

УДК 612.018:612.351.5

ВПЛИВ ПОПЕРЕДНИКА СИНТЕЗУ СІРКОВОДНЮ L-ЦИСТЕЇНУ НА КРОВООБІГ У ПЕЧІНЦІ ЩУРІВ

Слободяник Л. О., Янчук П. І.

Вплив попередника синтезу сірководню L-цистеїну на кровообіг у печінці щурів. — Слободяник Л. О., Янчук П. І. — Внутрішньопортальне введення L-цистеїну у дозі 15 мг/кг викликає розширення кровоносних судин печінки у щурі, знижуючи тиск крові в них та збільшуючи тканинний кровотік в органі і його кровонаповнення.

Ключові слова: печінка, портальний тиск, кровонаповнення, локальний кровотік, сірководень, L-цистеїн.

Адреса: Київський національний університет імені Тараса Шевченка ННЦ «Інститут біології», Україна, 03022, м. Київ-022, проспект академіка Глушкова 2

e-mail: ludaluda2007@ukr.net, yanchuk49@ukr.net

The influence of the precursor of hydrogen sulfide synthesis L-cysteine on the blood flow in the rats liver. — L. Slobodjanik, P. Yanchuk. — The intravenous injection of L-cysteine in dose 15 mg/kg causes lowering of the liver blood pressure and increasing of the tissue blood flow in the liver and blood supply authority by dilation of the blood vessels in the rats liver.

Key words: liver, portal pressure, blood supply, tissue blood flow, hydrogen sulfide, L-cysteine.

Address: Taras Shevchenko National University of Kyiv ESC "Institute of Biology", Ave. Glushkov 2, Kyiv, Ukraine, 03022

Вступ

Печінка відіграє надзвичайно важливу роль у життєдіяльності організму завдяки багатьом функціям, які вона виконує, зокрема: жовчосекреторній, обміну речовин, деїнтоксикаційній, депонування крові та вітамінів і ряду інших. Здійснення цих функцій можливе лише за умов адекватного перебігу метаболічних процесів у ній та належного кровопостачання органа [12]. Серед речовин, що надходять до кровоносного русла печінки і виявляють свої впливи, є амінокислоти. Сірковмісна амінокислота L-цистеїн може виступати в якості попередника газового трансмітера сірководню (H_2S), який залучається до різноманітних фізіологічних процесів, пов'язаних з регуляцією гомеостазу, імунітету, передачі нервових імпульсів у клітинах центральної і периферичної нервової системи [5, 2], та використовуватися в клінічній практиці як кардіопротектор [19]. Але серед великого різновиду біологічних властивостей цієї молекули особливе місце посідає її здатність бути потужним судиннорозширювальним фактором [6, 7, 8, 14]. І хоча на сьогодні існують поодинокі роботи стосовно впливу сірководню на функціонування печінки [10], проте дія H_2S на судинне русло печінки майже не вивчена. Тому метою нашої роботи було дослідити участь L-цистеїну, як попередника H_2S , на кровообіг у печінці щурів.

Методи дослідження

Робота виконана в гострих дослідах на 30 білих лабораторних щурах нащадках лінії *Wistar* обох статей (12 – самок, 18 – самців) масою 200–350 г. Тварин наркотизували шляхом внутрішньоочеревинного введення розчину уретану (1 г/кг).

Під час експерименту у тварин реєстрували системний артеріальний тиск (САТ) та тиск у ворітній вені (Твв). Для цього здійснювали катетеризацію однієї із загальних сонних артерій та ворітної вени (ВВ). Вільні кінці катетерів під'єднували до датчиків електроманометра ЕМТ–31. Реєстрацію змін кровонаповнення печінки (КНП) здійснювали методом імпедансної плетизмографії [3], використовуючи реограф РГ-4-01. Локальний кровотік (ЛК) в печінці визначали методом кліренсу водню з електрохімічною його генерацією – полярографом LP-9. Всі показники записували на реєстраторі Н071.6М.

Впродовж досліду у щурів за допомогою електротермометра ТПЕМ–1 вимірювали внутрішньоректально температуру тіла і підтримували її на рівні $38 \pm 0,5 C^0$ за допомогою електрообігрівача.

У дослідженнях використовували амінокислоту L-цистеїн у дозі 15 мг/кг, яку вводили у ворітну вену безпосередньо або через гілку однієї із брижових вен.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням пакету програм STATISTICA 8.0.

Для оцінки нормальності розподілу застосовували тест Шапіро-Вілка. Оскільки всі результати досліджень мали нормальний розподіл, то для оцінки значущих відмінностей між залежними вибірками використовували t-критерій Стьюдента. Результати, отримані у дослідженнях, представляли у вигляді $M \pm SD$ (середнє значення \pm середньоквадратичне відхилення). Відмінності між групами вважали вірогідними при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати дослідження

За умов внутрішньопортального введення L-цистеїну в дозі 15 мг/кг системний артеріальний тиск та тиск у ворітній вені знижувались на 17,6% ($p < 0,001$) і 24,5% ($p < 0,001$) відповідно, КНП та ЛК у печінці збільшувались на 28,2% ($p < 0,001$) та 24,4% ($p < 0,001$) відповідно (рис. 1; табл. 1).

Це свідчить про те, що при болюсному введенні L-цистеїну у ворітну вену кровоносні судини печінки розширюються, внаслідок чого кровонаповнення залози та локальний кровотік в ній збільшуються, а тиск крові в її артеріальних і портальних судинах знижується.

Така реакція кровоносних судин печінки на екзогенне введення L-цистеїну, ймовірно всього, зумовлена додатковою активацією ферментів цистатіон- γ -ліази і цистатіонін- β -синтази, які здатні посилювати синтез H_2S . Відомо, що сірководень може здійснювати прямий вплив на гладенько-м'язові клітини (ГМК) шляхом відкриття калієвих каналів, які чутливі до концентрації аденозинтрифосфату (АТФ) [11, 15].

(Твв) шурів, у відповідь на внутрішньопортальне введення L-цистеїну (15 мг/кг).

Зв'язуючись з сірковмісними групами білків цих каналів, H_2S змінює їх просторову конфігурацію і тим самим сприяє їх відкриття [1], що і призводить до посиленого виходу іонів калію з клітини в міжклітинний простір. Водночас, активація АТФ-чутливих калієвих каналів супроводжується інактивацією потенціал-чутливих кальцієвих каналів L-типу, котрі забезпечують надходження іонів кальцію (Ca^{2+}) всередину клітини. Висока внутрішньоклітинна концентрація Ca^{2+} є необхідною умовою розвитку скорочення гладенько-м'язових клітин. Закриття цих каналів спричиняє зменшення концентрації вільного внутрішньоклітинного Ca^{2+} [16, 18] і викликає розслаблення гладенько-м'язових клітин кровоносних судин, що зумовлює їх розширення та зниження артеріального і ворітного тисків.

Разом з тим, під впливом L-цистеїну спостерігається зростання об'єму депонованої у печінці крові. Головна роль у реакціях кровонаповнення печінки належить печінковим венам та дрібним печінковим венам, які здатні до розтягнення та вміщують в собі велику кількість крові [4]. Крім того, істотний об'єм крові знаходиться в синусоїдах печінки [17], що відіграють не менш важливу роль, оскільки їх діаметр перевищує діаметр звичайних капілярів у декілька разів. Завдяки цьому та великій сумарній кількості, синусоїди спроможні також містити в собі значну частку крові. Варто зазначити, що в процесі депонування крові синусоїдами важливе місце належить зірчастим ретикулоендотеліоцитам та клітинам Купфера. До зірчастих ретикулоендотеліоцитів відносять перицити, ліпоцити та клітини Іто [13]. До того ж, депонуюча функція печінки пов'язана також з роботою сфінктерів, що локалізовані на пре-та постсинусоїдних ділянках в органі. Речовини що надходять до кровоносного русла, впливаючи на сфінктерну ділянку, призводять до стиснення судини, або, навпаки, здатні збільшувати їх просвіт. До пресинусоїдних сфінктерів належать внутрішньопечінкові ворітні вени, які змінюючи свій діаметр здатні регулювати надходження крові до мікроциркуляторного русла печінки.

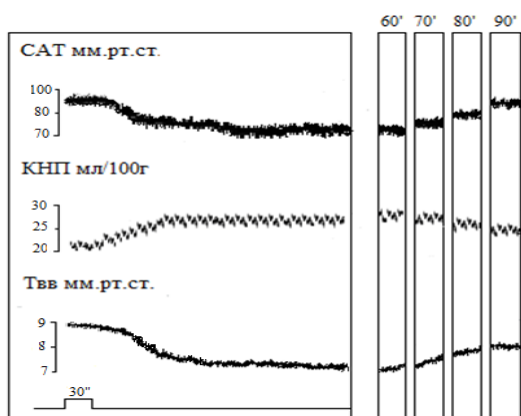


Рис. 1. Реакції системного артеріального тиску (САТ), кровонаповнення печінки (КНП) та тиску у ворітній вені

Таблиця 1. Зміни системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв), кровонаповнення печінки (КНП) та локального кровотоку (ЛК) в печінці шурів при внутрішньопортальному введенні L-цистеїну в дозі 15 мг/кг (n=30)

| Показники | Вихідний рівень | Максимум реакції | % реакції від вихідного рівня |
|---------------|-----------------|-------------------------------|-------------------------------|
| САТ мм.рт.ст. | 85,7 \pm 7,3 | 70,7 \pm 9,7; $p < 0,001$ | 82,4 |
| Твв мм.рт.ст. | 9,0 \pm 3,1 | 6,8 \pm 2,4; $p < 0,001$ | 75,5 |
| КНП мл/100г | 20,5 \pm 2,2 | 26,3 \pm 1,7; $p < 0,001$ | 128,2 |
| ЛК мл/хв/100г | 93,4 \pm 7,3 | 116,2 \pm 11,9; $p < 0,001$ | 124,4 |

Проте, ключова роль у регуляції діаметру синусоїд належить клітинам Іто, оскільки розташовуються вони навколо синусоїдних клітин та містять у своєму складі скоротливий білок десмін та α -актин. І тому вазоактивні фактори, впливаючи на ці клітини, спроможні регулювати тонус синусоїдів.

Такі зміни тону судин залози можна пояснити тим, що в гепатоцитах та зірчастих клітинах печінки виявлено мРНК ферменту цистатіонінліази, котрий має здатність розщеплювати L – цистеїн та сприяти виділенню H_2S [9] цими клітинами.

Синтез сірководню з L – цистеїну призводить до розширення судин печінки.

Висновки

Таким чином, результати наших досліджень свідчать про те, що H_2S відіграє важливу роль у регуляції кровообігу в печінці, оскільки внутрішньопортальне введення його попередника L-цистеїну зумовлює розширення її кровеносних судин, знижуючи тиск крові в них та збільшуючи тканинний кровотік в органі і його кровонаповнення.

1. Резник Н.Л. Третий газ. // Химия и жизнь. – 2009. – № 10 – С. 40-46.
2. Ситдикова Г.Ф., Зефирова А.Л. Газообразные посредники в нервной системе. // Рос. физиол. журн.им. И.М. Сеченова. – 2006 – Т.97, № 7 – С. 872-882.
3. Цыбенко В.А., Янчук П.И., Симоненко П.Н. Применение импедансной плетизмографии для изучения депонирующей функции печени в остром опыте. // Физиол. журн. АН УССР. – 1984. – Т.30, №6. – С.756-758.
4. Янчук П.И., Приходько Т.П., Пасічніченко О.М. та ін. Механізм скоротливої дії ацетилхоліну на печінкові вени. // Фізіол. ж. – 2011. – Т.57, № 1. – С. 21-26.
5. Bhatia M., Sidhapuriwala J., Moochhala S.M., Moore P.K. Hydrogen sulphide is a mediator of carrageenan-induced hind paw oedema in the rat. // Br. J. Pharmacol. – 2005. – Vol. 145. – P. 141-144.
6. Cheng Y., Ndisang J., Tang G., Cao K., Wang R. Hydrogen sulfide induced relaxation of resistance mesenteric artery beds of rats. // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. – 2004. – Vol. 287. – P. 2316–2323.
7. Coletta C., Szabo C. Potential role of hydrogen sulfide in the pathogenesis of vascular dysfunction in septic shock. // Curr. Vasc. Pharmacol. – 2013. – Vol.11, № 2. – P. 208-21.
8. Dombkowski R.A., Russell M.J., Schulman A.A. et al. Vertebrate phylogeny of hydrogen sulfide vasoactivity. // Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2005. – Vol. 288. – P.243-252.
9. Fiorucci S., Antonelli E., Mencarelli A. et al. The third gas: H_2S regulates perfusion pressure in both the isolated and perfused normal rat liver and in cirrhosis. // Hepatology. – 2005. – Vol. 42. – P. 539–548.
10. Fiorucci S., Distrutt E., Giuseppe C., John L. et al. The emerging roles of hydrogen sulfide in the gastrointestinal tract and liver. // Gastroenterology. – 2006. – Vol. 131. – P. 259-271.
11. Jang G., Wu L., Liang W., Wang R. Direct stimulation of K (ATP) channels by exogenous and endogenous hydrogen sulfide in vascular smooth muscle cells. // Mol. Pharmacol. – 2005. – Vol. 68 – P. 1757–1764.
12. Lautt W., Macedo M. Nitric oxide and the hepatic circulation. // J. Physiol. – 2000. – P. 243 – 258.
13. McCuskey R.S. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. // Liver. – 2000. – Vol. 20. – P.13–17.
14. Sun Yan, Tang Chao-shu, et al. Hydrogen sulfide and vascular relaxation. // Chin. Med. J. – 2011. – Vol. 124, № 22. – P. 3816-3819.
15. Wai San Cheanga, Wing Tak Wonga, Bing Shenet al. 4-Aminopyridine-sensitive K⁺channels contributes to NaHS-induced membrane hyperpolarization and relaxation in the rat coronary artery. // Vascular Pharmacology – 2010. – Vol. 53. – P. 94–98.
16. Xiao Yu Tiana, Wing Tak Wonga et al. NaHS relaxes rat cerebral artery *in vitro* via inhibition of l-type voltage-sensitive Ca²⁺channel. // Pharmacological Research. – 2012. – Vol.65. – P. 239–246.
17. Yanchuk P., Prikhodko T., Pasichnichenko O. et al. Mechanisms of contractile action of acetylcholine on hepatic vein. // Intern. J. Physiology and Pathophysiology. – 2011. – Vol.2, № 4. – P. 379-387.
18. Zhao W., Zhang J., Lu Y., Wang R. The vasorelaxant effect of H_2S as a novel endogenous gaseous K (ATP) channel opener. // EMBO J. – 2001. — Vol. 20 – P. 6008–6016.
19. Zhu Y.Z., Wang Z.J., Ho P. et al. Hydrogen sulfide and its possible roles in myocardial ischemia in experimental rats. // J. Appl. Physiol. – 2007. – Vol. 102. – P. 261–268.

Отримано: 9 квітня 2014 р.

Прийнято до друку: 27 травня 2014 р.