

© І. Я. КРИНИЦЬКА, І. М. КЛІЩ

ДВНЗ "Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського"

Кислотно-лужний стан крові у щурів із модельованим гепатопульмональним синдромом

I. YA. KRYNYTSKA, I. M. KLISHCH

SHEI "Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky"

ACID-ALKALINE STATE OF BLOOD IN RATS WITH MODULATED HEPATOPULMONARY SYNDROME

В експерименті на щурах із двома моделями гепатопульмонального синдрому (ГПС) проведено дослідження кислотно-лужного стану в артеріальній крові. Результати проведеного дослідження вказують на виражений дисбаланс кислотно-лужного стану: у щурів на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки зафіксовано ознаки алкалемії, а у щурів після 8-тижневого введення тетрахлорметану – ацидемії.

In experiments on rats with two models of hepatopulmonary syndrome (HPS) the changes in the acid-alkaline state in the arterial blood were studied. Results of the investigation indicate a pronounced imbalance in acid-alkaline state in rats on the 31st day after common bile duct ligation signs of alkalemia are fixed, in rats after 8-week introduction of carbon tetrachloride signs of acidemia are fixed.

Постановка проблеми і аналіз останніх досліджень та публікацій. Кислотно-лужний стан (КЛС) організму – це одна з важливих систем, яка забезпечує стабільність метаболічного гомеостазу [1, 2]. Підтримка КЛС забезпечується відповідним транспортом кров'ю вуглекислого газу і кисню, і його порушення є тригерним механізмом багатьох патологічних змін [3]. Завдяки взаєморегуляції концентрацій HCO_3^- , CO_2 , H^+ у тканинах підтримується фізіологічне значення величини рН, що, загалом, координує активність ензимів і функціонування життєво важливих процесів. Такі істотні та постійно контрольовані показники крові, як рН, парціальний тиск вуглекислого газу, парціальний тиск кисню, а також залежні від них параметри – концентрація бікарбонатів, вміст загальної вуглекислоти, зміщення буферних основ – дають оперативну інформацію щодо стану організму, процесів газообміну в легенях, достатності чи дефіциту легеневої перфузії та вентиляції, відповідності чи дисбалансу процесів утилізації кисню у тканинах [1].

В організмі кислотно-лужний стан є надзвичайно чутливим до різних патологічних станів. Зміна концентрації та співвідношення лужних і кислих еквівалентів у клітинах та позаклітинних рідинах супроводжуються розвитком в організмі тварин і людини ацидозного або алкалозного стану. Кислотно-лужний стан живого організму пов'язаний з електrolітним балансом, процесами окиснення і відновлення, напрямом та інтенсивністю білкового, вуг-

ководного і ліпідного обміну. З іншого боку, кислотно-лужний стан сам перебуває в тісній залежності від процесів обміну речовин та діяльності органів [4, 5].

Однією з ключових ланок патогенезу гіпоксії є зміни в системі газового складу крові і, як наслідок, порушення КЛС, що є результатом порушення легеневої вентиляції та дифузії газів, а також гемодинаміки [3, 6].

За результатами наших попередніх досліджень, у щурів з модельованим гепатопульмональним синдромом було встановлено виражений дисбаланс газового складу артеріальної крові та наявність ознак гіпоксемії: зменшення парціального тиску кисню, зменшення парціального тиску вуглекислого газу, збільшення альвеолярно-артеріального градієнта кисню, зменшення індексу оксигенації, насичення гемоглобіну киснем та об'ємного вмісту кисню в крові, що зробило актуальним вивчення кислотно-лужного стану артеріальної крові у тварин з вищевказаною патологією.

Мета роботи: дослідити кислотно-лужний стан артеріальної крові при експериментальному гепатопульмональному синдромі.

Матеріали і методи. Досліди проводили на 56 безпородних щурах-самцях масою 180–220 г. У процесі моделювання патології 8 тварин загинули. Перша експериментальна модель ГПС була створена шляхом накладання подвійної лігатури на за-

гальну жовчовивідну протоку і подальшого її пересічення скальпелем [7]. У контрольній групі № 1 тварин загальну жовчовивідну протоку відділили від тканин, але не пересікали. Післяопераційну рану поширово, наглухо зашивали. На 31-шу добу після операції тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом.

Другу експериментальну модель ГПС було створено шляхом 8-тижневого внутрішньошлункового введення олійного розчину CCl_4 (400 г на 1 л) в дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла тварини в перший день експерименту, 0,3 мл на 100 г на третій день експерименту і далі кожного третього дня до закінчення експерименту – 0,3 мл на 100 г. Додатково в раціон щурів було введено суміш кукурудзяної муки, смальцю і холестеролу та розчин алкоголю. Контрольна група тварин № 2 перебувала на стандартному раціоні віварію і отримувала внутрішньошлунково оливкову олію в еквівалентній кількості [8].

Утримання тварин та експерименти проводили відповідно до положень “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” [9].

Дослідження проводили на базі лабораторії КЗ ТОР “Тернопільська університетська лікарня”. В умовах тіопентало-натрієвого знеболювання у тварин забирали артеріальну кров із лівого шлуночка серця гепаринізованим шприцом [10]. Протягом

перших 20 хв проводили дослідження показників кислотно-лужного стану крові на аналізаторі кислотно-лужної рівноваги і електролітів крові “ЭЦ-60 Э” (Скверті-Мед, Росія). Даний аналізатор “ЭЦ-60Э” автоматично вимірював рН, напруження вуглекислого газу (pCO_2) і кисню (pO_2) в артеріальній крові. На основі показників рН, pCO_2 і pO_2 , а також виміряного атмосферного тиску (P_{atm}) і введених показників гемоглобіну (Hb) дослідної тварини та вмісту кисню в повітрі (FiO_2) із врахуванням температури дослідної тварини автоматично були перераховані такі показники: актуальний бікарбонат (HCO_3^-), стандартний бікарбонат (SBC – “Standart Bicarbonate”), загальна концентрація вуглекислого газу (TCO_2 – Total CO_2), надлишок основ (Beb – “Base Excess”), сума усіх буферних основ (BB – “Buffer Base”).

Результати оброблено параметричними методами варіаційної статистики з визначенням t-критерію Стьюдента.

Результати досліджень та їх обговорення.

Результати основних показників кислотно-лужного стану артеріальної крові щурів із модельованим ГПС представлено в таблиці 1.

Одним із найбільш важливих показників, що характеризує кислотно-лужний гомеостаз, є кислотність крові, оскільки зсув рН навіть на 0,1 зумовлює порушення життєво важливих систем

Таблиця 1. Показники кислотно-лужного стану артеріальної крові щурів із модельованим гепатопульмональним синдромом ($M \pm m$)

Дослідна група	Контрольна група №1 (n=12)	Експериментальна група №1 (n=12)	Контрольна група №2 (n=12)	Експериментальна група №2 (n=12)
pH	7,37±0,01	7,46±0,02 $p_1 < 0,002$	7,38±0,02	7,33±0,01 $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,001$
HCO_3^- , ммоль/л	19,86±1,17	16,90±0,68 $p_1 < 0,05$	21±1,06	14,73±1,35 $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,05$
SBC, ммоль/л	19,45±1,12	18,28±0,92 $p_1 > 0,05$	20,25± 1,21	16,40± 0,85 $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
TCO_2 , ммоль/л	20,98±1,13	17,76±0,64 $p_1 < 0,05$	22,06±1,09	15,64±1,37 $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,05$
Beb, ммоль/л	-2,58±0,21	-2,92±0,15 $p_1 > 0,05$	-3,1±0,13	-8,70±0,71 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
BB, ммоль/л	43,50±1,33	41,50±1,54 $p_1 > 0,05$	42,50±1,80	30,75±1,84 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$

Примітка. p_1 – різниця достовірна порівняно з контрольними тваринами; p_2 – різниця достовірна порівняно з ураженими тваринами.

організму. У щурів першої експериментальної групи (на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки) зафіксовано зсув рН артеріальної крові в лужну сторону на 0,09 ($p < 0,002$) (рис. 1). Коливання досліджуваного параметра виходять за

межі фізіологічної норми для щурів (7,26–7,44) [3]. У щурів другої експериментальної групи (після 8-тижневого введення тетрахлорметану) нами встановлено достовірний зсув рН артеріальної крові в кислу сторону на 0,05 ($p < 0,05$).

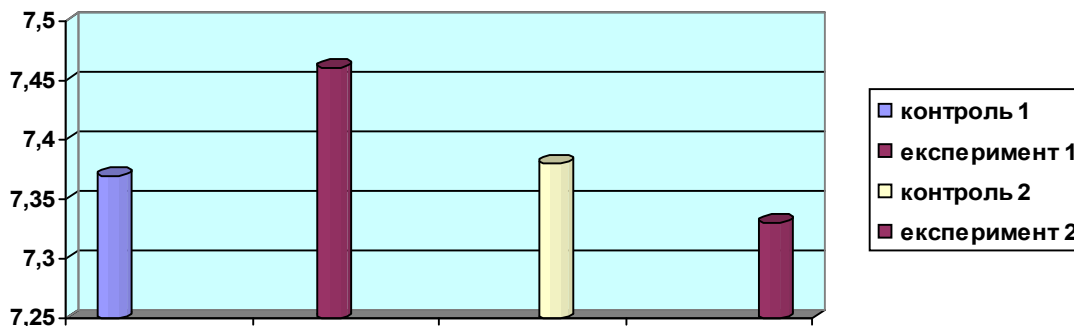


Рис. 1. Зміни рН в артеріальній крові експериментальних тварин.

Рівень актуального бікарбонату в артеріальній крові у щурів на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки достовірно зменшився на 15 % ($p < 0,05$). Крім того, у тварин даної групи мало місце зниження вмісту стандартного бікарбонату до $(18,28 \pm 0,92)$ ммоль/л, що на 6 % менше порівняно із даними контрольної групи щурів № 1. Проте ці дані виявилися статистично недостовірними ($p > 0,05$). Рівень актуального бікарбонату у щурів другої експериментальної групи також достовірно зменшився, але більш виражено на 30 % ($p < 0,01$), а вміст стандартного бікарбонату знизився до $(16,40 \pm 0,85)$ ммоль/л, що на 20 % менше порівняно із даними контрольної групи щурів № 2 ($p < 0,05$).

Загальний вміст вуглекислого газу відповідає сумарній концентрації бікарбонатів і вугільної кислоти в плазмі крові при фізіологічних умовах. Встановлено достовірне зменшення TCO_2 у щурів на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки на 15,4 % ($p < 0,05$), що разом із знизеним парціальним тиском вуглекислого газу (як показали наші попередні дослідження) свідчить про гіпокапнію. У щурів після 8-тижневого введення тетрахлорметану також зафіксовано достовірне зменшення TCO_2 на 29,4 % ($p < 0,01$).

Щодо надлишку основ, то даний показник не зазнав достовірних змін в артеріальній крові щурів на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки ($p > 0,05$). У щурів другої експериментальної групи даний показник зазнав виражених змін в артеріальній крові щурів, зменшившись у 2,8 рази ($p < 0,001$).

Буферні основи цільної крові, що являють собою суму аніонів усіх слабких кислот, основними з яких є бікарбонати й аніони білків у крові, що повністю насичені киснем, у нашому дослідженні

зазнали виражених змін, достовірно зменшившись на 28 % в артеріальній крові щурів другої експериментальної групи порівняно із даними контрольної групи щурів № 2 ($p < 0,001$). У щурів першої експериментальної групи даний показник не зазнав достовірних змін ($p > 0,05$).

Відомо, що в регулюванні кислотно-лужної рівноваги беруть участь складні системи організму: фізико-хімічні, до яких належать буферні системи крові та внутрішньоклітинні буфери, а також фізіологічні, до яких відносять регуляцію кислотно-лужної рівноваги внутрішніми органами, зокрема легеньми, нирками та печінкою [11].

У дослідженні К. Charalaboroulos [12] кислотно-лужний стан крові визначали у 49 пацієнтів із цирозом печінки, що супроводжувався асцитом. Було виявлено 22 випадки респіраторного алкалозу (44,9 %), 7 випадків метаболічного алкалозу (14,3 %), 3 випадки метаболічного ацидозу (6,1 %), 3 випадки респіраторного ацидозу, 3 (6,1 %) та 4 випадки метаболічного ацидозу з респіраторним алкалозом (8,2 %). Нормальний КЛС спостерігався у 10 пацієнтів 10 (20,4 %).

Печінка – це місце синтезу альбуміну, який є слабкою кислотою. При печінковоклітинній недостатності, що має місце при цирозі, рівень альбуміну в плазмі різко зменшується, що може сприяти виникненню алкалемії. Водночас альбумін допомагає в нейтралізації надлишку нелетких кислот, і його дефіцит може сприяти виникненню метаболічного ацидозу [13]. Зменшення синтезу сечовини печінкою також може сприяти метаболічному дефекту. Крім того, обмінна функція печінки сприяє окисненню органічних кислот до CO_2 і H_2O ; синтез глікогену частково здійснюється з лактату, чим попереджається його накопичення і зсув кислотно-лужної рівноваги в кислу сторону; в складі

жовчі з організму видаляються деякі кислоти і лужні метаболіти [11].

Патологія легень також може відігравати важливу роль у порушенні кислотно-лужного стану при цирозі печінки. Як відомо, функція легеневого дихання полягає в збагаченні організму киснем та виведенні з нього CO_2 . В спокої людина за 1 хв виділяє при диханні 230 мл CO_2 , а за добу – 330 – 400 л CO_2 . CO_2 тісно пов'язаний з вугільною кислотою, тому при його видаленні втрачається приблизно еквівалентна кількість H^+ : $\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 = \text{H}_2\text{CO}_3 = \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ [11].

Гіпервентиляція легень, про яку свідчить гіпокапнія, може бути результатом гіпоксемії вторинно до гепатопульмонального синдрому і порто-пульмональної гіпертензії, а також до рестриктивної легеневої дисфункції через наявність плеврального випоту або масивного асцити [13]. Є дані, що гіпокапнія у пацієнтів із цирозом корелює з підвищеним рівнем прогестерону та естрадіолу, руйнування яких сповільнено в ураженій печінці [14]. Цікаво, що гіпервентиляція з респіраторним алкалозом можуть

сприяти гіперлактатацидемії шляхом активізації гліколізу, оскільки алкалемія стимулює рН-залежний фермент фосфофруктокіназу і зменшує печінковий кровотік, що спричиняє подальші розлади метаболічної функції печінки [13].

Висновки. Отже, отримані результати свідчать про дисбаланс кислотно-лужного стану артеріальної крові у щурів з обома моделями гепатопульмонального синдрому, проте зміни мали різнонаправлений характер. У щурів на 31-шу добу після перев'язки загальної жовчовивідної протоки зафіксовані ознаки алкалемії, зокрема зсув рН в лужну сторону, зниження загального вмісту вуглекислого газу, зниження вмісту бікарбонату, нормальний рівень надлишку основ та буферних основ, що можна пояснити компенсаторними механізмами. У щурів після 8-тижневого введення тетрахлорметану зафіксовано ознаки ацидемії, зокрема зсув рН в кислу сторону, зниження загального вмісту вуглекислого газу, зниження вмісту бікарбонату та стандартного бікарбонату, виражене зменшення надлишку основ та буферних основ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ткаченко Т. А. Кислотно-лужний стан крові вагітних щурів за введення їм ацетату свинцю / Т. А. Ткаченко // Український біохімічний журнал. – 2008. – Т. 80, № 5. – С. 112–116.
2. Торянік Е. Л. Кислотно-лужна рівновага крові вагітних самиць щурів на тлі метаболічного ацидозу / Е. Л. Торянік // Клінічна та експериментальна патологія. – 2011. – Т. 10, № 2 (36). – С. 113–117.
3. Лук'ячук В. Д. Вплив МІГУ-2 на газовий склад та кислотно-лужну рівновагу крові у щурів з гіпоксичною гіпоксією на тлі гіпертермії / В. Д. Лук'ячук, Н. В. Вітохіна, Д. С. Кравець, І. Й. Сейфулліна, В. М. Ткаченко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – Т. 5, № 3. – С. 91–95.
4. Калінін І. В. Кислотно-лужний стан крові щурів при свинцевому отруєнні і застосуванні вітаміну В12 / І. В. Калінін, І. А. Вишницька // Український морфологічний альманах. – 2005. – Т. 3, № 3. – С. 23–24.
5. Горн М. Мима. Водно-электролитный и кислотно-основной баланс / Мима М. Горн, Хейтц И. Урсула, Сверинген Л. Памела [пер. с англ. В. И. Легезы]. – СПб. : Невский проспект, 1999. – 320 с.
6. Хорошаш А. Н. Влияние ингибитора АПФ моэксиприла на газовый состав и кислотно-основное состояние у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с хроническим обструктивным бронхитом / А. Н. Хорошаш, Т. З. Сейсенбеков, Р. С. Досмаганбетова // Кардиология. – 2009. – № 2. – С. 14–16.
7. Fallon M. B. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome / M. B. Fallon, G. A. Abrams, J. W. McGrath [et al.] // Am. J. Physiol. – 1997. – Vol. 272. – P. 779–784.
8. Zhang Hui-Ying. Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: A new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia / Hui-Ying Zhang, De-Wu Han, Zhong-Fu Zhao [et al.] // World J. Gastroenterology. – 2007. – Vol. 13 (25). – P. 3500-3507.
9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe. Strasbourg. – 1986. – № 123. – 52 p.
10. Пат. 63892U, МПК А61В 17/00. Спосіб відбору крові в експерименті у щурів / Гудима А. А., Доброродній А. В., Марущак М. І. [та ін.] – № u 2011 03185 ; заявл. 18.03.11 ; опубл. 25.10.11, Бюл. № 20.
11. Ангельські С. Клінічна біохімія / С. Ангельські, М. Г. Домінічак, З. Якубовські // "Персей", Польща. – 451 с.
12. Alterations in Arterial Blood Parameters in Patients with Liver Cirrhosis and Ascites / K. Charalabopoulos, D. Peschos, L. Zoganas [et al.] // Int. J. Med. Sci. – 2007. – Vol. 4. – P. 94–97.
13. Bernardi M. Disturbances of acid-base balance in cirrhosis: a neglected issue warranting further insights / M. Bernardi, S. Predieri // Liver International. – 2005. – Vol. 25. – P. 463–466.
14. Lustik S. J. The hyperventilation of cirrhosis: progesterone and estradiol effects / S. J. Lustik, A. K. Chhibber, J. W. Kolano [et al.] // Hepatology. – 1997. – Vol. 25. – P. 55–58.

Отримано 26.09.12