

# ВЛИЯНИЕ МОДУЛЯЦИИ L-АРГИНИН-NO-СИСТЕМЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ СЕРДЦА И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА КРОВИ У ВЗРОСЛЫХ КРЫС

В. И. Дунай, Л. П. Пархач, Н. Ю. Щербина, А. Н. Антоненко // Медицинский журнал. – 2010. – № 1 (31). – С. 115-117.

**Аннотация:** Изучено влияние ингибирования NO-синтазы у крыс в раннем постнатальном онтогенезе на сократительную функцию сердца, на процессы тканевого массопереноса кислорода, ПОЛ и КОС крови у взрослых животных. Получены новые данные о снижении внутрижелудочкового давления, увеличении поглощения кислорода сердечной мышцей, ускорении свободно-радикальных процессов на фоне метаболического некомпенсированного ацидоза у половозрелых животных с блокадой синтеза NO в онтогенезе.

В настоящее время установлено, что монооксид азота (NO) вовлекается во многие физиологические процессы [1]. Микроинъекции NO-донора – нитропруссид натрия или билатеральный микродиализ спинномозговой жидкости, насыщенной NO в паравентрикулярное ядро гипоталамуса приводят к уменьшению системного кровяного давления, но не изменяют частоты сердечных сокращений у крыс под наркозом [2]. Также было установлено [2], что NO, выделяемый CNO-позитивными нервными клетками паравентрикулярного ядра, способен ослабить прессорный эффект, вызываемый электрической стимуляцией субфорникального органа. Показано, что NG-метил-L-аргинин – ингибитор CNO, при системном введении стимулирует активность симпатического почечного нерва как примера вазоконстрикторного нерва [3]. В артериальной крови NO в реакции с оксигемоглобином образует нитрат и метгемоглобин, а в венозной – нитрозилгемоглобин ( $\text{HbFe}^{2+}\text{NO}$ ), способный при высоких  $p\text{O}_2$  дезинтегрироваться с участием молекулярного кислорода до гемоглобина и  $\text{NO}^3-$ . Реально влияние NO на кислородсвязывающие свойства крови может носить лишь опосредованный характер, вследствие его малого содержания (сотые доли процента) по сравнению с концентрацией гемоглобина в организме. Известно, что ингибирование NO-синтазы приводит к снижению  $p\text{O}_2$  в течение получаса с 29 до 11 мм рт. ст. [4] и с другой стороны введение L-аргинина и ингибитора NO-синтазы сопровождалось увеличением  $p\text{O}_2$  с 33 до 37 мм рт.ст. [4]. Оксид азота, синтезируемый из аминокислоты L-аргинина и молекулярного кислорода, при активации  $\text{Ca}^{2+}$ -зависимой NO-синтазы реагирует с супероксид-анионом, образуя пероксинитрит. Высвобождение свободных радикалов способствует повреждению клеточных мембран и в дальнейшем митохондриальной дисфункции. Однако введение ингибитора NO-синтазы L-МЭНА при моделировании церебральной ишемии приводило к дисбалансу и в некоторых случаях (в зависимости от дозы вводимого ингибитора) увеличению про- и антиоксидантных реакций ПОЛ и снижению параметров массопереноса кислорода при реперфузии, а введение донора NO –

аминокислоты L-аргинина оказывало благоприятный эффект на состояние реакций ПОЛ [5]. Следует заметить, что для синтеза NO необходим кислород, а в условиях церебральной ишемии его недостаточно для поддержания нормальных жизненных функций. Неоднозначность литературных данных указывает на сложную, вероятно в большей мере опосредованную, систему воздействия NO на метаболизм организма. Еще более сложным ожидается пролонгированный эффект ингибирования NO-синтазы, в частности, в онтогенезе.

В связи с вышесказанным представлялось перспективным исследовать влияние блокады NO-зависимых механизмов в раннем постнатальном онтогенезе на сократительную способность сердца и физико-химические свойства крови.

### **Материалы и методы**

Исследования выполнены на 36 крысах. Эксперименты проводили на двух группах животных. Первой группе животных ( $n = 18$ ) вводили подкожно ингибитор NO-синтазы – метиловый эфир N\*-нитро-L-аргинин (L-МЭНА) в дозе 750 мкг/кг двукратно на первом и третьем дне жизни (А.В. Гурин, В.И. Дунай, 1999). В качестве контроля второй группе животных ( $n = 18$ ) вводили неактивный по отношению к CNO энантиомер – метиловый эфир N\*-нитро-D-аргинин (D-МЭНА) подкожно в дозе 750 мкг/кг двукратно на первом и третьем дне жизни. Через три месяца крыс брали повторно в эксперимент.

С целью изучения влияния ингибирования NO-синтазы у крыс в раннем постнатальном онтогенезе на процесс регулирования сократительной способности сердца измеряли максимальное систолическое давления в левом желудочке сердца и частоту сердечных сокращений. Наркотизацию животных производили путем внутрибрюшинного введения тиопентала-натрия (80 мг/кг). После трахеотомии осуществляли доступ к сердцу через диафрагму, при этом животных переводили на искусственное дыхание. Развиваемое давление в левом желудочке регистрировали на многоканальном поликардиографе «Мингограф-81» (Элема, Швеция).

Параметры дыхания и транспорта кислорода исследовали по методу, разработанному в экспериментальной лаборатории НИИ ННХФТ (Титовец Э.П. и Пархач Л.П., патент РБ № 2813.1998). Изучали скорость тканевого дыхания сердечной мышцы, скорость транспорта кислорода через перикардальную сумку сердца у взрослых крыс первой и второй групп.

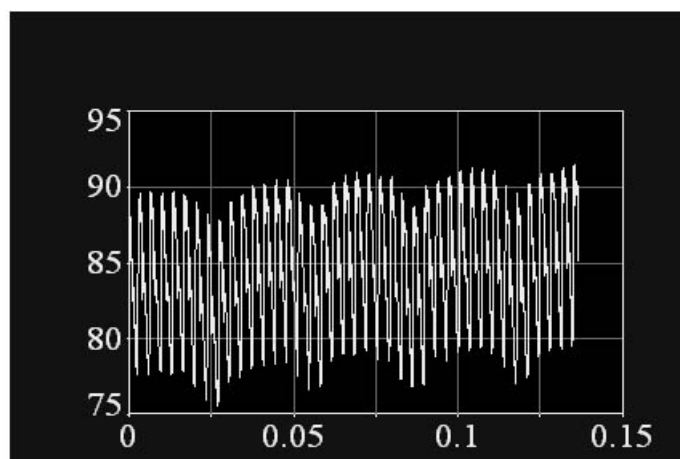
Определяли показатели ПОЛ в крови: содержание первичных продуктов ПОЛ – диеновых конъюгатов (ДК) в плазме крови, вторичных ТБК-активных продуктов (ТБК-П) в сыворотке и активность антиоксидантного фермента глутатионпероксидазы (ГП) в гемолизатах эритроцитов, исходя из расчета на 1 мл крови, взятой из сонной артерии животных с ингибированной NO-синтазой в раннем постнатальном онтогенезе и крыс контрольной группы.

Оценивали КОС артериальной крови у двух групп животных. Исследовали актуальную кислотность крови (pH), напряжение  $CO_2$  ( $pCO_2$ ), содержание гидрокарбоната ( $HCO_3^-$ ), дефицит буферных оснований (BE), парциальное давление кислорода ( $pO_2$ ) и сатурацию ( $SO_2$ ) артериальной крови с помощью газоанализатора ABL-50 («Radiometr», Дания).

Данные, полученные в ходе исследований, обрабатывали с помощью программы Excel и методов вариационной статистики.

## Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что у животных, которым на раннем этапе постэмбрионального развития вводили ингибитор NO-синтазы, частота сердечных сокращений не отличалась от таковой у контрольной группы, однако максимальное внутрижелудочковое давление сердца существенно изменялось. Так, максимальное внутрижелудочковое давление сердца у экспериментальных крыс составило  $92,0 \pm 4,7$  мм рт. ст. (рисунок 1), в то время как у контрольных крыс оно



составило  $120,6 \pm 6,4$  мм рт. ст.

Рисунок 1 – Влияние ингибитора синтазы NO (L-МЭНА), введенного на первый и третий дни жизни, на максимальное внутрижелудочковое давление сердца у взрослых крыс

Таким образом, установлено, что у животных, которым на раннем этапе постэмбрионального развития вводили ингибитор NO-синтазы максимальное внутрижелудочковое давление сердца существенно изменялось.  $P_{\max}$  у экспериментальных крыс было на 23,7 % меньше, чем у контрольных животных ( $p < 0,05$ ) (таблица 1).

Таблица 1 – Функциональные показатели сердца зрелых крыс после применения ингибитора NO-синтазы на раннем этапе постнатального онтогенеза

| Группа Показатель               | ЧСС, сокр./мин  | $P_{\max}$ , мм рт. ст. |
|---------------------------------|-----------------|-------------------------|
| Контрольная                     | $294,8 \pm 9,2$ | $120,6 \pm 6,4$         |
| Подверженная воздействию L-МЭНА | $282,1 \pm 7,3$ | $92,0 \pm 4,7^*$        |

Примечание – \* различия достоверны по отношению к контролю;  $p < 0,05$ ;

ЧСС – частота сердечных сокращений;  $P_{\max}$  – максимальное давление в левом желудочке сердца.

Полученные результаты свидетельствуют о снижении инотропной функции сердца после применения ингибитора NO-синтазы в неонатальном периоде. Данная модификация функционального состояния сердца может быть обусловлена нарушением периферических механизмов нейрогормональной регуляции сократительной способности миокарда.

В ходе проведенных исследований обнаружено увеличение тканевого дыхания поверхностью сердечной мышцы и проницаемости перикардиальной сумки сердца крыс. Скорость поглощения  $O_2$  увеличивалась на 7,67 %, проницаемость перикардиальной сумки – на 10 % (таблица 2).

Таблица 2 – Скорость поглощения O<sub>2</sub> сердечной мышцей крыс и проницаемость перикардиальной сумки сердца крыс

| Измеряемые величины                                      | Контрольная серия | Серия с ингибированным синтезом NO |
|--|-------------------|------------------------------------|
| Скорость поглощения O <sub>2</sub><br>мм рт. ст./мин     | 373 ± 11          | 404 ± 15*                          |
| Проницаемость<br>перикардиальной сумки,<br>мм рт.ст./мин | 459 ± 36          | 508 ± 33*                          |

Примечание – \* различия достоверны по отношению к контролю; p < 0,05.

Обнаружено увеличение активности ПОЛ. Содержание ТБК-П повышалось на 26 %, а уровень ДК на 18 %. Изменения активности ГП были незначительными. Баланс про- и антиоксидантных механизмов оценивали по соотношению ДК и активности ГП (прооксидантный индекс) (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы

| Показатели                  | Экспериментальные группы |                                    |
|-----------------------------|--------------------------|------------------------------------|
|                             | Контрольная серия        | Серия с ингибированным синтезом NO |
| Дниевые конъюгаты, о.е.     | 1,76 ± 0,10              | 2,15 ± 0,17*                       |
| ТБК-активные продукты, о.е. | 0,028 ± 0,001            | 0,038 ± 0,003*                     |

Оценивали КОС артериальной крови. Наблюдали снижение рН на 2 %, рO<sub>2</sub> на 23 %, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> на 25 %, SO<sub>2</sub> на 12 %, АВЕ на 20 %, увеличение рСО<sub>2</sub> на 10,05 % (таблица 4).

Таблица 4 – Показатели КОС артериальной крови 2 серий крыс - контрольной и с ингибированной NO-синтазой в раннем постнатальном онтогенезе, X±s

| Группа/<br>Показатель           | Показатели КОС крови   |                         |              |                 |  |                            |
|---------------------------------|------------------------|-------------------------|--------------|-----------------|--|----------------------------|
|                                 | SO <sub>2</sub> ,<br>% | рO <sub>2</sub><br>ммHg | рН,<br>ед.   | АВЕ,<br>ммоль/л | HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ,<br>ммоль/л | PCO <sub>2</sub> ,<br>ммHg |
| Контрольная                     | 97 ± 4                 | 90 ± 3                  | 7,37 ± 0,01  | 1,2 ± 0,1       | 21,0 ± 1,2                                 | 30,4 ± 1,0                 |
| Подверженная воздействию L-МЭНА | 85 ± 3*                | 69 ± 4*                 | 7,22 ± 0,03* | -0,96 ± 0,2*    | 15,8 ± 1,2*                                | 33,8 ± 1,2*                |

Примечание – \* различия достоверны по отношению к контролю; p < 0,05.

В условиях ингибирования NO-синтазы в онтогенезе проявлялась тенденция к увеличению прооксидантных процессов. В ходе проведенных исследований выявлены изменения КОС крови, снижение рН, истощение гидрокарбонатного буфера и выраженный дефицит буферных оснований. Выявленное снижение SO<sub>2</sub> может коррелировать с увеличением тканевого дыхания сердечной мышцы. Полученные данные можно охарактеризовать как метаболический

некомпенсированный ацидоз, ускорение свободно-радикальных процессов. Взаимосвязь значительного изменения жизненно важных показателей КОС и ПОЛ у половозрелых крыс с ингибированием NO-синтазы в раннем постнатальном онтогенезе представляется более сложной, чем ее объяснение с позиций непосредственного отсутствия регулирующего фактора нитрозотиолов в организме крыс, и требует дополнительных исследований.

Изучено влияние ингибирования NO-синтазы у крыс в раннем постнатальном онтогенезе на сократительную способность сердца: максимальное систолическое давление в левом желудочке, частоту сердечных сокращений; на внутрисосудистое давление, на процессы тканевого массопереноса кислорода, ПОЛ и КОС крови у взрослых животных.

Получены новые данные показывают, что у половозрелых крыс, которым на 1–3 сутки после рождения вводили подкожно L-NAME снижалось максимальное систолическое внутрижелудочковое давление, возрастало тканевое дыхание сердечной мышцы, наблюдалось ускорение свободно-радикальных процессов на фоне метаболического некомпенсированного ацидоза, определяемого по результатам КОС крови крыс.

## Литература

1. Гурин, А. В. Функциональная роль оксида азота в центральной нервной системе / А. В. Гурин // Успехи физиологических наук. 1997, Т. 28. № 1, С. 53–57.
2. Bains, J. S. Inhibition of nitric oxide synthase potentiates cardiovascular responses to electrical stimulation of the subfornical organ / J. S. Bains, A. V. Ferguson // Abstracts of XXXII International Congress of Physiological Sciences. Glasgow. 1993. Vol. 2. P. 249.
3. Sakuma, I. NG-Methyl-L-arginine, an inhibitor of L-arginine-derived nitric oxide synthesis, stimulates renal sympathetic nerve activity in vivo – a role for nitric oxide in the central regulation of sympathetic tone / I. Sakuma, S. S. Gross, R. Levi // Circulation Res. 1992. Vol. 70, № 3. P. 607–611.
4. Зинчук, В. В. Участие сродства гемоглобина к кислороду в поддержании прооксидантно-антиоксидантно состояния организма / В. В. Зинчук // Медицинские новости. Минск, 2002. № 2. С. 20–25.
5. Нечипуренко, Н. И. Особенности мозговой оксигенации при моделировании локальной ишемии головного мозга в условиях модуляции NO-ергических процессов / Н. И. Нечипуренко // Актуальные проблемы неврологии и нейрохирургии. Минск, 2002. Вып. 4. С. 132–140.