

Вербицкая В.С., Корпачева О.В.

*Омская государственная медицинская академия,
г. Омск.*

ВЛИЯНИЕ АРГИНИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ В ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ УШИБА СЕРДЦА

Цель исследования – оценка влияния аргинина на функциональное состояние печени в посттравматическом периоде ушиба сердца.

Материалы и методы. На оригинальной экспериментальной модели ушиба сердца исследовали активность аланинаминотрансферазы (АлАТ), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) и холинэстеразы (ХЭ), содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) в плазме и на эритроцитах крови воротной и нижней полой вен крыс через 1, 3 и 6 часов, 1, 3, 5 и 7 суток после моделирования тупой травмы сердца.

Результаты. Повышение активности АлАТ, ГГТ и снижение активности ХЭ, повышение содержания ВНСММ в плазме и на эритроцитах как воротной, так и нижней полой вены со значительным увеличением доли катаболической составляющей; в условиях применения аргинина – нарастание значений маркеров цитолиза, холестаза и нарушения белок-синтезирующей функции печени, а также степени эндотоксемии через 6 часов после травмы с последующей «нормализацией» этих же показателей в различные сроки посттравматического периода.

Заключение. Повышение активности маркеров цитолиза и холестаза указывает на повреждение гепатоцитов, снижение белоксинтезирующей функции печени и увеличение содержания ВНСММ в крови нижней полой вены – о формировании печеночной недостаточности. Влияние аргинина на функциональное состояние печени травмированных животных носит фазный характер: при избыточном синтезе оксида азота препарат усиливает повреждение органа, а в условиях нормализации кислородзависимых синтаз оказывает гепатопротекторное действие. Одним из механизмов повреждения печени при ушибе сердца является активация свободнорадикальных процессов, вызванная избыточным в условиях гипоксии образованием оксида азота.

Ключевые слова: экспериментальный ушиб сердца; функции печени; аргинин; оксид азота.

Verbitskaya V.S., Korpacheva O.V.
Omsk State Medical Academy, Omsk

EFFECT OF ARGININE ON LIVER FUNCTIONAL STATE IN POSTTRAUMATIC PERIOD OF CARDIAC CONTUSION

The goal of the investigation – to assess arginine effect on the liver function in a posttraumatic period of the heart contusion.

Materials and methods used. On the original experimental bruised heart model the activity of alanine aminotransferase (ALT), Gamma glutamyltransferase (GGT), choline esterase (ChE), content of low and medium molecular weight (SL MMW) in rat portal vein and inferior vena cava blood plasma and on erythrocytes in 1, 3 and 6 hours, 1, 3, 5 and 7 days after blunt heart injury simulation were studied.

The results showed. Increase of ALT, GGT activity, decrease of (ChE) activity, (SL MMW) elevation in plasma and on erythrocytes both portal and inferior vena cava when significant share increase of catabolic component; when arginine using – intensification of cytolysis, cholestasis markers value and proteinsintezing liver function violation as well as endotoxemia extent in 6 hours after injury with the same indicators further "normalization" in different terms of post-traumatic period.

Conclusion. Increase of cytolysis and cholestasis activity markers indicates the hepatocytes damage, decrease of proteinsintezing liver function and (SL MMW) content elevation in inferior vena cava blood – the liver insufficiency forming. Effect of arginine on the liver functional state of traumatized animals has a phase character: In the excessive synthesis of nitric oxide the preparation increases a body damage and in the condition of oxygen-binded synthases normalization has a hepatoprotective effect. One of the liver damage mechanisms during contusion of the heart is the activation of free radical processes, caused by excessive in the context of hypoxia nitric oxide formation.

Key words: experimental heart injury; liver function; arginine; nitric oxide.

Ушиб сердца сопровождается снижением производительной функции сердца с развитием циркуляторной гипоксии [1], что наряду с другими факторами травматического повреждения (окислительный стресс, эндотоксемия, нарушения реологических свойств крови) может вызывать нарушения функций экстрацеллюлярных органов, в том числе печени. Одним из патогенетических факторов повреждения печени в условиях гипоксии может быть избыточное образование оксида азота.

Оксид азота является одним из важнейших медиаторов многих физиологических и патологических процессов. Данная сигнальная молекула образуется в результате метаболизма L-аргинина. Синтазный путь образования оксида азота реализуется в условиях нормальной доставки кислорода к тканям. Образовавшийся оксид азота обеспечивает улучшение гемодинамики за счет вазодилатации и торможения адгезии и агрегации тромбоцитов, а также оказывает протекторное действие путем усиления синтеза белков теплового шока и повышения выработки анаболических гормонов [2, 3].

Однако в условиях гипоксии происходит ингибирование синтазного механизма и активация более

мощного нитритредуктазного, что приводит к избыточному образованию оксида азота и активации свободнорадикальных процессов с усилением апоптоза и некроза [4, 5]. Ряд литературных источников указывают на разнонаправленные модулирующие эффекты оксида азота в регуляции гемодинамических показателей и метаболических функций печени [4, 6].

Данные об использовании аргинина при ушибе сердца в литературе отсутствуют. Исследование этого вопроса позволит, с одной стороны, детализировать механизмы гипоксического повреждения печени, а с другой – оценить возможность использования аргинина с целью гепатопротекции в условиях тупой травмы сердца.

Цель исследования – оценить влияние аргинина на функциональное состояние печени в посттравматическом периоде ушиба сердца.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 110 белых беспородных крысах-самцах массой 250-300 г, наркотизированных тиопенталом натрия в дозе 25 мг/кг массы внутривенно, в соответствии Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных (Страсбург, 1986) [7]. В эксперимент животных брали спустя 10-12 часов после еды при свободном доступе к воде. Ушиб сердца моделировали с помощью оригинального устройства, имитирующего удар передней

Корреспонденцию адресовать:

КОРПАЧЕВА Ольга Валентиновна,
644046, г. Омск-46, ул. Маяковского, д. 44, кв. 9.
Тел.: 8 (3812) 23-03-78; 8 (3812) 30-15-97; +7-960-998-63-44.
E-mail: olgkor@mail.ru

грудной стенки о стойку руля при столкновении движущегося автомобиля с препятствием [8].

Контрольную группу составили 10 интактных животных, наркотизированных тиопенталом натрия. В первой серии экспериментов в опытные группы вошли 70 животных с исследованием активности аланинаминотрансферазы (АлАТ), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) и холинэстеразы (ХЭ) в сыворотке крови, а также содержание веществ низкой и средней молекулярной массы (ВНСММ) в плазме и на эритроцитах крови воротной и нижней полой вены через 3 и 6 часов, 1, 3, 5 и 7 суток после моделирования тупой травмы сердца. Содержание ВНСММ исследовалось отдельно в плазме и на эритроцитах крови воротной вены по методике М.Я. Малаховой [9].

Во второй серии экспериментов, перед моделированием тупой травмы сердца и в течение всего посттравматического периода, животные получали L-аргинин энтерально в виде водного раствора в дозе 250 мг/кг в сутки [10]. Исследование показателей выполнялось вышеперечисленными методами в наиболее «критических» исследовательских точках: активности АлАТ, ГГТ, ХЭ – через 6 часов, 5 и 7 суток после травмы, ВНСММ – через 6 часов, 1 сутки и 5 суток.

Статистическую обработку результатов выполняли на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0. Рассчитывали следующие показатели: среднее значение (М), стандартное отклонение (σ), медиана (Ме), минимум (минимальное значение), максимум (максимальное значение), нижний квартиль (LQ25) и верхний квартиль (HQ75). Характер распределения данных проводили по статистическим критериям Шапиро-Уилка. В связи с неравномерным распределением данных в контрольной и опытных группах использовали методы непараметрической статистики с расчетом критерия Манна-Уитни для сравнения двух независимых групп. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05 [11].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты исследования активности ферментов плазмы крови экспериментальных животных представлены в таблице 1. Статистически значимое по сравнению с контрольными значениями увеличение активности АлАТ зарегистрировано через 6 часов (на 100 %) и 5 суток (на 59 %) после травмы. Увеличение активности ГГТ зарегистрировано через 3, 6 часов, 1 и 7 суток на 25 %, 82 %, 43 % и 98 %, соответственно. Снижение активности ХЭ на 26 % происходило через 6 часов после травмы.

В группе животных, получавших аргинин, через 6 часов после моделирования ушиба сердца зарегистрировано увеличение активности АлАТ и ГГТ практически в 2 раза и снижение активности ХЭ на 46 % по сравнению с контролем.

При сравнении показателей в группах травмированных животных также выявлены определенные различия. Через 6 часов после травмы в группе животных, получавших аргинин, зарегистрировано снижение активности ХЭ на 32 % по сравнению с группой без аргинина. Однако к концу 5 суток посттравматического периода зарегистрировано снижение активности АлАТ на 25 %, а к концу 7 суток – снижение активности ГГТ на 30 %.

Достоверный прирост (на 50 % по отношению к контролю) содержания ВНСММ на эритроцитах крови воротной вены зарегистрирован уже через 3 часа после моделирования ушиба сердца (табл. 2). В исследовательской точке 6 часов отмечалось увеличение содержания эндотоксинов воротной вены в плазме и на эритроцитах на 46 % и 59 %, соответственно. Через 1 сутки после травмы было повышено содержание ВНСММ в плазме и на эритроцитах крови воротной вены (на 80 % и 100 %) и нижней полой вены (на 23 % и 98 %). Через 5 суток после травмы прирост ВНСММ отмечался в плазме и на эритроцитах крови нижней полой вены (на 45 % и 73 %). Качественный состав ВНСММ в плазме крови и на эритроцитах крови воротной и нижней полой вен характеризовался значительным увеличением доли каталитической составляющей на длинах волн 238-266 нм в 1,5-2 раза по сравнению с контролем.

Таблица 1
Влияние аргинина на активность АлАТ, ГГТ и ХЭ (Ед/л) сыворотки крови крыс в посттравматическом периоде ушиба сердца, Ме [LQ;HQ]

Этапы эксперимента	Аланинамино-трансфераза	γ -глутамил-трансфераза	Холинэстераза
Контроль	13,5[11,9; 16,3]	2,2[1,8; 2,6]	8303[7619; 9209]
Посттравматический период			
3 ч	12,8 [10,4; 13,6]	2,8 [2,5; 3,5]*	7809[7452; 9561]
6 ч	26,9 [23,3; 31,4]*	4,0[3,6; 4,2]*	6578 [5202; 7602]*
1 сут	13,7 [11,6; 30,5]	3,2 [2,7; 3,9]*	7862[7204; 8553]
3 сут	14,1[10,7; 15,0]	2,1 [1,5; 2,9]	8831 [7402; 10011]
5 сут	21,4 [19,4; 26,3]*	2,8 [2,4; 3,9]	8434 [6839; 9939]
7 сут	14,2 [12,4; 15,7]	4,4 [3,6; 5,7]*	8013 [7432; 9525]
Посттравматический период с введением аргинина			
6 ч	27,2 [20,8; 37,1]*	4,4 [3,9; 4,8]*	4499 [3504; 5202]*^
5 сут	15,95 [13,3; 18,7]^	2,3 [2,1; 3,9]	9563 [6905; 11939]
7 сут	16,15 [14,0; 18,3]	3,1 [2,1; 3,7]^	9199 [8580; 11000]

Примечание: * достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с контролем; ^ достоверность различий ($p < 0,05$) по сравнению с группой травмированных животных без введения аргинина.

Сведения об авторах:

ВЕРБИЦКАЯ Валерия Сергеевна, аспирант, кафедра патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии, ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России, г. Омск, Россия. E-mail: sonatanumero7@mail.ru

КОРПАЧЕВА Ольга Валентиновна, доктор мед. наук, доцент, профессор кафедры патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии, ГБОУ ВПО ОмГМА Минздрава России, г. Омск, Россия. E-mail: olgkor@mail.ru

Таблица 2
Содержание ВНСММ (усл. ед.) в плазме
и на эритроцитах крови воротной и нижней полой вен
в посттравматическом периоде ушиба сердца, Me [LQ; HQ]

Этапы эксперимента		ВНСММ			
		Плазма	%	Эр. масса	%
Контроль	ВВ	5,52 [5,37; 5,64]	100	3,99 [2,82; 4,28]	100
	НПВ	5,27 [5,11; 5,38]	100	3,62 [2,74; 4,13]	100
Посттравматический период					
3 ч	ВВ	5,56 [5,47; 5,66]	101	6,08 [5,38; 6,46]***	152
	НПВ	5,35 [5,24; 5,46]	102	3,63 [3,06; 3,87]	100
6 ч	ВВ	8,25 [8,18; 8,92]***	146	6,33 [5,88; 6,88]***	159
	НПВ	5,34 [5,3; 5,54]	101	3,63 [2,74; 4,12]	100
1 сут	ВВ	9,48 [9,30; 9,88]***	180	7,98 [7,54; 8,34]***	200
	НПВ	6,49 [5,54; 7,76]**	123	7,17 [4,42; 8,54]***	198
3 сут	ВВ	5,53 [5,41; 5,82]	100	4,23 [3,12; 4,41]	106
	НПВ	5,4 [5,34; 5,68]	102	4,03 [3,23; 5,25]	111
5 сут	ВВ	5,53 [5,47; 5,73]	100	4,05 [3,1; 4,48]	102
	НПВ	7,66 [6,57; 8,46]**	145	6,28 [5,42; 6,42]***	173
7 сут	ВВ	5,68 [5,40; 5,94]	103	3,99 [2,92; 4,48]	100
	НПВ	5,48 [5,08; 5,74]	104	3,96 [3,23; 4,48]	109
Посттравматический период с введением аргинина					
6 ч	ВВ	8,79 [8,22; 10,08]***	159	6,41 [6,01; 6,74]***	161
	НПВ	6,01 [5,31; 6,53]^^^	109	4,11 [3,57; 4,44]^^^	103
1 сут	ВВ	5,63 [5,03; 5,71]	107	4,02 [3,23; 4,5]^^^	111
	НПВ	5,56 [4,93; 5,68]^^^	106	3,96 [3,23; 4,5]^^^	109

Примечание: ВВ - воротная вена; НПВ - нижняя полая вена; достоверность различий по сравнению с контролем: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; достоверность различий по сравнению с группами травмированных животных без введения аргинина: ^ $p < 0,05$, ^^ $p < 0,01$, ^^ $p < 0,001$.

У животных, получавших аргинин, увеличение содержания ВНСММ в крови воротной вены происходило через 6 часов после травмы (на 59 % в плазме и на 61 % на эритроцитах). В последующие сроки статистически значимых изменений содержания токсинов в крови не наблюдалось.

При сравнении показателя эндогенной интоксикации травмированных животных без применения аргинина и получавших аргинин отмечено статистически значимое снижение содержания ВНСММ у последних. К концу 1 суток снижение составило 58 % в плазме, 94 % на эритроцитах крови воротной вены и 79 % на эритроцитах крови нижней полой вены; через 5 суток после травмы снижение составило 38 % в плазме и 59 % на эритроцитах крови нижней полой вены.

ОБСУЖДЕНИЕ

Повышение активности АлАТ и ГГТ как ферментов цитолиза и холестаза, а также снижение актив-

ности ХЭ свидетельствует о повреждении печени. В первые часы после травмы повреждение печени может быть обусловлено снижением перфузии органа и изменением реологических свойств крови, а в более поздние сроки – повреждающим действием свободных радикалов и эндотоксинов [9, 12]. Увеличение доли катаболической составляющей ВНСММ в крови воротной вены свидетельствует о нарушении функции кишечного барьера и проникновении в кровоток эндотоксинов, образовавшихся в результате ишемии, гипоксии, действия свободных радикалов, бактериальных токсинов, протеолиза [9, 12].

Увеличение содержания ВНСММ в крови нижней полой вены может быть результатом недостаточности детоксикационной системы печени, обусловленной как энтероэндотоксемией, так и повреждением гепатоцитов [9, 12].

Поступление в организм аргинина как донора оксида азота стимулирует его образование [4, 8]. Однако в условиях дефицита кислорода блокируется NO-синтазный механизм и активируется нитритредуктазный, мощность которого значительно превосходит NO-синтазный путь [4, 5]. Избыток оксида азота в совокупности с образованием супероксидных анион-радикалов приводит к образованию высокорекреационного пероксинитрита. Под действием свободных радикалов происходит активация апоптоза и некроза. Увеличение активности АлАТ и ГГТ (маркеров цитолиза и холестаза), снижение активности ХЭ, характеризующей синтетическую функцию печени, в первые часы после травмы у животных, получавших аргинин, позволяет предполагать участие именно этого механизма повреждения печени в условиях тупой травмы сердца.

По этому же механизму высокие дозы оксида азота вызывают угнетение сократительной функции миокарда и мощную вазодилатацию [4, 5], что может обуславливать характерные для ушиба сердца нарушения центральной гемодинамики в виде синдрома малого сердечного выброса и артериальной гипотензии [1].

При восстановлении активности NO-синтазы уровень оксида азота становится близким к физиологическому, и выполняется его протекторная функция. Последняя может быть реализована повышением синтеза белков теплового шока, анаболическим действием соматотропного гормона, усилением трофики гепатоцитов при умеренной вазодилатации и нормализации реологических свойств крови [3]. Отражением протекторной роли оксида азота в эксперименте явилось уменьшение выраженности энтероэндотоксемии к концу 1 суток посттравматического периода, снижение активности маркеров повреждения печени: АлАТ (к концу 5 суток) и ГГТ (к концу 7 суток).

Information about authors:

VERBITSKAYA Valeria Sergeevna, postgraduate student, department of pathologic physiology with course of clinical pathophysiology, Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia. E-mail: sonatanumero7@mail.ru

KORPACHYOVA Olga Valentinovna, doctor of medical sciences, docent, professor of department of pathologic physiology with course of clinical pathophysiology, Omsk State Medical Academy, Omsk, Russia. E-mail: olgkor@mail.ru

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повышение активности АЛАТ и ГГТ как маркеров цитолиза и холестаза указывает на повреждение гепатоцитов, а снижение активности холинэстеразы сыворотки крови и увеличение содержания ВНСММ крови нижней полой вены — о функциональной недостаточности печени в посттравматическом периоде ушиба сердца. Введение аргинина травмированным животным сопровождается фазными изменениями: в первые 6 часов после травмы, в усло-

виях избыточного синтеза оксида азота, препарат усугубляет повреждение печени, вызванное тупой травмой сердца, а в условиях нормализации кислород-зависимых синтаз, что происходит к концу 1 суток посттравматического периода, оказывает гепатопротекторное действие. Одним из механизмов повреждения печени при ушибе сердца является активация свободнорадикальных процессов, вызванная избыточным образованием оксида азота вследствие ингибирования синтазного и активации нитритредуктазного метаболического пути в условиях гипоксии.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Корпачева, О.В. Генез системных сдвигов гемодинамики при ушибе сердца /О.В. Корпачева, В.Т. Долгих //Анестезиол. и реаниматол. – 2008. – № 6. – С. 75-78.
2. Малкоч, А.В. Физиологическая роль оксида азота в организме /А.В. Малкоч, В.Г. Майданник, Э.Г. Курбанова //Нефрология и диализ. – 2000. – № 1-2. – С. 129-135.
3. Сайфутдинов, Р.Г. Роль оксида азота при заболеваниях внутренних органов /Р.Г. Сайфутдинов //Вестн. соврем. клин. медицины. – 2009. – № 3. – С. 48-53.
4. Реутов, В.П. Медико-биологические аспекты циклов оксида азота и супероксидного анион-радикала /В.П. Реутов //Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 35-41.
5. Ванин, А.Ф. Оксид азота в биомедицинских исследованиях /А.Ф. Ванин //Вестн. РАМН. – 2000. – № 4. – С. 3-5.
6. Салей, А.П. Роль оксида азота в регуляции гемодинамических показателей и метаболических функций печени /А.П. Салей, Г.А. Вашанов, М.Ю. Мещерякова //Вестн. ВГУ. – 2009. – Сер. Химия, биология, фармация. – № 2. – С. 129-135.
7. Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Основные принципы //Анималогия. – 1993. – № 1. – С. 29.
8. Пат. 37427 Российская Федерация, МПК 7 G 09B9/00. Способ моделирования ушиба сердца у мелких лабораторных животных (полезная модель) /В.Т. Долгих, О.В. Корпачева, А.В. Ершов; патентообладатель Омская государственная медицинская академия. – № 2003133897/20; заявл. 24.11.03; опубл. 20.04.04, Бюл. № 11. – 3 с.
9. Малахова, М.Я. Эндогенная интоксикация как отражение компенсаторной перестройки обменных процессов в организме /М.Я. Малахова //Эфферентная терапия. – 2000. – № 4. – С. 3-14.
10. Duggan, Ch. Protective nutrients and functional foods for the gastrointestinal tract /Ch. Duggan, J. Cannon, A. Walker //Clin. Nutrition. – 2002. – N 75. – P. 789-808.
11. Халафян, А.А. STATISTICA 6. Статистический анализ данных /А.А. Халафян. – М., 2008. – 512 с.
12. Храмых, Т.П. Патогенез интоксикации при геморрагической гипотензии /Т.П. Храмых, В.Т. Долгих //Общая реаниматол. – 2008. – № 5. – С. 36-39.

