

ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

DOI: 10.30906/0869-2092-2022-85-5-10-14

ВЛИЯНИЕ ГЛИЦИНА НА КИСЛОТНО-ЩЕЛОЧНОЕ СОСТОЯНИЕ КРОВИ В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО РЕПЕРФУЗИОННОГО СИНДРОМА ГОЛОВНОГО МОЗГА

Л. М. Макарова^{1,*}, М. В. Черников¹, В. Е. Погорелый¹,
Т. И. Макарова², Т. Е. Онбыш³, Н. Е. Косянок⁴

Проведено экспериментальное исследование влияния глицина в дозе 100 мг/кг на показатели кислотно-щелочного состояния артериальной и венозной крови при моделировании тотальной церебральной ишемии головного мозга у кошек. На 15, 60 и 120 мин реперфузии в крови определяли показатели pH и напряжение углекислого газа (pCO₂), а по номограмме Зиггарда — Андерсена также рассчитывали показатели, характеризующие изменения со стороны буферных систем организма: стандартного бикарбоната, суммы буферных оснований, сдвиг буферных оснований. Забор артериальной крови производили из общей сонной артерии, венозной — из сагиттального синуса. У животных без фармакологической коррекции констатировали выраженные изменения со стороны показателей кислотно-щелочного состояния: снижение pCO₂ до 28,5 % ($p \leq 0,05$), суммы буферных оснований — более чем на 30 % ($p \leq 0,05$), стандартного бикарбоната — более чем на 40 % ($p \leq 0,05$). Экспериментально установлено, что введение глицина ограничивает нарушения кислотно-щелочного состояния: лимитирует постишемическую ацидемию (15 – 60 мин) и гипервентиляцию (15 – 120 мин), а также препятствует истощению буферных систем организма (15 – 60 мин). Данное влияние глицина на показатели кислотно-щелочного равновесия следует рассматривать как один из параметров, вносящий вклад в его нейропротекторный эффект.

Ключевые слова: глицин; кислотно-щелочное равновесие; реперфузионный синдром; ишемия головного мозга.

ВВЕДЕНИЕ

Анализ современной литературы свидетельствует о большом интересе к глицин-индуцированной нейропротекции [10, 12]. В Российской Федерации глицин (сублингвально) используется бригадами скорой помощи в остром периоде инсульта (Приказ Минздрава России от 20.12.2012 г. № 1282н). Защитное действие глицина на головной мозг (ГМ) обусловлено различными механизмами. Установлено, что данная аминокислота активирует естественные тормозные процессы, взаимодействуя с глицин- и ГАМКергическими рецепторами ГМ, обладает антигипоксическим и анти-

токсическим действием [14]. Кроме того, глицин снижает количество продуктов окислительного стресса в зоне ишемии, улучшает микроциркуляцию в ГМ. Исследованиями последних лет установлено, что глицин потенцирует функцию рецептора AMPA через неионотропную активацию GluN2ARs [13]. Несмотря на то, что действие глицина при острых ишемических нарушениях мозгового кровообращения изучено весьма хорошо, его влияние на показатели кислотно-щелочного состояния (КЩС) при реперфузионном повреждении ГМ остается недостаточно изученным аспектом [14].

Учитывая, что КЩС внутренней среды являются важнейшим составляющим гомеостатического процесса [2] и то, что многочисленные исследования свидетельствуют о многогранном влиянии глицина на метаболизм в ГМ [3], его исследование на показатели кислотно-основного гомеостаза при реперфузионном синдроме позволяет выявить ранее неизвестные аспекты действия данной аминокислоты.

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России, Россия, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11.

² ФГБОУ ВО Пятигорский государственный университет, Россия, 357532, Пятигорск, проспект Калинина, 9.

³ ФГБОУ ВО Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, Россия, 350044, Краснодар, ул. Калинина, 13.

⁴ ФГБОУ ВО Кубанский государственный медицинский университет Минздрава России, Россия, 350063, Краснодар, ул. Седина, 4.

* e-mail: makarova.lm@mail.ru

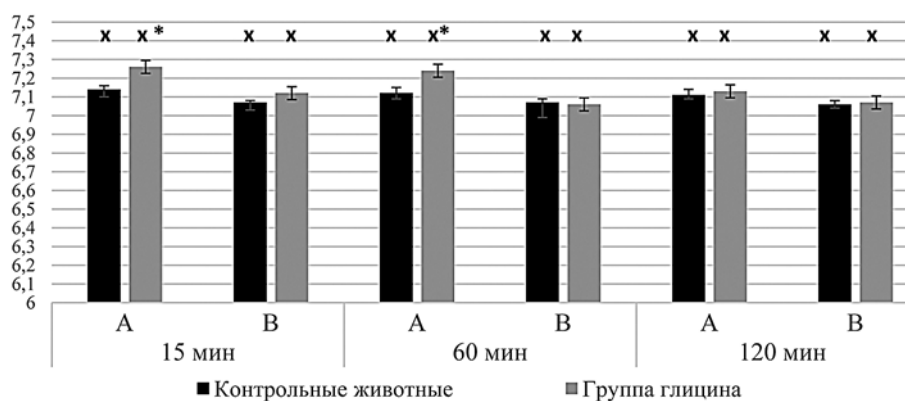


Рис. 1. Динамика изменений рН в артериальной (А) и венозной (В) крови в реперфузионном периоде в контрольных опытах и в опытах с глицином.

По оси абсцисс — значения рН, по оси ординат — время наблюдения.

Примечание: обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) сдвиги параметров по сравнению: x — с исходными данными; * — с контрольной группой животных.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проведены на кошках массой 3–4 кг в условиях аутогемоперфузии ГМ стабильным объемом крови.

Животных содержали в условиях вивария в естественном световом режиме со свободным допуском к воде и корму. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики при проведении доклинических исследований в Российской Федерации (ГОСТ 351.000.3–96 и 51000.4–96), Приказу Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н “Об утверждении Правил лабораторной практики”. Для наркоза использовали уретан (500 мг/кг) и хлоралозу (50 мг/кг), коагуляцию крови предотвращали введением гепарина (500 ед/кг). Стабильная вентиляция легких поддерживалась аппаратом искусственного дыхания “ВИТА-1”. Ишемию ГМ моделировали путем билатеральной окклюзии сонных артерий в течение 15 мин на фоне системной артериальной гипотензии до 40 мм рт. ст. [1]. В микропробах крови через 15, 60 и 120 мин после острой ишемии ГМ определяли рН и pCO_2 в артериальной и венозной крови на микроанализаторе “Radelkis”. Расчет стандартного бикарбоната (SB), суммы буферных оснований (BB), сдвига (избытка или дефицита) буферных оснований (BE) проводили по номограмме Зиггаарда — Андерсена. Забор артериальной крови производили из общей сонной артерии, венозной — из сагиттального синуса.

Эксперименты проведены на 2 группах животных (в каждой группе 8 животных): контрольная группа — животные, которым вводили физиологический раствор, и опытные группы — кошки, которым вводили внутривенно (сразу после ишемии) глицин (100 мг/кг) в объеме 0,5 мл/кг. Контрольной группе животных вводили эквивалентный объем растворителя (0,9 % раствор натрия хлорида).

Статистическая обработка полученных результатов проведена с помощью пакета программ Biostat. Ре-

зультаты представлены в виде $M \pm m$, где M — среднее арифметическое, m — среднеквадратичное отклонение. Для доказательства значимости различий средних арифметических между двумя эмпирическими совокупностями для выборок, имеющих распределение, не отличающееся от нормального, использовали критерий Стьюдента и Фишера. При сравнении выборок с попарно связанными вариантами использовали парный критерий Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исходные показатели КЩС у животных соответствовали физиологической норме (таблица).

У животных контрольной группы возобновление кровотока в ишемизированном ГМ приводило к выраженному снижению рН крови (рис. 1), которое сочетается с понижением pCO_2 (рис. 2). Несмотря на компенсаторное снижение pCO_2 , резервные возможности буферных систем организма исчерпываются, и наступает резкое снижение рН крови (декомпенсированный ацидоз) уже на 15 мин реперфузионного периода (рис. 1).

Анализируя напряжение углекислого газа в крови в постишемическом периоде выявлено, что в артериальной крови его снижение оказывается более выраженными, чем в венозной. Так, на 15 мин реперфузии показатель pCO_2 был ниже исходных значений соответственно в артериальной и венозной крови на 14,9 и 7,2 %, на 60 мин — на 25,6 и 13,5 %, а к концу наблюдения — на 28,5 и 14,2 % (рис. 2).

В контрольной серии опытов сразу после возобновления кровотока происходит резкое снижение активности ВВ более чем на 30 % (рис. 3). Более выраженное ослабление наблюдается со стороны карбонатного буфера (более чем на 40 %). Ишемическое воздействие приводит и к увеличению дефицита всех основных компонентов буферной системы крови (рис. 3, а). Следует также отметить, что показатель ВЕ в течение всего периода наблюдения как в артериальной, так и в в-

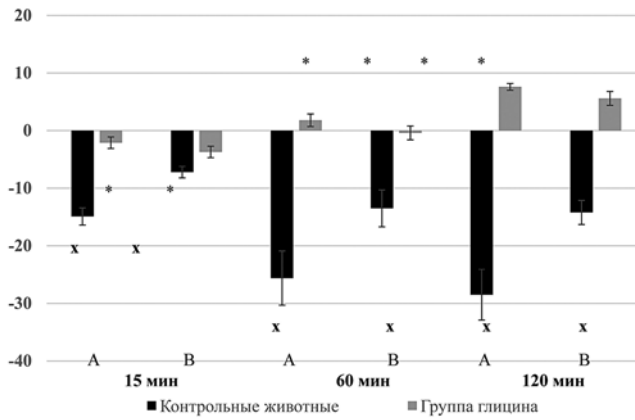


Рис. 2. Динамика изменений показателя $p\text{CO}_2$ (%) в артериальной (А) и венозной (В) крови в реперфузионном периоде в контрольных опытах и в опытах с глицином.

По оси абсцисс — изменение $p\text{CO}_2$ (%) относительно исходных значений, по оси ординат — время наблюдения (мин).

Примечание: обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) сдвиги параметров по сравнению: х — с исходными данными; * — с контрольной группой животных.

нозной крови имел сходные значения (рис. 3, а). Таким образом, ишемия ГМ сопровождается выраженными нарушениями КЩС, носящими декомпенсированный метаболический характер. Значительные нарушения кислотно-щелочного равновесия в ГМ наблюдаются уже на 15 мин реперфузии и сохраняются до конца эксперимента.

При изучении влияния глицина на показатели кислотно-щелочного равновесия в условиях реперфузии ГМ выявлено, что он ограничивает понижение рН крови в артериальной пробе на 15 – 60 мин наблюдения (рис. 1), препятствует развитию гипервентиляции (рис. 2) и истощению буферной емкости крови (рис. 3, б) на протяжении 120 мин наблюдения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у животных контрольной группы развитие декомпенсированного метаболического ацидоза констатировали уже на 15 мин реперфузии. Существенное снижение рН на фоне компенсаторного уменьшения в крови $p\text{CO}_2$ свидетельствует об истощении резервных возможностей буферных систем. Такое состояние приводит к нарушению протекающих в организме биохимических реакций, следствием чего являются расстройства практически всех функций организма, в том чис-

ле тяжелые, жизнеугрожающие нарушения дыхания и сердечной деятельности. Усиленное выведение углекислого газа в постишемическом периоде из крови является компенсаторным фактором, направленным на снижение “кислотности” крови. При острой гипервентиляции газовый алкалоз вызывает сужение мозговых сосудов, что приводит к снижению церебрального кровотока, объема крови в ГМ и, соответственно, внутричерепного давления. Следует отметить, что, согласно литературным данным, существует линейная зависимость между кровообращением в ГМ и $p\text{CO}_2$ артериальной крови [16]. Углекислый газ является одним из основных регуляторов мозгового кровотока [15]. Экспериментальные исследования также позволяют утверждать, что $p\text{CO}_2$ действует независимо и/или в сочетании с измененным рН. Это действие может быть связано с прямым влиянием $p\text{CO}_2$ на гладкомышечные элементы, а также на эндотелий сосудов, нервы и астроциты. В то же время известно, что рН крови является фактором, регулирующим метаболизм в ГМ и нейрональную активность, а ответ церебральных сосудов на изменения CO_2 считают высокочувствительной реакцией, позволяющей оценить их реактивность [9].

Полученные нами данные указывают на то, что в течение 60 мин периода реперфузии на фоне применения глицина нарушения КЩС животных были менее выражены, чем у животных контрольной группы.

Анализируя процессы кислотно-щелочного равновесия при реперфузионном синдроме ГМ, мы обнаружили изменения показателей, полученных расчетным путем. Установлено, что в постишемическом периоде в крови уменьшается показатель ВВ (более чем на 30 %), характеризующий общую буферную емкость крови (рис. 3), т.е. карбонатную, фосфатную, белковую и гемоглобиновую, а также показатель SB (более чем на 40 %), характеризующий непосредственно самый мобильный буфер — карбонатный. Именно гидрокарбонатная буферная система является основным буфером крови и межклеточной жидкости и составляет около 50 % буферной емкости крови и более 90 % — плазмы и интерстициальной жидкости [5]. Кроме того, анализируя показатели, полученные по номограмме, установлено, что ишемическое воздействие на ГМ приводит и к увеличению дефицита всех основных компонентов буферной системы (показатель BE) как

Исходные показатели КЩС

Исследуемые показатели	Контрольные опыты		Опыты с глицином	
	Артериальная кровь	Венозная кровь	Артериальная кровь	Венозная кровь
рН	7,42 ± 0,01	7,37 ± 0,01	7,41 ± 0,01	7,35 ± 0,01
$p\text{CO}_2$, мм рт. ст.	34,4 ± 3,7	45,3 ± 4,9	36,0 ± 3,7	52,8 ± 6,2
ВВ, ммоль/л	34,8 ± 2,0	37,2 ± 2,1	33,5 ± 1,4	38,0 ± 2,0
BE, ммоль/л	-3,1 ± 1,7	-2,4 ± 1,7	-2,4 ± 1,2	-2,5 ± 1,4
SB, ммоль/л	22,5 ± 2,5	24,4 ± 1,4	21,7 ± 1,3	22,6 ± 1,4

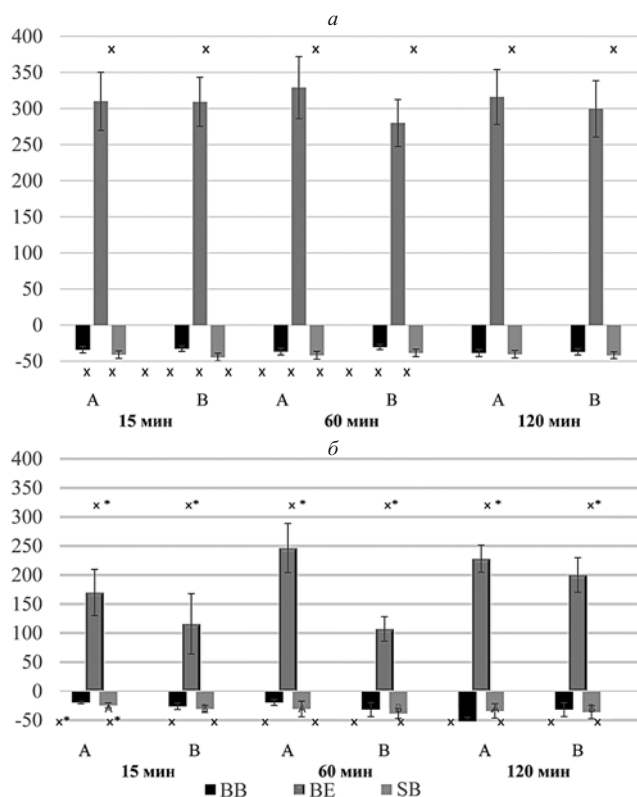


Рис. 3. Динамика изменений показателей суммы буферных оснований (BB), сдвига буферных оснований (BE) и сдвига стандартного бикарбоната (SB) (в %) в контрольных опытах (а) и в опытах с глицином (б) в реперфузионном периоде в артериальной (А) и венозной (В) крови.

По оси абсцисс — изменения показателей КЩС (%) относительно значений до моделирования патологии, по оси ординат — время наблюдения (мин).

Примечание: обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) сдвиги параметров по сравнению: x — с исходными данными; * — с контрольной группой животных.

артериальной, так и венозной крови (рис. 3, а). Увеличение дефицита буферных оснований в постишемическом периоде связано с существенным повышением избытка “нелетучих” кислот в артериальной и в венозной пробах. Так как снижение карбонатной буферной емкости в реперфузионном периоде происходит в большей степени, чем общей, то можно сделать заключение о ведущей роли гемоглобиновой буферной системы в поддержании гомеостаза в условиях ишемии. Сопоставление изменения рН крови (существенное понижение) и раннее снижение (на 15 мин реперфузии) показателей SB и BE у животных без применения глицина позволяет высказать предположение о развитии у них декомпенсированного респираторного алкалоза.

Глицин ограничивает постишемические нарушения КЩС. В отличие от контрольных опытов, где было выявлено истощение компенсаторных механизмов и констатировали развитие декомпенсированного нереспираторного (метаболического) ацидоза уже в первые 15 мин реперфузионного синдрома, при введении это-

го препарата в течение 60 мин после возобновления кровотока в поврежденном ГМ не происходит снижение рН крови в среднем ниже 7,24 (рис. 2). Также было установлено, что введение глицина в дозе 100 мг/кг лимитирует снижение концентрации стандартного бикарбоната и общей емкости буферных систем организма, эффективно ограничивает увеличение дефицита буферных оснований (рис. 3, б). Важно отметить, что глицин существенно препятствует постишемическому снижению pCO_2 в крови. Значимое ограничение нарушения со стороны КЩС артериальной и венозной крови, выявленное у животных в период реперфузии, свидетельствует о способности данного препарата поддерживать активность (емкость) буферных систем организма. Ограничение постишемической ацидемии и гипервентиляции при применении глицина можно связать с рядом моментов. Во-первых, в многочисленных исследованиях установлено позитивное влияние данного препарата на метаболизм ишемизированного ГМ. Так, показано, что глицин ослабляет гипоксически-ишемическое повреждение нейронов путем снижения митохондриально-опосредованной аутофагии [11]. Кроме того, в эксперименте показано, что применение глицина повышает устойчивость организма к дефициту кислорода, а также ограничивает нарушения со стороны углеводного обмена и процессов перекисного окисления липидов в условиях ишемии ГМ [4]. В модели гипоксии *in vivo*, как при гипоксии на срезах ГМ и митохондриях *in vitro*, глицин выступает в роли протектора, снижающего генерацию активных форм кислорода в митохондриях и тем самым предотвращает нарушение энергетики митохондрий ГМ [6]. Неионотропная активность NMDA-рецепторов способствует глицин-индуцированной нейропротекции при ишемии и реперфузии ГМ [12]. Исследованиями последних лет установлено, что глицин потенцирует функцию рецептора AMPA через неионотропную активацию GluN2ARs [13].

Во-вторых, глицин способен поддерживать кислотность в области физиологических значений рН [8], что позволяет предполагать у него не только опосредованное влияние на КЩС вследствие ограничений нарушения энергетики ишемизированного ГМ, но и прямое воздействие на рассматриваемые показатели.

Таким образом, проведенное исследование по оценке влияния глицина в дозе 100 мг/кг на КЩС при реперфузионном синдроме ГМ свидетельствует о его способности эффективно ограничивать развитие постишемического ацидоза и гипоксии. Данное влияние глицина на показатели кислотно-щелочного равновесия после острой ишемии ГМ следует рассматривать как один из параметров, вносящий вклад в его нейропротекторный эффект.

Исследования газового состава и КЩС крови, обусловленные острой церебральной ишемией, отражают нарушения обменных процессов как дыхательного, так и метаболического характера, что позволяет осу-

ществлять дифференцированное лечение и профилактику. В связи с этим проведенное исследование, посвященное влиянию глицина в дозе 100 мг/кг при воздействии на параметры кислотно-основного равновесия, подтверждает целесообразность применения данного препарата в ранний период нарушений кровообращения ГМ ишемического генеза.

ВЫВОДЫ

1. Выраженные изменения со стороны показателей КЩС — снижение $p\text{CO}_2$ до 28,5 % ($p \leq 0,05$), ВВ более чем на 30 % ($p \leq 0,05$), СВ более чем на 40 % ($p \leq 0,05$) в крови животных без фармакологической коррекции свидетельствуют о срыве адаптационных процессов в постишемическом периоде.

2. Установлено, что введение глицина в дозе 100 мг/кг при острых ишемических нарушениях мозгового кровообращения эффективно препятствует постишемическому увеличению концентрации ионов водорода в крови, гипервентиляции и истощению буферных систем организма.

3. Влияние глицина на показатели КЩС в постишемическом периоде следует рассматривать как важный элемент его нейропротекторного действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. С. Мирзоян, М. Б. Плотников, Т. С. Ганьшина и др., *Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств для лечения нарушений мозгового кровообращения и мигрени, Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), Часть первая, Гриф и К, Москва (2012), сс. 480 – 487.

2. В. В. Моррисон, Н. П. Чеснокова, М. Н. Бизенкова, *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*, 7(3 – 2), 270 – 273 (2015).
3. Я. Р. Нарциссов, Е. В. Шешегова, Е. В. Машковцева, Л. Н. Максимова, *Неврологический вестник*, 47(1), 85 – 90 (2015).
4. В. Е. Погорелый, Л. М. Макарова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, 69(6), 24 – 26 (2006).
5. А. С. Рахматуллина, Т. Ф. Дехтярь, *Современные научные исследования и разработки*, 28(12), 528 – 530 (2018).
6. А. А. Селин, Н. В. Лобышева, О. Н. Воронцова и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, 153(1), 52 – 55 (2012).
7. С. М. Халикова, Ю. Н. Никитина, Т. Ф. Дехтярь, *Концепт*, № 2, 121 – 125 (2017).
8. Р. Е. Хома, А. Н. Чеботарев, Л. С. Будько, *Вісник одеського національного університету. хімія*, 23(1), 32 – 104 (2018); doi: 10.18524 / 2304-0947.2018.1(65).124551.
9. P. N. Ainslie, *J. Am. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 296(5), 1473 – 1495 (2009). doi: 10.1152 / ajpregu.91008.2008.
10. C. F. Burgos, E. Y. Gonzalo, L. G. Aguayo, *Mol. Pharmacol.*, 90(3), 318 – 325 (2016); doi: 10.1124 / mol.116.105726.
11. C. Cai, J. Zhu, L. Ye, et al., *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 29 page (2019); doi:10.1155 / 2019 / 4248529.
12. J. Chen, R. Hu, H. Liao, et al., *Sci. Rep.*, 7(1), 3575 (2017); doi: 10.1038 / s41598-017-03909-03111-3123.
13. L.-J. Li, R. Hu, B. Lujan, et al., *Front. Mol. Neurosci.*, 9(102) (2016); doi: 10.3389 / fnmol.2016.00102.
14. M. A. Razak, P. S. Begum, B. Viswanath, S. Rajagopa, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1716701 (2017); doi:10.1155 / 2017 / 1716701.
15. A. S. M. Salinet, J. S. Minhas, R. B. Panerai, et al., *J. Neurol. Sci.*, 402(7), 30 – 39; doi: 10.1016 / j.jns.2019.04.038.
16. A. M. Slupe, J. R. Kirsch, *Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 38(12), 2192 – 2208 (2018); doi: 10.1177 / 0271678x18789273.

Поступила 07.02.22

GLYCINE INFLUENCE ON THE ACID-BASE STATUS OF BLOOD UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL BRAIN REPERFUSION SYNDROME

L. M. Makarova^{1,*}, M. V. Chernikov¹, V. E. Pogorelyi¹, T. I. Makarova², T. E. Onbysh³, and N. E. Kosyanok⁴

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, prosp. Kalinina 11, Pyatigorsk, 357532 Russia

² Pyatigorsk State University, prosp. Kalinina 9, Pyatigorsk, 357532 Russia

³ I.T. Trubilin Kuban State Agrarian University, ul. Kalinina 13, Krasnodar, 350044, Russia

⁴ Kuban State Medical University, ul. Selina 4, Krasnodar, 350063 Russia

* email: makarova.lm@mail.ru

The effect of glycine at a dose of 100 mg/kg on indicators of the acid – base status of arterial and venous blood was studied by modeling total cerebral ischemia in cats. At 15, 60, and 120 min of reperfusion, the blood pH and carbon dioxide pressure ($p\text{CO}_2$) were determined and indicators characterizing changes in the buffer systems of the body were calculated according to the Siggaard–Andersen nomogram, including the standard bicarbonate, the sum of buffer bases, and the shift of buffer bases. Arterial blood was taken from the common carotid artery, and venous blood was taken from the sagittal sinus. In animals without pharmacological correction, pronounced changes in the acid – base balance indicators were noted as manifested by decrease in $p\text{CO}_2$ to 28.5% ($p \leq 0.05$), BB sum by more than 30% ($p \leq 0.05$), and SB by more than 40% ($p \leq 0.05$). It was experimentally established that the introduction of glycine limits violations of the acid – base status by limiting the postischemic acidemia (15 – 60 min) and hyperventilation (15 – 120 min), and preventing depletion of the body's buffer systems (15 – 60 min). This influence of glycine on the acid – base balance indicators should be considered as one of the parameters contributing to its neuroprotective effect.

Keywords: glycine; acid-base balance; reperfusion syndrome; cerebral ischemia.