.м.н.; Н.В. Зинчук

УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Изучались показатели кислородтранспортной функции крови у кроликов при инфузии нитроглицерина в условиях ишемии-реперфузии печени. Анализируются возможные механизмы протективного влияния нитроглицерина на печень при ишемии-реперфузии, реализуемые через систему транспорта кислорода. Рассматриваются патофизиологические аспекты участия сродства гемоглобина к кислороду в развитии повреждений печени при ишемии-реперфузии у кроликов, а также роль оксида азота при данной патологии.

Ключевые слова: сродство гемоглобина к кислороду, ишемия, реперфузия, нитроглицерин, печень, кролики.

Parameters of blood oxygen transport in rabbits under nitroglycerine infusion were investigated under conditions of hepatic ischemia-reperfusion. The potential mechanisms of nitroglycerine protective influence on the liver under ischemia-reperfusion, realized through the system of oxygen transport, are analyzed. Pathophysiological aspects of hemoglobin oxygen affinity participation in hepatic injury development during ischemia-reperfusion in rabbits and nitric oxide role in this pathology are considered.

Key words: hemoglobin oxygen affinity, ischemia, reperfusion, nitroglycerine, liver, rabbits.

Известно, что оксид азота (NO) может влиять на состояние кислородтранспортной функции (КТФ) крови [1]. Вместе с тем, недостаточная продукция NO и преобладающие влияния эндотелинов могут нарушать процессы микроциркуляции в печени во время реперфузии [3]. Ранее сообщалось, что нитроглицерин улучшает прооксидантно-антиоксидантное и функциональное состояние печени при ишемии-реперфузии [2]. Цель настоящего исследования изучить влияние нитроглицерина на показатели кислородтранспортной функции крови при ишемии-реперфузии печени у кроликов.

Материалы и методы

Для исследования использовали взрослых кроликов-самцов весом 3,5-4,5 кг, предварительно выдержанных в стандартных условиях вивария. Анестезия поддерживалась внутривенной инфузией калипсола (1,5 мг/кг/мин). Вводили полиэтиленовые катетеры: первый – в *v. hepaticae* для забора печёночной венозной крови, второй – в правое предсердие для получения смешанной венозной крови. После срединной лапаротомии и гемостаза контролировали положение катетера в печёночных венах. Затем вызывали ишемию печени путем наложения сосудистого зажима на *a. hepatica propria* в течение 30 минут. Реперфузионный период длился 120 минут. Забор образцов крови осуществляли до и в конце ишемии, а также через 120 мин после её прекращения. Оперативные вмешательства осуществляли в условиях адекватной анальгезии в соответствии с этическими нормами, принятыми Гродненским государственным медицинским университетом.

Животных разделили на 2 группы: в 1-й (n=10) – моделировали ишемию-реперфузию печени, во 2-й (n=8) – на фоне ишемии-реперфузии печени проводили внутривенную инфузию нитроглицерина (1,5мкг/кг), которую начинали за 5 мин до начала реперфузионного периода.

На микрогазоанализаторе «Synthesis-15» (Instrumentation Laboratory Company) 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 (АВЕ). Сродство гемоглобина к кислороду (СГК) определяли по показателю $p50$ (pO_2 крови, соответствующее 50% насыщению ее кислородом). $p50_{\text{станд}}$ измеряли при стандартных условиях (pH = 7,4; $pCO_2 = 40$ мм рт. ст. и $T = 37$ °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).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

У кроликов 1-й группы ишемия печени приводила к уменьшению pO_2 в крови, оттекающей от печени на 26,25% ($p < 0,05$) по отношению к исходному уровню (см. табл. 1). На 120-й мин реперфузионного периода pO_2 печёночной венозной крови составило от исходного уровня 82,53% ($p > 0,05$). pCO_2 в печёночной венозной крови в конце реперфузионного периода увеличилось на 15,5% ($p < 0,05$). В смешанной венозной крови показатели pO_2 , pCO_2

Таблица 1. Показатели кислородтранспортной функции печеночной венозной крови у экспериментальных животных (M ± m)

Показатель	Ишемия-реперфузия (1-я группа)			Ишемия-реперфузия + нитроглицерин (2-я группа)		
	Исходная	30 мин ишемии	120 мин реперфузии	Исходная	30 мин ишемии	120 мин реперфузии
n	10	9	7	8	8	8
p50 _{реал} мм рт. ст.	32.12 ± 0.86	35.76 ± 1.4*	40.06 ± 1.83*	31.42 ± 0.92	32.96 ± 1.08	35.1 ± 1.22*#
p50 _{станд} мм рт. ст.	26.85 ± 0.57	28.35 ± 0.8	28.0 ± 0.66	28.09 ± 0.54	29.16 ± 1.12	29.5 ± 1.15
pO ₂ мм рт. ст.	30.4 ± 3.04	22.42 ± 2.25*	25.09 ± 3.67	39.05 ± 3.19	36.85 ± 2.59#	33.04 ± 2.89
pH ед.	7.308 ± 0.024	7.262 ± 0.017	7.156 ± 0.035*	7.366 ± 0.010	7.320 ± 0.015*#	7.249 ± 0.025*#
pCO ₂ мм рт. ст.	53.73 ± 2.67	58.73 ± 3.41	62.07 ± 1.76*	48.07 ± 0.36	48.59 ± 2.09#	54.5 ± 4.4
HCO ₃ ⁻ ммоль/л	26.23 ± 1.05	25.5 ± 0.84	21.37 ± 0.86*	28.06 ± 1.37	25.74 ± 1.32	23.71 ± 1.42*
TCO ₂ ммоль/л	27.88 ± 1.08	27.32 ± 0.92	23.21 ± 0.84*	29.48 ± 1.39	27.23 ± 1.36	25.39 ± 1.5*
ABE ммоль/л	-0.27 ± 1.2	-1.72 ± 0.72	-6.96 ± 1.27*	2.81 ± 1.44	-0.31 ± 1.35	-3.31 ± 1.42*
SBE ммоль/л	0.24 ± 1.17	-1.1 ± 0.74	-6.26 ± 1.18*	2.88 ± 1.45	-4.3 ± 1.82	-3.44 ± 1.34*
SBC ммоль/л	23.48 ± 1.01	22.11 ± 0.57	17.99 ± 1.0*	26.23 ± 1.11	23.69 ± 1.07	21.21 ± 1.09*#

Примечание: * - достоверное отличие от исходного уровня в соответствующей группе (p<0.05); # - достоверное отличие от животных 1-ой группы в соответствующий период времени (p<0.05)

достоверно не изменялись (см. табл. 2). Показатели pH, HCO₃⁻, TCO₂, ABE, SBE и SBC на протяжении ишемии-реперфузии снижались. Так, исходный уровень pH печеночной и смешанной венозной крови сдвигался к концу реперфузии с 7,308 ± 0,024 и 7,293 ± 0,015 до 7,156 ± 0,035 (p< 0,01) и 7,146 ± 0,036 (p< 0,001) соответственно. У кроликов 1-й группы в конце ишемического периода наблюдалось увеличение p50_{реал} с 32,12 ± 0,86 до 35,76 ± 1,4 (p< 0,05) и с 32,55 ± 1,05 до 36,39 ± 1,06 мм рт. ст. (p< 0,05) в печеночной и смешанной венозной крови соответственно. На 120-й минуте реперфузии в обоих образцах венозной крови значения p50_{реал} составили для печеночной 40,06 ± 1,83 (p< 0,001), а для смешанной 40,48 ± 1,89 мм рт. ст. (p< 0,01). Таким образом, возникающий при ишемии сдвиг КДО вправо сохранялся после восстановления артериального кровотока в печени (рис. 1).

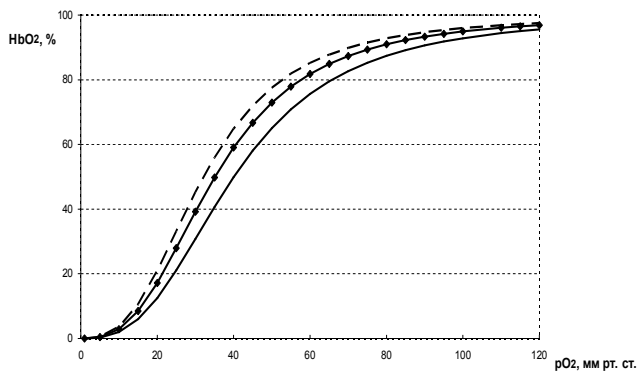


Рис. 1. Кривые диссоциации оксигемоглобина печеночной венозной крови при ишемии-реперфузии печени:

— Исходная — 2-я группа (120 мин реперфузии) — 1-я группа (120 мин реперфузии)

Таблица 2. Показатели кислородтранспортной функции смешанной венозной крови у экспериментальных животных (M ± m)

Показатель	Ишемия-реперфузия (1-я группа)			Ишемия-реперфузия + нитроглицерин (2-я группа)		
	Исходная	30 мин ишемии	120 мин реперфузии	Исходная	30 мин ишемии	120 мин реперфузии
n	10	9	7	8	8	8
p50 _{реал} мм рт. ст.	32.55 ± 1.05	36.39 ± 1.06*	40.48 ± 1.89*	30.45 ± 0.77	32.81 ± 1.31	36.34 ± 1.28*
p50 _{станд} мм рт. ст.	26.78 ± 0.7	28.76 ± 0.74	27.96 ± 0.76	27.76 ± 0.65	28.96 ± 1.24	29.7 ± 1.15
pO ₂ мм рт. ст.	35.26 ± 2.0	38.77 ± 2.18	28.89 ± 2.58	42.0 ± 2.14	44.34 ± 2.66	35.48 ± 3.14*#
pH ед.	7.293 ± 0.015	7.260 ± 0.018	7.146 ± 0.036*	7.345 ± 0.015	7.316 ± 0.012*#	7.235 ± 0.012*
pCO ₂ мм рт. ст.	55.76 ± 2.11	56.94 ± 2.92	60.2 ± 2.12	46.0 ± 1.44	47.98 ± 1.99#	56.2 ± 3.15*
HCO ₃ ⁻ ммоль/л	26.62 ± 0.89	24.66 ± 0.6	20.64 ± 0.87*	26.04 ± 0.93	24.71 ± 1.41	24.64 ± 1.91
TCO ₂ ммоль/л	28.36 ± 0.91	26.62 ± 0.67	22.5 ± 0.83*	27.46 ± 0.94	26.18 ± 1.46	25.11 ± 1.24
ABE ммоль/л	-0.22 ± 0.92	-2.59 ± 0.63	-7.73 ± 1.28*	0.66 ± 1.06	-1.29 ± 1.41	-4.01 ± 1.32*
SBE ммоль/л	0.39 ± 0.91	-1.89 ± 0.63	-7.1 ± 1.21*	0.56 ± 1.02	-1.41 ± 1.41	-4.14 ± 1.25*
SBC ммоль/л	23.66 ± 0.8	21.67 ± 0.54	17.43 ± 1.0*	24.76 ± 0.82	23.18 ± 1.1	20.1 ± 1.6*

Примечание: * - достоверное отличие от исходного уровня в соответствующей группе (p<0.05); # - достоверное отличие от животных 1-ой группы в соответствующий период времени (p<0.05)

Во 2-й группе экспериментальных животных инфузия нитроглицерина способствовала нормализации показателя pO₂ печеночной венозной крови после ишемии печени, данный показатель был ниже исходного значения всего на 5,6% (p>0,05) и выше соответствующего значения pO₂ после ишемии в 1-й группе на 64,3% (p<0,001). В конце реперфузии показатель pCO₂ смешанной венозной крови по отношению к исходному в данной группе повысился на 22,2% (p<0,05), тогда как в печеночной венозной крови данный показатель не изменялся. Показатели pH, HCO₃⁻, TCO₂, ABE, SBE и SBC на протяжении ишемии-реперфузии у животных 2-й группы снижались сходным образом как и у 1-й группы, однако снижение этих показателей было менее выраженным. Так, показатель pH в конце реперфузии в печеночной венозной крови во 2-й группе составил 7,249±0,025, тогда как в 1-й группе в соответствующем образце он был значительно ниже 7,156±0,035 (p<0,05). У кроликов 2-й группы в конце ишемического периода в печеночной и смешанной венозной крови увеличения показателя p50_{реал} не наблюдалось. На 120-й мин реперфузии в печеночной и смешанной венозной крови произошло увеличение p50_{реал} с 31,42±0,92 до 35,1±1,22 (p<0,05) и с 30,45±0,72 до 36,34±1,28 мм рт. ст. (p< 0,01) соответственно. Данное изменение p50_{реал} (сдвиг КДО вправо) в конце реперфузии у животных 2-й группы было существенно меньшим, чем у животных 1-й группы (p<0,05) (рис.1).

Результаты исследования показали, что ишемия печени сопровождалась ухудшением показателей

КТФ крови. Восстановление артериального кровотока не приводило к улучшению кислотно-щелочного состояния, более того, на протяжении 120 мин реперфузии наблюдалось развитие смешанного ацидоза, с выраженным метаболическим компонентом. Данные изменения в конце реперфузии были менее выраженными во 2-й группе животных. Так показатель рН печеночной венозной крови на 120-й мин реперфузионного периода в 1-й группе составил $7,156 \pm 0,035$, а во 2-й – $7,249 \pm 0,025$ ($p < 0,05$ по отношению к 1-й группе). Существенно выше во 2-й группе животных в конце реперфузии был и показатель SBC (см. табл. 1). Сдвиг КДО вправо после восстановления артериального кровотока в печени у животных, получавших нитроглицерин, был меньшим, чем у животных 1-й группы. Так на 120-й мин реперфузии в печеночной венозной крови показатель $p50_{\text{реал}}$ в 1-й группе составил $40,06 \pm 1,83$ мм рт.ст., а во 2-й – $35,1 \pm 1,22$ мм рт.ст. ($p < 0,05$ по отношению к 1-й группе), что, по-видимому, способствовало оптимизации потока кислорода в ткани печени в реперфузионном периоде в соответствии с их способностью к нормальной утилизации O_2 . Определенную роль в данном процессе мог играть NO, как фактор модификации функциональных свойств гемоглобина [1], что выражалось в существенных изменениях СГК у животных, получавших нитроглицерин. Таким образом, инфузия нитроглицерина при ишемии-реперфузии печени улучшает состояние КТФ крови опытных животных, что выражается в нормализации pO_2 печеночной венозной крови в конце ишемии и менее выраженных изменениях сродства гемоглобина к кислороду.

Выводы

1. Нитроглицерин улучшает отдельные показатели кислотно-основного состояния крови при ишемии-реперфузии печени у кроликов.

2. Инфузия нитроглицерина при ишемии-реперфузии печени приводит к меньшим изменениям сродства гемоглобина к кислороду, что имеет важное значение для оптимизации потока кислорода в ткани при реперфузии.

Работа частично выполнена благодаря поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (договор №Б04М-180).

Литература

1. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязующих свойств гемоглобина // Успехи физиол. наук. - 2003, № 2. - С.33-45.
2. Ходосовский М.Н., Зинчук В.В. Влияние нитроглицерина на некоторые показатели прооксидантно-антиоксидантного баланса и функциональное состояние печени при ишемии-реперфузии // Бюлл. эксперим. биол. и мед. - 2006. - № 12. - С. 631-634.
3. Uhlmann D., Uhlmann S., Spiegel H.U. Endothelin/nitric oxide balance influences hepatic ischemia-reperfusion injury. // J. Cardiovasc. Pharmacol. - 2000. - Vol.36, № 5. - P.212-214.

Resume

NITROGLYCERINE INFLUENCE ON BLOOD OXYGEN TRANSPORT FUNCTION UNDER HEPATIC ISCHEMIA-REPERFUSION IN RABBITS

M.N. Khodosovsky, N.V. Zinchuk
Grodno State Medical University

We investigated the nitroglycerine influence on parameters of blood oxygen transport in rabbits with hepatic ischemia-reperfusion. These data suggested the important role of nitroglycerine in correction of blood oxygen transport parameters under hepatic ischemia-reperfusion.

Поступила 01.02.07