

УДК: 612.014.32+612:577.4

РЕГИОНАРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ГАЗОТРАНСПОРТНОЙ ФУНКЦИИ И ПРООКСИДАНТНО- АНТИОКСИДАНТНОГО БАЛАНСА ПОРТАЛЬНОЙ КРОВИ ПРИ ОСТРОМ СТРЕССЕ

И. К. Дремза

Институт биохимии НАН Беларуси, г. Гродно

В экспериментальных исследованиях показано, что во время острого стресса у собак уменьшается портальная кровотока и сродство гемоглобина к кислороду (СГК) в портальной крови. После стресса кровотока значительно возрастает, а СГК в это время повышается. В аналогичной модели у крыс отмечаются похожие изменения СГК, одновременно после стресса активируются процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижается содержание витаминов E и A и повышается активность супероксиддисмутазы (СОД) в портальной крови. Обсуждаются регионарные механизмы изменений СГК, портального кровотока и процессов ПОЛ.

Ключевые слова: портальный кровотока, сродство гемоглобина к кислороду, перекисное окисление липидов, антиоксиданты.

The experimental investigations have shown that the portal blood flow and hemoglobin-oxygen affinity (HOA) in the portal blood decreased under the acute stress in dogs. In the post-stress period the blood flow and HOA increased. In the similar rat experimental model we have observed the same changes of HOA. In the post-stress period we have also revealed the activation of lipid peroxidation processes, decrease in vitamins E and A, activation of superoxidodismutase in the portal blood. We have discussed the regional mechanisms of changes in HOA, the portal blood flow and oxidative processes.

Key words: portal blood flow, hemoglobin-oxygen affinity, lipid peroxidation, antioxidants

Введение

Потребности тканей организма в кислороде обеспечиваются за счет адаптивных изменений кровотока и СГК [1]. Кровоток в спланхических органах обладает высокой лабильностью. Показано его снижение при мышечной работе, состояниях «напряжения» т.е. в условиях, сопровождающихся «централизацией кровообращения», а при пищеварении спланхический кровоток увеличивается [6, 15, 20, 23]. В кровь воротной вены поступают гормоны, биологически активные пептиды энтеринной системы, нутриенты из желудочно-кишечного тракта, которые прямо или косвенно влияют на гемодинамические показатели и транспорт кислорода в данном сосудистом регионе. В печеночной венозной крови содержится меньше O_2 , чем в крови воротной вены, что свидетельствует об участии портальной крови в оксигенации печени [12]. Изменения портального кровотока и СГК портальной крови при остром стрессе, в той или иной степени влияют на оксигенацию органов портальной системы и, предположительно, на кислородзависимые процессы ПОЛ в данном сосудистом регионе. В связи с этим задачей данного исследования было изучение регионарных особенностей портального кровотока, прооксидантно-антиоксидантного баланса и СГК портальной крови при остром стрессе.

Материалы и методы

Опыты выполнены на беспородных собаках (самцах) массой от 8 до 16 кг и крысах (самцах) массой 180-250 г. Острый стресс у собак вызывали раздражением индукционным током задней лапы животного, без наркоза. Ток подавался через элект-

роды, наложенные на выбритые участки кожи. Данная методика преследовала цель вовлечения в процесс возбуждения поверхностно-расположенных болевых рецепторов, при возбуждении которых вызывается типичная стрессовая «реакция защиты» [15]. При этом наблюдается активация всех уровней центральной нервной системы, что приближает опыт к реальной стрессовой ситуации. Опыты проводились спустя 7-10 дней после предварительного вживления в кровеносные сосуды катетеров для забора крови и термистора для регистрации объемной скорости портального кровотока. После предварительной адаптации к условиям опыта собаку помещали в станок и фиксировали мягкими ляжками. Вначале определяли порог болевой чувствительности, а затем, повысив напряжение тока выше пороговой величины на 30%, в течение 5-ти минут проводили прерывистую ноцицептивную электростимуляцию кожи продолжительностью по 30 с, с интервалами в 30 с. На 5-ой минуте стресса одновременно регистрировали портальный кровоток и проводили забор портальной и смешанной венозной крови из катетеров. Острый стресс у крыс вызывали действием комплекса раздражителей. Экспериментальных животных помещали поодиночке в отдельные ячейки клетки, на решетчатый металлический пол которой ритмично подавался ток (0,5 Гц, 10 мА) с перемежающимися световыми и звуковыми раздражителями в течение 10 минут. Забор крови проводили под тиопенталовым наркозом (40-60 мг/кг) сразу же после стресса у половины опытных животных, а у другой половины через 30 мин после стресса (группы постстресса).

Содержание гемоглобина (Hb) в крови определяли спектрофотометрически. Средство гемоглобина к кислороду оценивали методом смешивания в модификации Борисюка М.В. и соавт. [14] по показателю $p50$. $P_{50\text{станд}}$ измеряли в стандартных условиях ($pH = 7,4$; $pCO_2 = 40$ мм рт. ст. и $t = 37^0$ C), а $p50_{\text{реальн}}$ рассчитывали для реальных значений pH , pCO_2 и $t^{\circ}C$, определяемых в ходе эксперимента. Измерения газового состава крови и показателей кислотно-основного состояния проводили на микрогазоанализаторе ABL-330 "Radiometer" (Дания). Объемную скорость портального кровотока (ОСПК) определяли методом терморазведения [13]. Потребление кислорода (PO_2 , мл O_2 /мин) органами портальной системы рассчитывали по известной формуле Фика: $PO_2 = Q \cdot (VaO_2 - VпO_2)$, где: Q – портальный кровоток (мл/мин), VaO_2 – содержание кислорода в артериальной крови (мл O_2 /100 мл крови), $VпO_2$ – содержание кислорода в портальной крови (мл O_2 /100 мл крови). Удельные величины портального кровотока рассчитывали на 100 г ткани, используя % соотношения веса органов и массы тела [18].

Для оценки прооксидантно-антиоксидантного баланса в крови определяли продукты ПОЛ: диеновые конъюгаты (ДК) [11], малоновый диальдегид (МДА) [22], основания Шиффа (ОШ) [19], факторы антиоксидантной защиты: активность супероксиддисмутазы (СОД) [16], содержание а-токоферола и ретинола [17].

Результаты и их обсуждение

Во время стресса у собак наблюдается существенное снижение объемной скорости портального кровотока (ОСПК) (рис. 1). В постстрессовый период кровоток нормализуется, а к 30-ой минуте постстресса значительно возрастает относительно исходных показателей и особенно показателей стресса. Это увеличение кровотока после стресса, вероятно, является компенсаторным в ответ на предшествующее его снижение во время стресса, и направлено на удовлетворение «кислородного долга» органов портальной системы. PO_2 органами портальной системы во время стресса также уменьшается и возрастает после него (рис. 1), т. е. имеет место такая же динамика его изменений,

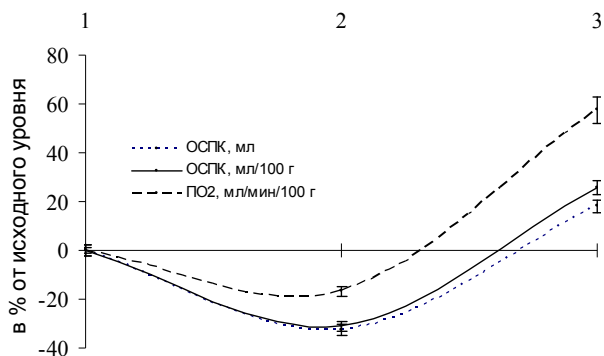


Рис. 1. Изменения кровотока и потребления кислорода органами портальной системы в динамике острого стресса (1 - до стресса, 2 - во время стресса, 3 - после стресса).

как и портального кровотока. Это свидетельствует о тесной зависимости потребления O_2 от величины кровотока в органах портальной системы. Однако, следует отметить непропорциональность снижения кровотока и поглощения кислорода во время стресса. Так, кровоток при стрессе уменьшается более чем на 30 ± 4 %, а потребление кислорода только на 16 ± 3 %.

Очевидно, что в поддержание достаточно высокого уровня поглощения O_2 органами портальной системы при уменьшении кровотока во время стресса вносят вклад другие механизмы, в частности, кислородсвязывающие свойства портальной крови. Исследование показало достоверное увеличение стандартного и реального показателей SGK - $p50$ в крови воротной вены во время стресса, что свидетельствует о снижении ее сродства к кислороду (табл. 2).

Таблица 1. Изменения показателей газотранспортной функции смешанной венозной крови собак при остром стрессе ($M \pm m$, $n=13$)

Показатели	До стресса	Во время стресса	30 минут после стресса
Содержание HbO_2 (%)	58,17±1,86	57,04±1,74	57,19±1,38
Содержание Hb (г/л)	132,50±2,67	134,04±2,47	129,92±3,12
pH (ед.)	7,396±0,012	7,374±0,012	7,375±0,012
pO_2 (мм рт. ст.)	48,78±1,38	50,88±1,12	50,69±1,12
pCO_2 (мм рт.ст.)	35,72±1,18	39,78±1,01*	41,50±1,23*
$p50_{\text{станд}}$ (мм рт.ст.)	30,49±0,69	30,91±0,62	32,38±0,44*
$p50_{\text{реальн}}$ (мм рт.ст.)	30,68±0,83	31,84±0,72	33,31±0,60*
$СvO_2$ (мл/л)	103,06±3,56	102,15±2,98	99,31±2,79
ABP (O_2) (мл/л/мин)	63,10±2,88	67,86±3,88	63,90±3,02
ABE (ед.)	-2,50±0,48	-1,54±0,49	-0,88±0,48*

* - $P < 0,05$ – по сравнению с исходными данными.

Таблица 2. Изменения показателей газотранспортной функции портальной крови собак при остром стрессе ($M \pm m$, $n=13$)

Показатели	До стресса	Во время стресса	30 минут после стресса
Содержание HbO_2 (%)	67,63±1,80 [#]	63,19±1,77 [#]	60,31±1,32*
Содержание Hb (г/л)	132,38±2,64	136,65±2,99	130,69±2,98
pH (ед.)	7,419±0,014	7,378±0,010*	7,385±0,012
pO_2 (мм рт. ст.)	49,15±1,48	56,98±1,01* [#]	52,62±1,30
pCO_2 (мм рт.ст.)	35,62±0,91	45,71±1,34* [#]	41,47±1,10*
$p50_{\text{станд}}$ (мм рт.ст.)	28,98±0,49 [#]	34,83±0,30* [#]	32,85±0,49*
$p50_{\text{реальн}}$ (мм рт.ст.)	28,42±0,64 [#]	35,73±0,62* [#]	33,41±0,57*
$СvO_2$ (мл/л)	119,68±3,32 [#]	115,26±3,03 [#]	105,45±2,96*
ABP (O_2) (мл/л/мин)	46,48±2,95 [#]	54,75±3,39 [#]	57,75±2,88*
ABE (ед.)	-1,30±0,48	1,40±0,40* [#]	-0,2±0,44

* - $P < 0,05$ – по сравнению с исходными данными.

- $P < 0,05$ – по сравнению с показателями смешанной крови

Регионарные особенности кислородтранспортной функции (КТФ) портальной крови оценивали путем вычитания из ее показателей газотранспортных показателей смешанной венозной крови (табл. 1-2, рис. 2), которая показала их существенные различия в динамике эксперимента. Так, до стресса содержание HbO_2 в портальной крови (рис. 2, 1) было более высоким в отличие от смешанной крови. Во время опыта и через 30 минут после него разность в содержании HbO_2 между портальной и смешанной кровью уменьшалась, преимущественно за счет снижения его в портальной крови. Во время и после стресса отмечено незначительное положительное различие в содержании Hb (рис. 2, 2) между портальной и смешанной кровью. Кроме того, во время стресса существенной разницы достигают напряжение кислорода (pO_2) и углекисло-

го газа (pCO_2) (рис. 2, 4-5, соответственно). В портальной крови pO_2 повышается во время стресса, в то время как в смешанной крови практически не изменяется. Эта разница для pO_2 сохраняется и после стресса, хотя ее величина существенно уменьшается. Повышение pO_2 в портальной крови во время стресса коррелирует со снижением SGK. Так, различия стандартного и реального показателей SGK - $p50$ (рис. 2, 6-7, соответственно) портальной и смешанной венозной крови были достоверно значимы до стресса и во время него. Следует отметить, что при исходных значениях показателей эта разница была отрицательной, во время стресса стала положительной и не отличалась после стресса. Обобщая полученные результаты, в целом следует отметить, что различия между показателями КТФ портальной и смешанной венозной крови при остром стрессе у собак были вызваны изменениями в портальной крови и коррелировали с изменениями портального кровотока, в то время как показатели смешанной крови были более стабильны.

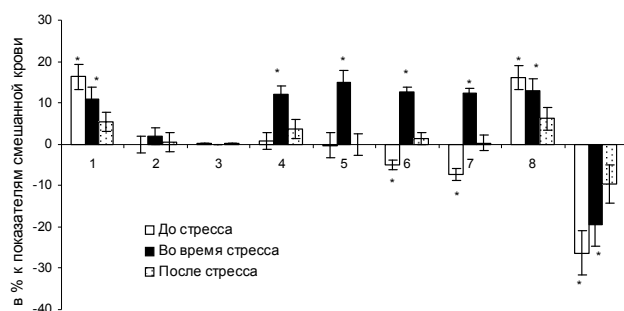


Рис 2. Изменения разности показателей портальной и смешанной венозной крови при остром стрессе (1 - HbO₂, 2 - Hb, 3 - pH, 4 - pO₂, 5 - pCO₂, 6 - p50 ст., 7 - p50 реал., 8 - SvO₂, 9 - ABP(O₂)).

В модели острого стресса у крыс отмечалась такая же, но менее выраженная динамика показателя КТФ портальной крови ($p50$ реал.) в группах постстресса (табл. 3). Кроме того, показатели $p50$ ст. и $p50$ реал. в портальной крови имели более высокие значения во всех группах животных (табл. 4), что свидетельствует о более низком SGK портальной крови в сравнении со смешанной кровью. Однако, из-за высокой дисперсии выборки достоверность выявлялась не во всех случаях. Обнаружено повышение активности процессов ПОЛ в портальной крови крыс сразу же после стресса, что проявляется в увеличении содержания ДК и свидетельствует об активации ПОЛ на стадии инициации. Через 30 мин после стресса содержание ДК снижается, но не достигает контро-

ля. Нами не обнаружено существенных изменений в наработке ОШ и одного из конечных продуктов ПОЛ – МДА. В это же время в смешанной венозной крови в группах постстресса значимой активации ПОЛ не отмечалось (табл. 4).

Таблица 3. Показатели SGK и проокислительно-антиокислительного баланса портальной крови крыс в динамике острого стресса. (M±m, n=8)

Показатели	Контроль	После стресса	30 мин после стресса
p50 ст., мм рт.ст.	32,72±0,79	34,06±0,82	35,23±0,56*
p50 реал., мм рт.ст.	38,78±1,22*	38,65±1,05	37,34±0,58
СОД (% блокирования)	75,3±2,2	50,3±2,4*	61,9±1,9*
α-токоферол (нмоль/мл)	18,90±1,21	15,21±0,97*	15,61±0,84*
Ретинол (нмоль/мл)	2,18±0,15	1,49±0,14*#	1,53±0,12*
ДК (? E ₂₂₃ , Ед)	0,73±0,17	2,65±0,41*#	1,73±0,26*
ОШ (Ед)	28,0±6,56	27,5±3,5*	28,37±1,5*
МДА (нмоль/мл)	0,90±0,20	1,28±0,22	1,31±0,18

* - P<0,05 – по сравнению с исходными данными.

- P<0,05 – по сравнению со смешанной кровью.

Таблица 4. Показатели SGK и проокислительно-антиокислительного баланса смешанной венозной крови крыс в динамике острого стресса. (M±m, n = 8)

Показатели	Контроль	После стресса	30 мин после стресса
p50 ст., мм рт.ст.	30,27±0,79	31,70±1,32	29,53±0,62
p50 реал., мм рт.ст.	34,26±0,99	34,82±1,60	35,41±0,94
СОД (% блокирования)	80,1±3,4	49,1±5,0*	53,22±2,6*
α-токоферол (нмоль/мл)	23,3±2,13	16,2±0,91*	17,6±0,82*
Ретинол (нмоль/мл)	2,24±0,12	1,91±0,11	2,14±0,13
ДК (? E ₂₂₃ , Ед)	1,11±0,13	1,57±0,27	1,64±0,32
ОШ (Ед)	14,2±2,7	18,4±2,3	17,92±1,5
МДА (нмоль/мл)	1,35±0,12	1,57±0,13	1,62±0,17

* - P<0,05 – по сравнению с исходными данными

Это может быть связано с поддержанием достаточно высокой активности антиокислительных систем при остром стрессе. Сразу же после стресса достоверно снижается содержание антиокислительных витаминов Е и А и активность СОД в портальной крови, а в смешанной крови снижается только содержание витамина Е и активность СОД. В 30-ти минутный постстрессовый период эти показатели имеют тенденцию к повышению, что свидетельствует о включении адаптивных процессов. В частности, повышение содержания витаминов может быть связано с их перераспределением в организме или выбросом из депо.

Таким образом, эксперименты показали, что при остром стрессе у собак и крыс наблюдается более выраженное изменение показателей газотранспортной функции портальной крови в сравнении с их системными значениями (смешанной венозной кровью). В смешанной венозной крови у собак снижается только SGK и повышается pCO_2 после стресса. Снижение SGK, по всей видимости, обусловлено повышением уровня 2,3 ДФГ в эритроцитах [3] и влиянием факторов тканевого метаболизма: pCO_2 , pH и др. при стрессе [8, 10]. Более высокое pCO_2 после стресса свидетельствует о том, что в организме все еще продолжают процессы, связанные с восстановлением активированного стрессом метаболизма. Обнаруженное в портальной крови во время стресса незначительное увеличение содержания Hb, может быть обусловлено выбросом резервных эритроцитов из депо спланхических органов [2, 4]. На фоне снижения

спланхического кровотока во время стресса уменьшается СГК портальной крови, что создает условия для более выраженной диссоциации HbO_2 в органах портальной системы в сравнении со смешанной кровью. Предполагается, что повышение СГК портальной крови после стресса обусловлено значительным возрастанием портального кровотока. Подобная зависимость СГК от органного кровотока является одним из механизмов интраорганный регуляции обеспечения тканей O_2 и одним из физиологических механизмов защиты от избыточного количества кислорода [1, 5, 21]. Изменения СГК портальной крови отражаются на ее $\text{ABP}(\text{O}_2)$ по кислороду. Обнаруженное нами увеличение $\text{ABP}(\text{O}_2)$ портальной крови на фоне снижения ее СГК свидетельствует о более значимой регионарной экстракции O_2 в органах портальной системы во время стресса. Указанный механизм не требует дополнительных энергозатрат и способствует поддержанию оксигенации органов портальной системы и печени при стрессе. Однако, следует отметить, что суммарное потребление O_2 в органах портальной системы во время стресса все же уменьшается, несмотря на повышенную деоксигенацию крови. Очевидно, что освобождаемый в это время из связи с гемоглобином вследствие снижения СГК большой объем кислорода используется на поддержание аэробного обмена и, в меньшей степени, на наработку АФК. После стресса отмечается компенсаторное усиление оксигенации органов портальной системы и печени, что, в свою очередь, усиливает кислородзависимое ПОЛ в портальной крови. Однако, процессам ПОЛ препятствует достаточно высокая активность систем антиоксидантной защиты, в результате чего не происходит значительного накопления вторичных пероксидных метаболитов: МДА и ОШ. Полученная в нашей модели зависимость изменений активности процессов ПОЛ от параметров, характеризующих СГК и кровотока, напоминает изменения, наблюдаемые при ишемии/реперфузии [9] и предполагает существование автономных механизмов саморегуляции кислородзависимых окислительных процессов в органах портальной системы [7]. Во время стресса портальный кровоток уменьшается (функциональная ишемия органов портальной системы), а после стресса возрастает (реперфузия).

Литература

1. Борисюк М.В. Система транспорта кислорода // Сб. научных трудов под ред. М.В. Борисюка.- Гродно. - 1989.- С.3-5.
2. Волжская А.М., Трошихин Г.В. Изменения кислородтранспортных свойств крови у животных после пребывания в нормоксической среде повышенной плотности // Физиол. Журнал СССР. - 1987. - Т. 73. - № 7. - С. 908-912.
3. Воронова И.Н. Сродство гемоглобина к кислороду при некоторых патологических состояниях организма // Дисс. ... канд. биол. наук / Сыктывкар.-1978.- 164 с.
4. Гельгорн Э., Лубфорроу Д. Эмоции и эмоциональные расстройства. - М. Мир. - 1966. - 672 с.
5. Герасимов Ф.М., Деленя Н.В., Шаов М.Т. Формирование системы противокислородной защиты организма / Под ред.Е.А. Коноваленко.-М.-1998.-187 с.
6. Джонсон П. Периферическое кровообращение.-М.: Медицина.-1982.- 440 с.

7. Дремза И.К., Мальцев А.Н., Арцукевич А.Н. Динамика измененной кислородтранспортной функции крови и свободнорадикальных процессов в микросомах печени при стрессе // Новости медико-биологических наук. News of Biomedical Sciences. 2005. - № 2. - С. 77-84.
8. Зинчук В.В., Максимович Н.А., Борисюк М.В. Функциональная система транспорта кислорода: фундаментальные и клинические аспекты // Под ред. В.В. Зинчука.- Гродно.: ГГМУ, 2003.- 236 с.
9. 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.
10. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Роль кислородсвязующих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма // Успехи физиологических наук. - 1999. - Т.30, № 3.- С. 38-48.
11. Костюк В.А., Потапович А.И., Лунец Е.Ф. Спектрофотометрическое определение дневных конъюгатов // Вопр. мед. Химии. - 1984. - Т. 30. - вып. 4. - С. 125-127.
12. Селезнев С.А. Печень в динамике травматического шока. / Л.: Медицина, 1971.- 118 с.
13. Селезнев С.А., Вашетина С.М., Мазуркевич Г.С. Комплексная оценка кровообращения в экспериментальной патологии - Л.: Медицина, 1976.- 205 с.
14. Сродство гемоглобина к кислороду / М.В. Борисюк, М.А. Добродей, И.К. Дремза, В.В. Зинчук // Методы исследования массопереноса в системе микроциркуляции.- Новосибирск.: Наука. Сиб. отд.- 1991.- С.156-162.
15. Фолков Б., Нил Э. Кровообращение. - М.: Медицина, 1976.- 426 с.
16. Чавари С., Чаба И., Секей И. Роль СОД в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах // Лаб. Дело. - 1985. - № 11. - с. 678 - 681.
17. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное флуориметрическое определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // Лаб. дело - 1984. - № 6. - С. 362-365.
18. Шошенко К.А. Кровеносные капилляры. - Новосибирск.: Наука.-1975.-374 с.
19. Fletcher B.L., Dillard C.J., Tappel A.L. Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes // Analyt. Biochem.-1973.-Vol. 52.-№ 1.- P. 1-9.
20. Folkow B. Regulation of the peripheral circulation // Brit. Heart J. - 1971 - Vol. 33. - Suppl. - P. 27-31.
21. Resuscitation with 100% oxygen causes intestinal glutathione oxidation and reoxygenation injury in asphyxiated newborn piglets / E. Haase, D.L. Bigam, Q.B. Nakonechny et al. // Ann Surg.- 2004.- Vol. 240, № 2.- P 364-373.
22. Rice-Evans C.A., Diplock A.T., Symons M.C.R. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology // Amsterdam-London- N.Y. - 1991. - 297 p.
23. Splanchnic circulation and regional sympathetic outflow during peroperative PEEP ventilation in humans / A. Aneman, G. Eisenhofer, L. Fandriks, et al. // Br J. Anaesth.- 1999.- Vol. 82, № 6.- P. 838-842.

Resume

REGIONAL CHANGES OF GASE-TRANSPORT FUNCTION AND PROOXIDATIVE-ANTIOXIDATIVE BALANCE IN PORTAL BLOOD UNDER ACUTE STRESS

Dremza I.K.

Institute of Biochemistry National Academy of Sciences of Belarus, Grodno

The portal blood flow and hemoglobin-oxygen affinity (HOA) in the portal blood decrease under the acute stress in dogs. In the post-stress period the blood flow and HOA increased. In the similar rat experimental model we have observed the same changes in HOA. The activation of lipid peroxidation processes, decrease in vitamins E and A, and activation of superoxidizedismutase. We have discussed the regional mechanisms of changes in HOA, the portal blood flow and oxidative processes.

Поступила 14.02.06