

Samia Ijaz, Marc C. Winslet,
Alexander M. Seifalian

Лаборатория печеночной гемодинамики,
Академическое отделение хирургических и
инвазивных наук, Университетский колледж Лондона,
Великобритания

Эффект последовательно увеличивающихся доз L-аргинина на печеночные микроциркуляцию и тканевую оксигенацию при стеатозе*

Ключевые слова

Жировая инфильтрация печени, оксид азота, печеночная микроциркуляция, печеночная тканевая оксигенация.

Оксид азота (NO) является вазодилаторной молекулой, которая изменяет тонус в нескольких сосудистых бассейнах, включая легкие и системное кровообращение (Moncada и соавт., 1988). NO также играет определенную роль в таких процессах, как ангиогенез, рост клеток и их миграция (Ziche и соавт., 1994). Печеночные синусоидные эндотелиальные клетки (СЭК), выделенные из печени крыс, продемонстрировали возможность экспрессировать эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS) в больших количествах. СЭК постоянно выделяют небольшое количество NO. В том же исследовании показано, что культивированные СЭК отвечают на стресс от оперативного вмешательства увеличением высвобождения NO (Shah и соавт., 1997). Хотя уровень кровотока через отдельные синусоиды может быть низким, узкий калибр сосудов обуславливает более выраженный стресс от разреза, и СЭК отвечают на него повышением продукции NO. Хотя и СЭК, и клетки Купфера, и печеночные звездчатые клетки (ПЗК) имеют в своем составе сократительные протеины, именно перисинусоидальные ПЗК отвечают за изменение диаметра синусоидов путем их сокращения и расслабления.

Zhang и соавт. (1997) провели серию экспериментов на изолированной перфузионной печени

крыс и показали, что назначение L-аргинина — субстрата NO-синтазы, приводило к значительному увеличению кровотока в печени. В последующих исследованиях тщательно были изучены положительные эффекты L-аргинина в клинической практике, в частности, при пересадке печени, при которой нарушение микроциркуляции приводило к развитию ишемически-реперфузионного повреждения, что угрожало жизнеспособности трансплантата. Langle и соавт. (1997) показали, что экзогенный L-аргинин, вводимый свиньям-реципиентам, значительно улучшал работу сердца и сердечный индекс, уменьшал легочное капиллярное давление и повышал порталный венозный кровоток во время раннего реперфузионного периода при трансплантации печени свиней. В других исследованиях на животных *in vivo* и экспериментах на изолированной перфузионной печени получены дополнительные данные в пользу того, что L-аргинин поддерживает постишемическую печеночную микровазкулярную перфузию, улучшая гепатоцеллюлярную функцию (Jones и Thurman, 1996; Shiraishi и соавт., 1997; Uhlmann и соавт., 1998).

Valero и соавт. (2000) продемонстрировали, как применение L-аргинина во время трансплантации печени от доноров с остановившимся сердцем значительно уменьшало некроз печеночных клеток и повреждение билиарного тракта.

Wang и Lautt (1998) обнаружили, что NO, высвобождение которого наблюдали в двух третях

* The effect of consecutively larger doses of L-arginine on hepatic microcirculation and tissue oxygenation in hepatic steatosis // Microvascular Research. — 2009. — N 78. — P. 206—211.

случаев частичных гепатэктомий у крыс, запускал каскад реакций, сопровождающийся повышением уровня плазменных пролиферативных факторов, что способствовало регенерации печени.

Ранее мы установили на животной модели (крысы) печени с ожирением, вызванной этанолом, нарушение печеночной микроциркуляции по сравнению с нормальной крысиной печенью (Ijaz и соавт., 2005). Механизмы, лежащие в основе этого, еще не выяснены. Однако Saibara и соавт. (2001) продемонстрировали, что этанол угнетает транспорт L-аргинина и продукцию NO в ПЗК, которые либо стимулируются, либо нет цитокинами TNF- α и IFN- γ в зависимости от дозы. Это может пролить свет на ситуацию, учитывая, что NO играет важную роль в печеночной гемодинамике. Поскольку одна доза L-аргинина не улучшала гемодинамику в печени с этанол-индуцированным ожирением, целью данного исследования было изучить влияние множественных, последовательно увеличивающихся доз L-аргинина на печеночную гемодинамику. Гипотетически последовательно увеличивающиеся дозы L-аргинина могут значительно улучшать гемодинамику и тканевую оксигенацию в печени с ожирением.

Материалы и методы

Животная модель и хирургическая подготовка

Это исследование было выполнено по лицензии, предоставленной Home Office в соответствии с Актом по научным исследованиям на животных (1986). Использовали самцов крыс линии Sprague-Dawley с массой тела 250–300 г. Стеатоз печени вызывали путем кормления животных этанолсодержащей жидкой диетой в течение 6 нед. Контрольные животные получали жидкую диету без этанола в течение того же периода времени. Развитие печеночного стеатоза описывали макроскопически и подтверждали гистологически (рис. 1). Перед экспериментом животных не кормили со свободным доступом к воде в течение 24 ч. Анестезию проводили при помощи Нурпорм (фентанила цитрат и флуанонин, Janssen Animal Health Ltd., Великобритания) в дозе 0,5 мл/кг и диазепам (Dumex Ltd., Хертфордшир, Великобритания) в дозе 2,5 мг/кг внутримышечно. Температуру тела поддерживали на уровне 37–38,5 °C с помощью согревающего покрывала (Harvard apparatus Ltd., Кент, Великобритания). Частоту пульса (ЧП) и артериальную сатурацию кислородом (SpO_2) постоянно контролировали пульсовым оксиметром (Ohmeda Biox 3740, Ohmeda Co., Луисвилль, США). Правая внутренняя сонная артерия и правая бедренная вена были катетеризированы

полиэтиленовыми катетерами (PE-50, внутренний диаметр — 0,38 мм, Rotex, Кент, Великобритания) для измерения среднего артериального давления (АД) и введения жидкостей (0,9 % физиологический раствор) для компенсации интраоперационной потери жидкости. Катетер в бедренной вене применяли для введения раствора L-аргинина.

Лапаротомию проводили через срединный разрез, связки между печенью и диафрагмой были разделены, печень выводили таким образом, чтобы лазерный доплерофлуометрический зонд мог быть помещен на поверхность доли печени.

Измерение общего печеночного кровотока

Печеночная артерия и воротная вена были выделены и выведены в рану. Печеночный артериальный и воротный венозный кровоток измеряли при помощи двойной ультразвуковой флуометрической системы (HT207, Transonic Medical Systems Inc, Ithaca, Нью-Йорк, США). Ультразвуковые периваскулярные зонды (1 и 2 мм) располагали вокруг сосудов для определения кровотока в печеночной артерии и воротной вены.

Измерение печеночной микроциркуляции и тканевой оксигенации

Печеночную микроциркуляцию оценивали при помощи двойного лазерного доплерофлуометра (DRT4, Moor Instruments Ltd, Аксминстер, Великобритания). Лазерная доплерофлуометрия (ЛДФ) является неинвазивной техникой, которая позволяет постоянно оценивать микрососудистую перфузию (Almond и Wheatley, 1992). Ее использование для определения крово-

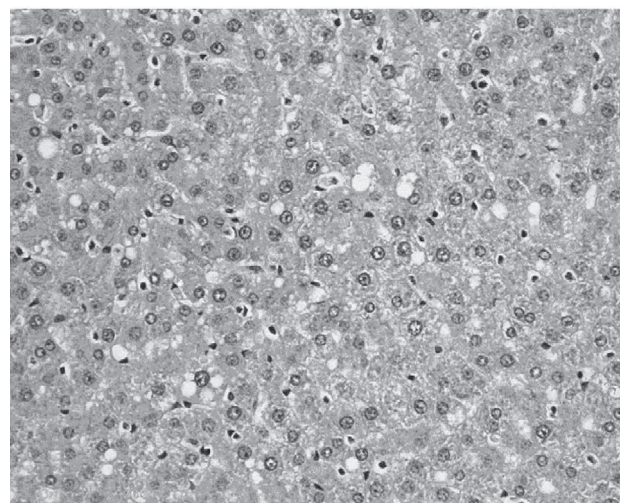


Рис. 1. Этаноловая диета вызывает стеатоз печени. Отмечаются сужение синусоидальных пространств и множественные жировые вакуоли, характеризующие микровезикулярный стеатоз. Окраска гематоксилином-эозином, $\times 200$

тока в печеночном микроциркуляторном русле было стандартизировано на животных моделях, ЛДФ хорошо коррелирует с инвазивными методами определения поверхностной печеночной микроциркуляции (Arvidsson и соавт., 1988 и Wheatley и Zhao, 1993). Паренхимальная перфузия, измеренная при помощи ЛДФ, хорошо коррелирует с общим кровотоком в нормальной печени, и поверхностные ЛДФ-измерения были приняты как стандартные для глубокой паренхимальной перфузии (Kotzampassi и соавт., 1992; Seifalian и соавт., 1997; Wheatley и соавт., 1993). При трансплантации человеческой печени мы ранее продемонстрировали значительную корреляцию между микроциркуляцией в трансплантате печени во время пересадки, измеренную при помощи поверхностной ЛДФ, и общим кровотоком в печени, измеренным электромагнитным флоуметром. Измерения перфузии воспроизводились с коэффициентом вариации 4 % (Seifalian и соавт., 1997). Для измерения паренхиматозной перфузии мы использовали мультиэмитер/детектор, встроенный в лазерный доплеровский зонд (P9, Moor Instruments Ltd., Аксминстер, Великобритания), который имеет восемь эмитирующих и восемь собирающих волокон, что обеспечивает хорошую точность. Зонд располагался на определенных точках на поверхности левой доли печени. Микроциркуляцию измеряли в единицах потока, эквивалентных общему количеству движущихся мимо зонда эритроцитов в ткани ($0,6\text{--}2,3\text{ мм}^2$), помноженному на среднюю скорость этих эритроцитов (Almond и Wheatley, 1992). Для минимизации помех кровотоку зонд располагался на специальных легких стойках для зонда.

Печеночную внеклеточную оксигенацию ткани оценивали по оксигемоглобину (HbO_2) *in vivo* методом ближнефокусной инфракрасной спектроскопии (БИКС) при помощи пары оптических зондов, расположенных на поверхности печени (NIRO-500, Hamamatsu Phototonics K.K., Япония). Алгоритм БИКС был разработан и широко применяется для определения печеночного HbO_2 и изменения его концентрации. Вычисляли среднее значение за 1 мин (Koti и соавт., 2002). Полученные значения сравнивали с начальным показателем, который считался как ноль в начале исследования.

Протокол эксперимента

Животные в контрольной группе и группе со стеатозом ($n = 10$ в каждой) были дополнительно распределены на группы L-аргинина и 0,9 % NaCl (солевые) ($n = 5$ в каждой). L-аргинин (Sigma Chemical Co., Великобритания) перед применением растворяли в 0,9 % NaCl. После

того как у животных в течение приблизительно 30 мин стабилизировались начальные системные и печеночные гемодинамические параметры, внутривенно вводили 0,3 мл раствора L-аргинина (50 мг/кг), а ответы системного и печеночного кровотока записывали в течение 10 мин. Эквивалентное количество нормального физиологического раствора вводили внутривенно в контрольных солевых группах. В конце 10-й минуты вводили 100 мг/кг L-аргинина экспериментальным животным и эквивалентное количество солевого раствора — в контрольных группах, реакцию записывали в течение 10 мин. Затем вводили 300 мг/кг и 500 мг/кг L-аргинина и физиологического раствора.

Сбор данных и статистический анализ

Данные, полученные с помощью БИКС, ЛДФ, ультразвуковой флоуметрической системы и датчиков давления, заносили в цифровую записывающую систему данных.

Значения представлены как $M \pm m$. Для статистической обработки данных использовали программу Excel.

Непарный t-тест Стьюдента использовали для оценки разницы показателей до и после лечения в каждой группе. Как статистически достоверный был принят $p < 0,05$. Решение использовать данный статистический тест было принято статистиком Королевской бесплатной и UCL медицинской школы, по мнению которого, именно этот тест наиболее соответствует данному эксперименту.

Результаты

Печеночный кровоток и микроциркуляторные изменения в печени с ожирением

Исходные среднее АД и артериальный печеночный кровоток были значительно ниже у животных с ожирением, чем у контрольных крыс, — соответственно ($63,2 \pm 1$) и ($68,1 \pm 1$) мм рт. ст. ($p = 0,004$) и ($2,4 \pm 0,1$) и ($2,9 \pm 0,1$) мл/мин ($p = 0,0008$). Достоверной разницы в исходных показателях кровотока в воротной вене между крысами с ожирением и контрольными не выявлено ($(7,9 \pm 1,8)$ и $(8,3 \pm 3,2)$ мл/мин, $p > 0,05$). Печеночная микроциркуляция была достоверно снижена у крыс со стеатозом по сравнению с контрольными животными ($(161,1 \pm 4,1)$ и $(175,1 \pm 3,2)$ единиц потока соответственно, $p = 0,01$).

Влияние L-аргинина на системную гемодинамику

Среднее АД сильно не изменялось после инъекций солевых растворов и L-аргинина по срав-

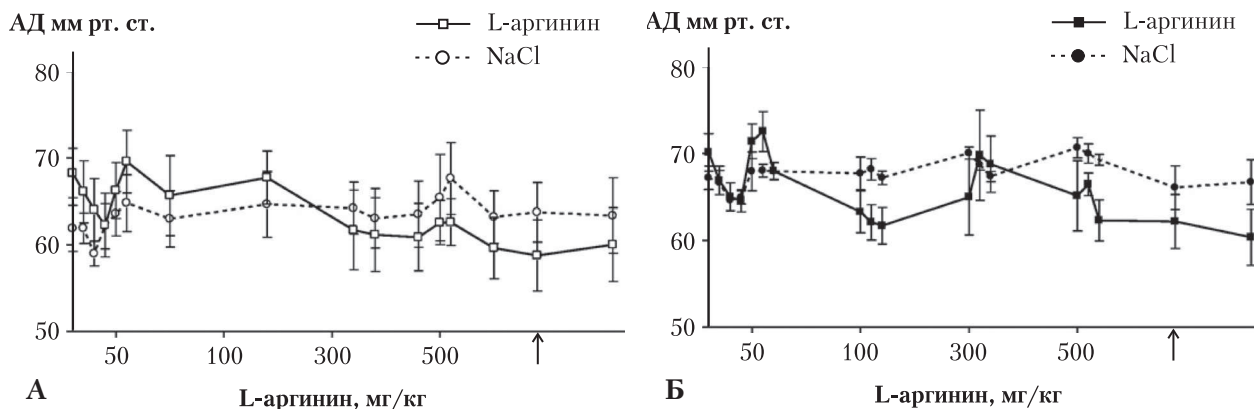


Рис. 2. Связь между последовательными дозами L-аргинина и средним АД у крыс с ожирением печени (А) и в контрольной группе (Б). * Парный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем; # непарный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с группой NaCl. Стрелкой указаны данные, полученные без дальнейшего приема препаратов

нению с начальными показателями ($p > 0,05$, рис. 2). Сходная картина наблюдалась и в отношении ЧП в группах стеатоза и контроля ($p > 0,05$, табл. 1 и 2). Средний уровень SaO_2 достоверно увеличился только после введения 500 мг L-аргинина в группе с ожирением и контрольной группе ($p < 0,05$, см. табл. 1 и 2).

Влияние L-аргинина на печеночный артериальный кровоток

У животных с ожирением печеночный артериальный кровоток достоверно увеличивался после введение дозы L-аргинина по сравнению с начальными показателями, в то время как повторное введение NaCl достоверно не изменяло этот показатель ($p < 0,05$, рис. 3А). Сходную картину наблюдали и у контрольных крыс ($p < 0,05$, рис. 3Б).

Влияние L-аргинина на портальный венозный кровоток

Портальный венозный кровоток достоверно увеличивался после введения всех доз L-аргинина у крыс со стеатозом, кроме 500 мг/кг ($p > 0,05$, рис. 4А), и доз NaCl ($p < 0,05$, см. рис. 3А). Повы-

шение кровотока, вызванное дозами L-аргинина 50 и 100 мг/кг, было значительно большим, чем после введения NaCl ($p < 0,05$).

Сходную картину наблюдали у контрольных крыс после введения доз L-аргинина, кроме 500 мг ($p < 0,05$, рис. 4Б), и доз NaCl ($p < 0,05$). L-аргинининдуцированное увеличение венозного кровотока было значительно большим после введения доз 50 и 100 мг/кг, чем после введения NaCl ($p < 0,05$, см. рис. 4Б).

Влияние L-аргинина на печеночную микроциркуляцию

У крыс с ожирением печени печеночная микроциркуляция достоверно увеличивалась после введения каждой дозы L-аргинина и NaCl ($p < 0,05$, рис. 5А), при этом L-аргинин повышал этот показатель больше ($p < 0,05$). Сходную картину наблюдали у контрольных животных ($p < 0,05$, рис. 5Б).

Влияние L-аргинина на оксигенацию тканей

Уровень HbO_2 достоверно увеличивался после введения каждой дозы L-аргинина и NaCl в

Таблица 1. Изменение показателей системной гемодинамики у крыс с ожирением печени после введения увеличивающихся доз L-аргинина ($n = 6$ в каждой подгруппе)

Показатель	Вводимое вещество	Исходный показатель	Доза 1	Доза 2	Доза 3	Доза 4
Среднее АД, мм рт. ст.	L-аргинин	$64,1 \pm 1,1$	$67,5 \pm 1,0$	$65,6 \pm 1,1$	$59,5 \pm 1,1$	$61,7 \pm 1,0$
	NaCl	$61,0 \pm 1,0$	$63,9 \pm 0,5$	$63,7 \pm 0,6$	$65,8 \pm 0,8$	$66,4 \pm 0,6$
ЧП, уд./мин	L-аргинин	$254 \pm 0,6$	$253 \pm 1,7$	255 ± 0	255 ± 0	255 ± 0
	NaCl	$251 \pm 1,6$	$252 \pm 0,3$	$252 \pm 0,5$	$254 \pm 0,4$	$248 \pm 0,6$
SaO_2 , %	L-аргинин	$97,2 \pm 0$	$97,2 \pm 0$	$97,6 \pm 0$	$97,7 \pm 0$	$98,4 \pm 0^*$
	NaCl	$96,9 \pm 1,3$	$97,2 \pm 0,1$	$96,7 \pm 0,1$	$97,3 \pm 0,1$	$97,2 \pm 0$

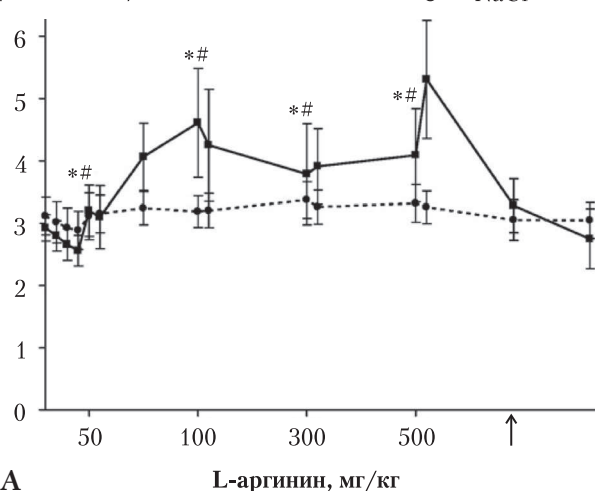
Примечание. * Парный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем.

Таблиця 2. **Изменение показателей системной гемодинамики у крыс контрольной группы после введения увеличивающихся доз L-аргинина (n = 6 в каждой подгруппе)**

Показатель	Вводимое вещество	Исходный показатель	Доза 1	Доза 2	Доза 3	Доза 4
Среднее АД, мм рт. ст.	L-аргинин	65,5 ± 0,7	70,6 ± 1,4	62,4 ± 0,5	67,9 ± 1,5	64,6 ± 1,2
	NaCl	65,4 ± 0,6	68,0 ± 0,03	67,7 ± 0,3	68,7 ± 0,8	70,0 ± 0,4
ЧП, уд./мин	L-аргинин	255 ± 0,3	255 ± 0	255 ± 0	255 ± 0	255 ± 0
	NaCl	255 ± 0	255 ± 0	255 ± 0	255 ± 0	255 ± 0
SaO ₂ , %	L-аргинин	97,7 ± 0	97,8 ± 0,1	97,8 ± 0,1	97,9 ± 0,1	97,7 ± 0*
	NaCl	98,2 ± 0	98,2 ± 0	98,1 ± 0	98 ± 0	98,2 ± 0

Примечание. * Парный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем.

Печеночный артериальный кровоток, мл/мин



Печеночный артериальный кровоток, мл/мин

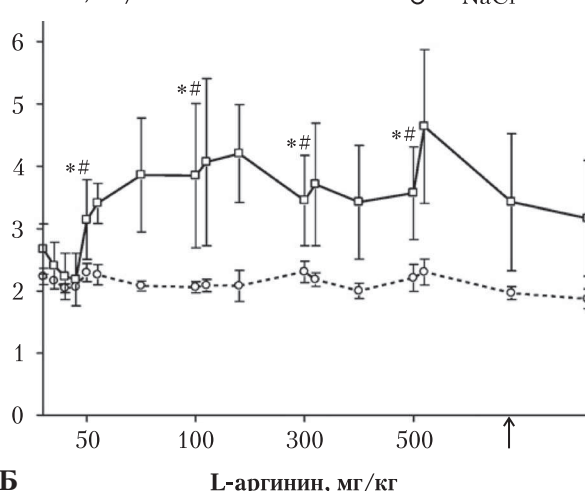
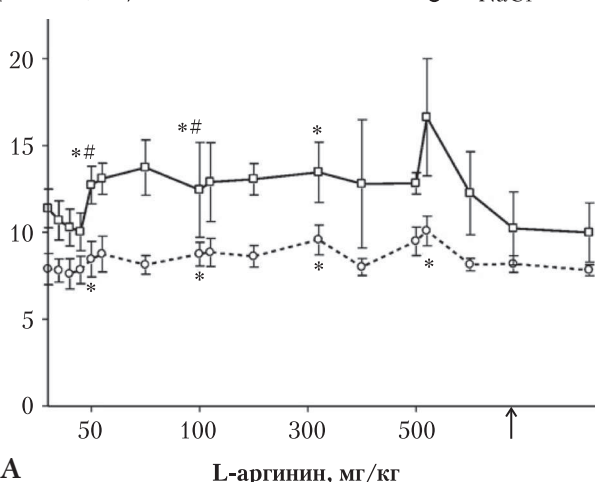


Рис. 3. **Связь между последовательными дозами L-аргинина и печеночным артериальным кровотоком у крыс с ожирением печени (А) и в контрольной группе (Б).** * Парный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем; # непарный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с группой NaCl. Стрелкой указаны данные, полученные без дальнейшего приема препаратов

Портальный венозный кровоток, мл/мин



Портальный венозный кровоток, мл/мин

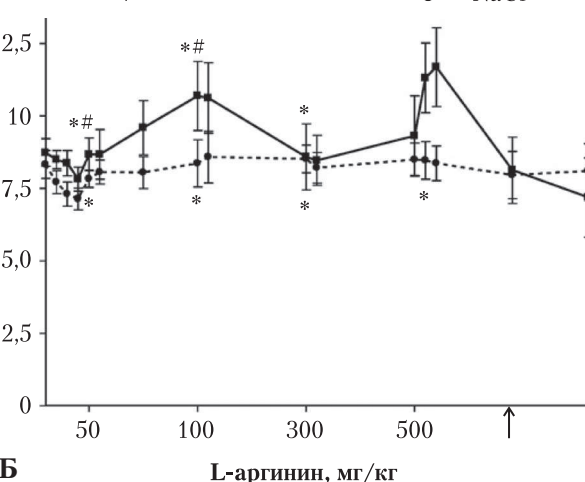


Рис. 4. **Связь между последовательными дозами L-аргинина и портальным венозным кровотоком у крыс с ожирением печени (А) и в контрольной группе (Б).** * Парный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем; # непарный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с группой NaCl. Стрелкой указаны данные, полученные без дальнейшего приема препаратов

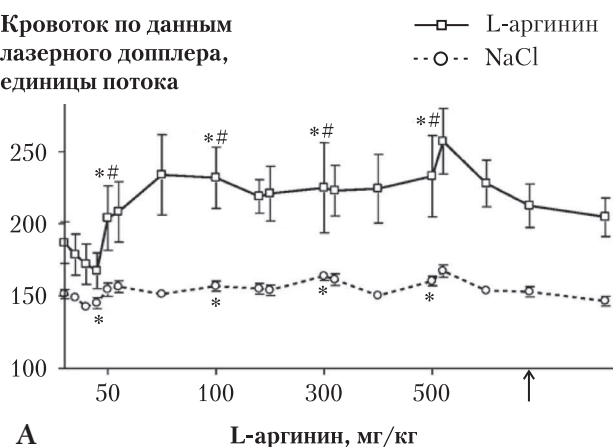
групі крыс з ожирінням ($p < 0,05$, рис. 6А). Однак на фоні введення L-аргініну збільшення цього показателя було достовірно більшим після введення всіх доз, крім 50 мг/кг, ніж після введення NaCl ($p < 0,05$, см. рис. 6А). У контрольних крыс спостерігали схожу картину ($p < 0,05$, рис. 6Б).

Обсуждение

Мы выбрали этаноловую диету, так как именно этанол является наиболее частой причиной жировой инфильтрации печени у людей. Положительные эффекты L-аргініна на печень со стеатозом обсуждались ранее. Так, Nanji и соавт. (2001) сообщали, что пероральное применение

L-аргініна может сделать обратимым негативное влияние этанола на печень. После применения аргинина, отмечалось значительное улучшение патологических изменений, с уменьшением уровня эндотоксина, перекисного окисления липидов, активации ядерного фактора-В, фактора некроза опухолей, циклооксигеназы-2, индуцибельного оксида азота и окраски нитротирозином. Уровни эндотоксина и липидных пероксидов повышаются при алкогольиндуцированном повреждении печени, считается, что они отвечают за гепатотоксический эффект алкоголя (Adachi и соавт., 1995; Cederbaum, 1989; Nanji и соавт., 1993; Gundersen и соавт., 1999). Nanji и соавт. (2001) обнаружили, что у животных, полу-

Кровоток по данным лазерного доплера, единицы потока



Кровоток по данным лазерного доплера, единицы потока

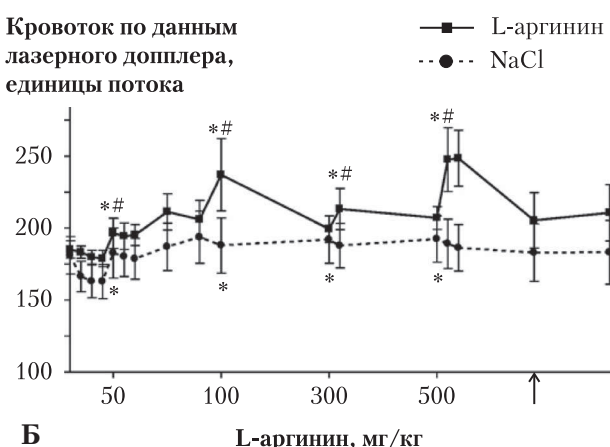
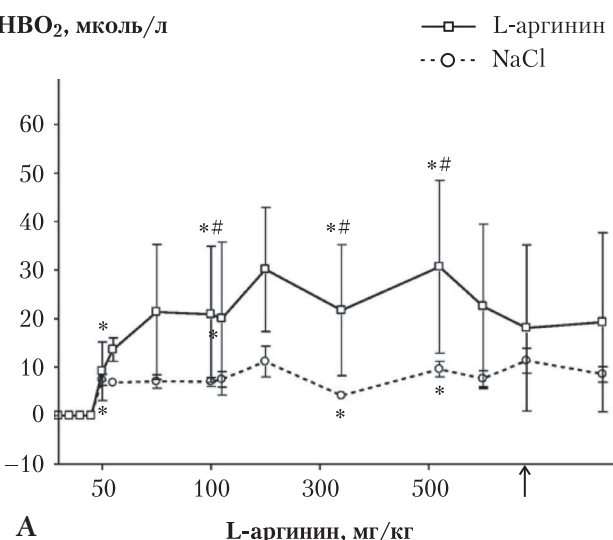


Рис. 5. Связь между последовательными дозами L-аргініна и печеночной микроциркуляцией у крыс с ожирением печени (А) и в контрольной группе (Б). * Парный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем; # непарный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с группой NaCl. Стрелкой указаны данные, полученные без дальнейшего приема препаратов

НВО₂, мколь/л



НВО₂, мколь/л

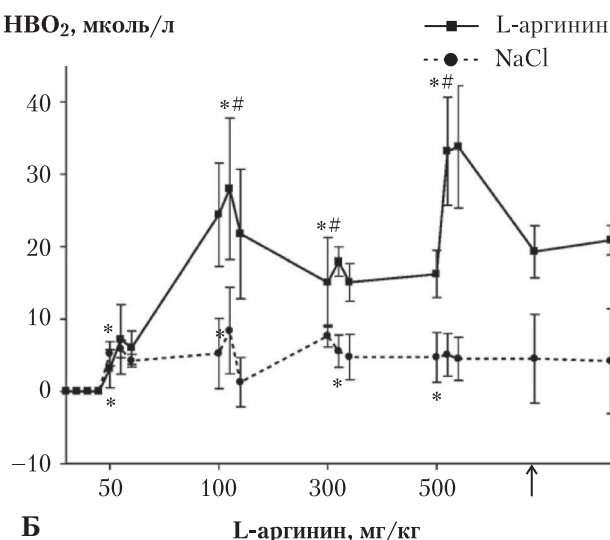


Рис. 6. Связь между последовательными дозами L-аргініна и печеночной оксигенацией у крыс с ожирением печени (А) и в контрольной группе (Б). * Парный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с исходным показателем; # непарный t-тест Стьюдента, $p < 0,05$ по сравнению с группой NaCl. Стрелкой указаны данные, полученные без дальнейшего приема препаратов

чавших лечение аргинином, происходило снижение уровня эндотоксинов и перекисного окисления липидов приблизительно на 50 %, по сравнению с теми, кто получал этанол. Механизмы, приводящие к эндотоксемии у крыс, получающих этанол, включают снижение способности Купферовых клеток к детоксикации эндотоксина, повышение чувствительности слизистой оболочки кишечника к эндотоксину (Nanji и соавт., 1993). Изменение перекисного окисления липидов может отображать изменение активности цитохрома P450 2E1, которая снижается на 50–60 % после приема аргинина. Цитохром P450 2E1 является основным фактором перекисного окисления липидов у крыс, получающих этанол, и угнетение его активности приводит к снижению перекисного окисления липидов в печени крыс с этаноловой диетой (Morimoto и соавт., 1995).

Ряд авторов предположили, что аргинин имеет защитное влияние на поврежденную печень, так как он действует как предшественник оксида азота (Cottart и соавт., 1999; Nanji и соавт., 1995; Vallance и Chan, 2001). Однако эта гипотеза противоречива, так как NO-синтаза работает на физиологических уровнях (Boger и Bode-Boger, 2001). Было предложено много теорий, чтобы объяснить этот «аргининовый парадокс» (Boger и Bode-Boger, 2001). Во-первых, поскольку эндотелиальная изоформа оксида азота располагается в кавеолах, то может понадобиться дополнительное количество аргинина для полной утилизации оксида азота в них (Feron и Kelly, 2001). Во-вторых, дополнительное количество аргинина может понадобиться для подавления ингибиторных эффектов ингибиторов NOS. В-третьих, эффект аргинина может проявляться через его вазодилататорный и антиоксидантный эффекты (Cottart и соавт., 1999).

Аргинин угнетает воспаление и фиброгенез (Boger и Bode-Boger, 2001). В отличие от результатов, полученных в более ранних сериях экспериментов (Ijaz и соавт., 2005), данные, полученные в этом исследовании, свидетельствуют о том, что в ткани печени с ожирением нарушается кровоток не только в микроциркуляторном русле, а также выявлены значительно более низкие показатели печеночного артериального кровотока у животных, получавших этанол, по сравнению с контрольными. Однако достоверных отличий в величине портального венозного кровотока между этими группами крыс не обнаружено.

Как и ожидалось, среднее АД достоверно не отличалось между группами крыс со стеатозом и контрольной группой при назначении L-аргинина в последовательно увеличивающихся дозах. Это совпадает с данными других исследователей

о том, что L-аргинин не влияет на системное артериальное давление (Aisaka и соавт., 1989; Bauer и соавт., 1997).

Основной целью данного исследования было установить возможные эффекты L-аргинина на печеночную гемодинамику у крыс с ожирением и в контрольной группе. Последовательно увеличивающиеся дозы L-аргинина оказывали значительные эффект на печеночный артериальный кровоток крыс с ожирением и в контрольной группе. Li и соавт. (2003) изучали эффект последовательно увеличивающихся доз L-аргинина (200, 400, 600 и 800 мг/кг) со средним интервалом 6 мин при введении его интрапортально, а не внутривенно, на системную и печеночную гемодинамику нормальных самцов крыс линии Wistar. Величина печеночного артериального кровотока повышалась достоверно только после второй дозы, и затем снижалась до начального уровня. Авторы также не выявили достоверного повышения величины печеночного артериального кровотока после введений аналогичных доз NaCl.

Портальный венозный отток достоверно увеличивался после каждой дозы L-аргинина, кроме максимальной дозы 500 мг, как у крыс с ожирением, так и у контрольных животных. Каждая доза NaCl также приводила к достоверному увеличению портального венозного кровотока в этих группах. L-аргинининдуцированное увеличение венозного кровотока было значительно большим после введения доз 50 и 100 мг/кг, чем после введения NaCl. Li и соавт. (2003) также установили, что каждая доза L-аргинина значительно повышала величину портального венозного кровотока у нормальных крыс, а введение солевого раствора не оказывало никакого эффекта.

В нашем исследовании печеночная микроциркуляция достоверно улучшалась после введения каждой дозы L-аргинина и NaCl в группах крыс с ожирением и контрольной группе. Однако эффект L-аргинина был достоверно лучшим, чем солевого раствора, в обеих группах. Предыдущие исследования *in vivo* на нормальной печени показали, что L-аргинин достоверно улучшал печеночную микроциркуляцию, наблюдаемую под флюоресцентным микроскопом. L-аргинин повышал синусоидный кровоток, расширял печеночные синусы и открывал большее количество межсинусовых соединений.

У крыс с ожирением и контрольных животных печеночная тканевая оксигенация, характеризующаяся уровнем НВО₂, измеренным при помощи БИКС, достоверно улучшалась после каждой дозы L-аргинина, и этот эффект был значительно выше, чем после введения доз NaCl.

Таким образом, последовательно увеличивающиеся дозы L-аргинина улучшают общий печеночный кровоток, микроциркуляцию и тканевую оксигенацию в печени крыс с ожирением и у контроль-

ных животных. Полученные данные расширили наше понимание печеночной гемодинамики в печени со стеатозом, а также могут иметь важное значение в контексте трансплантации печени/гепатэктомии.

Перевод к. мед. н. М.Г. Романюк

ГУ «Институт урологии АМН України»

Список литературы

- Adachi Y. et al. Antibiotics prevent liver injury in rats following long-term exposure to ethanol // *Gastroenterology*.— 1995.— 108.— P. 218—224.
- Aisaka K. et al. NG-methylarginine, an inhibitor of endothelium-derived nitric oxide synthesis, is a potent pressor agent in the guinea pig: does nitric oxide regulate blood pressure in vivo? // *Biochem. Biophys. Res. Commun.*— 1989.— 160.— P. 881—886.
- Almond N.E., Wheatley A.M. Measurement of hepatic perfusion in rats by laser Doppler flowmetry // *Am. J. Physiol.*— 1992.— 262.— P. G203—G209.
- Arvidsson D., Svensson H., Haglund U. Laser-Doppler flowmetry for estimating liver blood flow // *Am. J. Physiol.*— 1988.— 254.— P. G471—G476.
- Bauer C. et al. Role of nitric oxide in the regulation of the hepatic microcirculation in vivo // *J. Hepatol.*— 1997.— 27.— P. 1089—1095.
- Boger R.H., Bode-Boger S.M. The clinical pharmacology of L-arginine // *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*— 2001.— 41.— P. 79—99.
- Cederbaum A.I. Role of lipid peroxidation and oxidative stress in alcohol toxicity // *Free Radic. Biol. Med.*— 1989.— 7.— P. 537—553.
- Cottart C.H. et al. Hepatoprotective effect of endogenous nitric oxide during ischemia-reperfusion in the rat // *Hepatology*.— 1999.— 29.— P. 809—813.
- Feron O., Kelly R.A. The caveolar paradox: suppressing, inducing, and terminating eNOS signaling // *Circ. Res.*— 2001.— 88.— P. 129—131.
- Gundersen Y. et al. Selective inhibition of inducible nitric oxide synthase maintains haemodynamic stability without untoward consequences for hepatic function or morphology // *Eur. J. Surg.*— 1999.— 165.— P. 1167—1174.
- Ijaz S. et al. The role of nitric oxide in the modulation of hepatic microcirculation and tissue oxygenation in an experimental model of hepatic steatosis // *Microvasc. Res.*— 2005.— 70 (3).— P. 129—136.
- Jones S.M., Thurman R.G. L-arginine minimizes reperfusion injury in a low-flow, reflow model of liver perfusion // *Hepatology*.— 1996.— 24.— P. 163—168.
- Koti R. et al. The relationship of hepatic tissue oxygenation with nitric oxide metabolism in ischemic preconditioning of the liver // *FASEB J.*— 2002.— 16.— P. 1654—1656.
- Kotzampassi K., Eleftheriadis E., Aletras H. Experimental and clinical evaluation of capsular and parenchymal total liver perfusion. Liver microcirculation // *HPB Surg.*— 1992.— 6.— P. 99—104.
- Langle F. et al. Improvement of cardiac output and liver blood flow and reduction of pulmonary vascular resistance by intravenous infusion of L-arginine during the early reperfusion period in pig liver transplantation // *Transplantation*.— 1997.— 63.— P. 1225—1233.
- Li X., Benjamin I.S., Alexier B. The role of nitric oxide in systemic and hepatic haemodynamics in the rat in vivo // *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*— 2003.— 368.— P. 142—149.
- Moncada S., Palmer R.M., Higgs E.A. The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator // *Hypertension*.— 1988.— 12.— P. 365—372.
- Morimoto M. et al. Modulation of experimental alcohol-induced liver disease by cytochrome P450 2E1 inhibitors // *Hepatology*.— 1995.— 21.— P. 1610—1617.
- Nanji A.A. et al. Severity of liver injury in experimental alcoholic liver disease. Correlation with plasma endotoxin, prostaglandin E2, leukotriene B4, and thromboxane B2 // *Am. J. Pathol.*— 1993.— 142.— P. 367—373.
- Nanji A.A. et al. Nitric oxide production in experimental alcoholic liver disease in the rat: role in protection from injury // *Gastroenterology*.— 1995.— 109.— P. 899—907.
- Nanji A.A. et al. Arginine reverses ethanol-induced inflammatory and fibrotic changes in liver despite continued ethanol administration // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*— 2001.— 299.— P. 832—839.
- Saibara T. et al. Effects of ethanol on L-arginine transport in rat Ito cells in relation to nitric oxide production // *Alcohol. Clin. Exp. Res.*— 2001.— 25.— P. 39S—45S.
- Seifalian A.M. et al. Hepatic microcirculation during human orthotopic liver transplantation // *Br. J. Surg.*— 1997.— 84.— P. 1391—1395.
- Shah V. et al. Liver sinusoidal endothelial cells are responsible for nitric oxide modulation of resistance in the hepatic sinusoids // *J. Clin. Invest.*— 1997.— 100.— P. 2923—2930.
- Shiraishi M. et al. Role of exogenous L-arginine in hepatic ischemia-reperfusion injury // *J. Surg. Res.*— 1997.— 69.— P. 429—434.
- Uhlmann D. et al. Exogenous L-arginine protects liver microcirculation from ischemia reperfusion injury // *Eur. Surg. Res.*— 1998.— 30.— P. 175—184.
- Valero R. et al. L-arginine reduces liver and biliary tract damage after liver transplantation from non-heart-beating donor pigs // *Transplantation*.— 2000.— 70.— P. 730—737.
- Vallance P., Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance // *Heart*.— 2001.— 85.— P. 342—350.
- Wang H.H., Lauth W.W. Evidence of nitric oxide, a flow-dependent factor, being a trigger of liver regeneration in rats // *Can. J. Physiol. Pharmacol.*— 1998.— 76.— P. 1072—1079.
- Wheatley A.M., Zhao D. Intraoperative assessment by laser Doppler flowmetry of hepatic perfusion during orthotopic liver transplantation in the rat // *Transplantation*.— 1993.— 56.— P. 1315—1318.
- Wheatley A.M. et al. Interpretation of the laser Doppler flow signal from the liver of the rat // *Microvasc. Res.*— 1993.— 45.— P. 290—301.
- Zhang B. et al. NO-mediated vasodilation in the rat liver. Role of hepatocytes and liver endothelial cells // *J. Hepatol.*— 1997.— 26.— P. 1348—1355.
- Ziche M. et al. Nitric oxide mediates angiogenesis in vivo and endothelial cell growth and migration in vitro promoted by substance P // *J. Clin. Invest.*— 1994.— 94.— P. 2036—2044.

Samia Ijaz, Marc C. Winslet, Alexander M. Seifalian

Ефект доз L-аргініну, що послідовно збільшуються, на печінкові мікроциркуляцію і тканинну оксигенацію при стеатозі

Вважають, що порушення мікроциркуляції печінки при її стеатозі робить печінку більш вразливою до ішемічно-реперфузійної травми порівняно з тканиною печінки без стеатозу. Мета дослідження — встановити ефекти доз L-аргініну, що послідовно збільшуються, на мікроциркуляцію і тканинну оксигенацію у печінці з жировою інфільтрацією.

Методи. Щури лінії Sprague-Dawley з масою тіла 250—300 г упродовж 6 тиж отримували рідинну дієту, що включала етанол, або таку саму дієту без етанолу. Оцінювали печінковий кровотік, печінкову мікроциркуляцію, рівень тканинного оксигемоглобіну у відповідь на послідовне внутрішньовенне введення L-аргініну (50 мг/кг, 100 мг/кг, 300 мг/кг і 500 мг/кг) або фізіологічного розчину.

Результати. Показники печінкового артеріального кровотоку і мікроциркуляції були значно нижчими у щурів зі стеатозом порівняно з контрольними щурами. L-аргінін значно поліпшував артеріальний та портальний кровотік, печінкову мікроциркуляцію і тканинну оксигенацію як у здоровій печінці, так і в печінці зі стеатозом.

Висновки. Застосування L-аргініну у дозах, що кумулятивно збільшуються, поліпшує печінковий кровотік, мікроциркуляцію і тканинну оксигенацію у стеатозній печінці. Отримані результати є підставою для подальшого вивчення застосування оксиду азоту з терапевтичною метою при пересадці печінки з помірним стеатозом.

Samia Ijaz, Marc C. Winslet, Alexander M. Seifalian

The effect of consecutively larger doses of L-arginine on hepatic microcirculation and tissue oxygenation in hepatic steatosis

Impairment of hepatic microcirculation in fatty liver is thought to render it more susceptible to the effects of ischaemia–reperfusion injury as compared to non-fatty liver grafts. The present study aimed to investigate the effect of consecutively larger doses of L-arginine on the hepatic microcirculation and tissue oxygenation of fatty liver.

Methods. Sprague–Dawley rats (200–250 g) were fed a liquid ethanol diet to induce hepatic steatosis or a normal diet for 6 weeks. Hepatic blood flow, microcirculation, tissue oxyhaemoglobin (HBO₂) in response to consecutive intravenous bolus administrations of L-arginine (50 mg/kg, 100 mg/kg, 300 mg/kg and 500 mg/kg) or normal saline, were assessed.

Results. Baseline hepatic arterial flows and hepatic microcirculation values were significantly lower in steatotic livers vs. control livers. L-arginine significantly improved hepatic arterial, portal venous blood flow, hepatic microcirculation and tissue oxygenation in both fatty and control livers.

Conclusions. The administration of NO in cumulatively larger doses is effective at improving hepatic blood flow, microcirculation and hepatic tissue oxygenation in steatotic liver and these results could form the basis of further work into using NO as a therapeutic tool to reclaim moderately steatotic grafts for use in liver transplantation.

Контактна інформація

Samia Ijaz
63 Cardross Street, Hammersmith, London W6 0DP, UK
Fax: +44 207 242 6444
E-mail address: samiaijaz@hotmail.com