

УДК 612.592.:616-001.18): 612.111.11/16

РОЛЬ МЕХАНИЗМОВ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА В ГЕНЕЗЕ НАРУШЕНИЙ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПРИ ДЕЙСТВИИ НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРЫ

В.В. Зинчук, Л.В. Дорохина

Гродненский государственный медицинский университет

Представлены собственные и литературные данные о роли механизмов транспорта кислорода в генезе нарушений, возникающих при глубокой гипотермии. Анализируется влияние сродства гемоглобина к кислороду на активность перекисного окисления липидов, факторы антиоксидантной защиты в условиях холодового воздействия.

Ключевые слова: сродство гемоглобина к кислороду, кровь, гипотермия, перекисное окисление липидов, антиоксиданты.

Our own and literature data on the role of the oxygen transport mechanisms in the genesis of disturbances caused by deep hypothermia are presented. We have analyzed the influence of hemoglobin-oxygen affinity on the lipid peroxidation activity and antioxidant defense factors under exposure to cold.

Key words: hemoglobin-oxygen affinity, blood, hypothermia, lipid peroxidation, antioxidants.

При развитии гипотермии у гомойотермных животных происходят значительные изменения биохимических процессов, физиологических функций, в том числе обеспечивающих кислородное снабжение тканей [30] и, как следствие, возникает гипоксия и некомпенсированный метаболический ацидоз [10, 14]. Возникающая гипоксия определяется сложной динамикой, вовлеченностью широкого спектра функционально-метаболических систем, множественностью лимитирующих этот процесс факторов, один из которых – изменение сродства гемоглобина к кислороду (СГК) [21, 24]. Сдвиг кривой диссоциации оксигемоглобина (КДО) влево при гипотермии создает условия для сохранения насыщения гемоглобина кислородом в артериальной крови, несмотря на значительное падение величины pO_2 [9]. Выраженный сдвиг КДО влево при глубокой гипотермии отражается на динамике величин pO_2 , степени оксигенации гемоглобина и характеризуется значительным понижением содержания кислорода в смешанной венозной крови, статистически значимым увеличением артериовенозной разницы по содержанию кислорода и коэффициента его экстракции, а также появлением признаков метаболического ацидоза [15, 25].

Независимо от вида гипоксии в основе характерных для нее нарушений лежит невозможность основной энергопродуцирующей системы к синтезу АТФ [26]. Дефицит энергии, в свою очередь, активизирует свободнорадикальное окисление в клетке. Острое холодовое воздействие на гомойотермный организм на определенных этапах неизбежно приводит к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) в различных органах и тканях [1, 7, 12]. Накопление продуктов ПОЛ в крови и тканях, в свою очередь, неблагоприятно сказывается на активности мембранно-связанных ферментов, вызывает хромосомные абберации, нарушает структуру митохондрий, рибосом, эндоплазматического ретикулума, активизирует аутолитические процессы [6, 8, 32].

В проведенных нами исследованиях выявлено, что в ходе развития гипотермии на 90-ой минуте охлаждения наблюдалось снижение ректальной температуры у животных более чем на 10°C . При этом происходило закономерное изменение показателей кислородтранспортной функции крови (КТФ крови), выражающееся в достоверном снижении pO_2 на 22,6% ($p < 0,001$), а с учетом реальной температуры крови крыс, pO_2 снижался на 71,6%, развивалась гиперкапния и метаболический аци-

ЗИНЧУК Виктор Владимирович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии, проректор по внебюджетной деятельности и международным связям.
E-mail: Zinchuk@grsmu.by

ДОРОХИНА Любовь Васильевна – ассистент кафедры нормальной физиологии. Занимается изучением кислородтранспортной функции крови и прооксидантно-антиоксидантного состояния при гипотермии.
E-mail: dorokhina@grsmu.by

доз. Холодовое воздействие сопровождалось значительным повышением сродства гемоглобина к кислороду ($p50_{\text{реал}}$, рассчитанный с учетом реальных значений pH, $p\text{CO}_2$ и температуры, уменьшается более чем на 10 мм рт. ст.). Отмечалась активация перекисного окисления липидов во всех исследуемых тканях (существенное повышение содержания диеновых конъюгатов и оснований Шиффа) и ослабление антиоксидантной защиты (снижение уровней ретинола, а-токоферола и активности каталазы) [37].

Эритроциты являются важным компонентом антиоксидантной системы крови. Особое место в ней занимают кислородсвязывающие свойства крови, задающие условия диффузии кислорода в ткани и определяющие величину тканевого $p\text{O}_2$ [39]. Можно предположить, что для усиления сложной эндогенной защиты от свободных радикалов будут благоприятны методы модификации СГК, как это наблюдалось в условиях гипертермии [38].

При гипотермии положение КДО определяется, в значительной степени, температурой, pH и, в меньшей степени, $p\text{CO}_2$. Положение КДО при реальных значениях температуры, pH и $p\text{CO}_2$ есть результирующая этих разнонаправленных по своему действию факторов. Оксигенация гемоглобина является экзотермической реакцией, соответственно диссоциация оксигемоглобина протекает с поглощением тепла [18]. Такое влияние температуры на взаимодействие гемоглобина с кислородом характерно для большинства типов гемоглобина [29]. Эффект температуры на положение КДО, выражаемый температурным коэффициентом $DlgP50/Dt$, различен у пойкилотермных и гомойотермных животных. Зависимость СГК от температуры рассматривают как механизм приспособления для предотвращения дисбаланса между доставкой кислорода и потребностью в нем (D.C. Willford и E.P. Hill [33]). Компенсация последствий влияния температуры может достигаться как за счет увеличения синтеза термотолерантного гемоглобина, так и в результате изменения синтеза модуляторов СГК [34]. Последний механизм для гомойотермных представляется более реальным. Известно, что у крыс при гипотермии наблюдается повышение концентрации 2,3-ДФГ и снижение на 30% температурного эффекта на СГК [22], за счет чего достигается ослабление влияния температуры на положение КДО.

Известно, что СГК в значительной степени определяет поток O_2 в ткани [27]. На изолированной

m. gastrocnemius собак *in situ*, перфузированной кровью с нормальным и высоким СГК ($p50 = 32,1$ и $23,2$ мм рт. ст., соответственно), наблюдалось снижение поступления кислорода в ткань на 17% [17]. СГК при гипотермии увеличивается, так у анестезированных больных при снижении температуры с $35,5^\circ\text{C}$ до $32,0^\circ\text{C}$ $p50$ уменьшалось с $23,8 \pm 1,7$ до $20,0 \pm 0,9$ мм рт. ст. [13]. В опытах на собаках при снижении температуры с $37,7^\circ\text{C}$ до $30,5^\circ\text{C}$ гипотермия также вызывала сдвиг КДО влево ($p50$ уменьшался с $32,4 \pm 0,7$ до $19,8 \pm 0,7$ мм рт. ст., $p < 0,01$) [16]. Умеренная гипотермия может быть полезной при гипоксических состояниях, так как при этом уменьшается потребление кислорода тканями, снижается энергетическая стоимость функционирования всех систем организма, а умеренный сдвиг КДО влево улучшает оксигенацию крови в легких [35]. Предполагается, что в снижении потребления кислорода у лихорадящих больных при гипотермии важная роль отводится сдвигу КДО влево [23]. В условиях глубокой гипотермии положительные эффекты снижения температуры тела сменяются истощением адаптационных механизмов, приводя к серьезным нарушениям метаболизма и возникновению гипоксии [11]. В наших опытах происходило значительное снижение температуры тела, выраженное уменьшение $p50$ и, соответственно, резкий сдвиг КДО вправо, и это, очевидно, имело в большей степени негативное значение [3]. В этих условиях модификация СГК, направленная на уменьшение эффекта температуры, более выгодна и приводит к снижению кислородной недостаточности.

Участие кислорода в реакциях инициации, продолжения и разветвления цепей ПОЛ позволяет предполагать, что на эти механизмы при гипотермии может влиять СГК. Гемоглобин, изменяя свое сродство к кислороду, может регулировать поток кислорода в ткани в соответствии с их потребностью в нем и, тем самым, предупреждать избыточное его поступление и дальнейшее перераспределение с оксидазного пути на оксигеназный [5]. Известно, что при лихорадке, индуцированной введением липополисахарида, сдвиг КДО коррелирует с параметрами свободнорадикального окисления, что позволяет рассматривать СГК как один из факторов, участвующих в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма [4]. В наших экспериментах с целенаправленной коррекцией СГК установлено, что смещение КДО влево в условиях действия холода сопровождается

ся сдвигом прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону активации ПОЛ и ослабления антиоксидантной системы, а сдвиг вправо – противоположной динамикой данных показателей [3, 37]. Вероятно, снижение СГК при гипотермии способствует уменьшению дисбаланса между донорами и акцепторами электронов, что ведет к ингибированию свободнорадикальных процессов (уменьшению продуктов ПОЛ и сохранению антиоксидантного потенциала).

Показано, что составной частью защитных механизмов при инициируемом гидроперекисями окислительном стрессе является оксигемоглобин, про- либо антиоксидантные качества которого зависят как от его кислородсвязывающих свойств, так и от состояния самой молекулы гемоглобина [20]. С повышением СГК уменьшается скорость аутоокисления оксигемоглобина в метгемоглобин, и, наоборот, уменьшение сродства способствует образованию метформы [31]. В то же время гемоглобин может проявлять и прооксидантное действие – путем образования гидроксильных радикалов. Предполагается возможность ослабления прооксидантного потенциала модифицированными гемоглобинами (пиридоксалированный конъюгат гемоглобина и полиоксиэтилена) [28]. Сдвиг КДО вправо оказывает защитное действие на миокард в условиях пониженного кровотока: повышается уровень макроэргических фосфатов, улучшается сократительная функция [36]. Синтетический аллостерический модификатор гемоглобина RSR 13 (2-[4-(3,5-диметиланилино)карбонил]метил]фенокси]-2-метилпропионовая кислота), сдвигающий КДО вправо, улучшает восстановление механической и метаболической функций миокарда после операций у собак с использованием гипотермического экстракорпорального кровообращения [19].

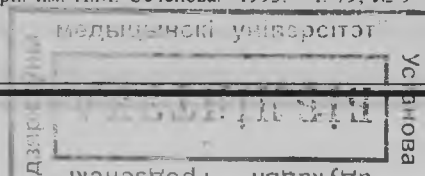
Направленное снижение СГК является более благоприятным при глубокой гипотермии, так как при этом оптимизируется поток кислорода в ткани и уменьшается его доля в свободнорадикальных реакциях, что сопровождается менее выраженными нарушениями кислотно-основного состояния и прооксидантно-антиоксидантного равновесия. Целенаправленное уменьшение СГК (введение йодобензоата натрия) при холодом воздействии сопровождается уменьшением содержания продуктов ПОЛ в эритроцитах и тканях крыс, минимальными нарушениями кислотно-основного состояния и кислородного обеспечения, повышением устойчивости крыс к гипотермии. При смещении КДО

влево (введение цианата натрия) наблюдается сдвиг прооксидантно-антиоксидантного равновесия в сторону активации ПОЛ и снижение резерва антиоксидантной системы, максимальное снижение ректальной температуры в конце холодого воздействия [3]. Антиоксидантная система не способна осуществлять полноценную защиту от свободнорадикальной атаки при гипотермии, поэтому становится очевидной целесообразность усиления антиоксидантного потенциала, который может быть опосредован введением карнитина [2].

Полученные в нашей лаборатории результаты позволяют уточнить представления о значимости кислородтранспортной функции крови и свободнорадикальных процессов в механизмах развития гипотермии, определить возможности их коррекции путем направленного воздействия на сродство гемоглобина к кислороду с целью повышения резистентности организма к действию низкой температуры внешней среды [2, 3, 37].

Литература

1. Василькова Т.У., Кухта В.К. Колькасць прадуктаў перакіснага акіслення ліпідаў і стан антыакісляльнай ахоўнай сістэмы эрытрацытаў ва ўмовах ахаладжэння арганізма // Весці АН Беларусі. /сер. біял. навук. - 1988. - № 5. - С. 64-76.
2. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Влияние карнитина на свободнорадикальное окисление липидов печени крыс при гипотермии // «Актуальные вопросы гепатологии»: Мат. 5-го междунар. симпозиума гепатологов Беларуси. - Гродно, 2002. - С. 155-156.
3. Дорохина Л.В., Зинчук В.В. Прооксидантно-антиоксидантное состояние организма в условиях разнонаправленных сдвигов кривой диссоциации оксигемоглобина при гипотермии // «Актуальные вопросы медицины и новые технологии медицинского образования»: Мат. междунар. науч.-практ. конф., пось 10-летнюю образования ГГМИ. - Мозырь, 2000. - Т. 1. - С. 175-177.
4. Зинчук В.В. Участие оксида азота в формировании кислородсвязывающих свойств гемоглобина // Усп. физиол. наук. - 2003. - Т. 34, № 2. - С. 33-45.
5. Зинчук В.В., Борисюк М.В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма // Усп. физиол. наук. - 1999. - Т.30, № 3. - С. 38-48.
6. Ломакина Л.В. Действие низкой температуры на перекисное окисление и интенсивность протеолиза в мозгу и печени крыс // Укр биохим журн. - 1980. - Т. 52, № 3. - С. 305 - 308
7. Львова С.П., Горбунова Т.Ф., Абаева Е.М. Влияние гипотермии и даларгина на перекисное окисление липидов в тканях крыс // Вопр. мед. химии. - 1993. - Т. 39. - С. 21 - 24.
8. Семенов А.В. Активность микросомальных монооксигеназ и интенсивность перекисного окисления липидов печени в условиях действия холодого фактора на организм человека и животных: Автореф. дис. канд. мед. наук. - Томск, 1984. - 19 с.
9. Чуйкин А. Е., Федорова Т. Е. Транспорт кислорода и газообмен у крыс в условиях иммерсионной гипотермии // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. - 1992. - Т. 78, № 12. - С. 80-86.
10. Чуйкин А.Е., Вовенко Е.П. Механизм развития гипоксии у крыс в условиях острой иммерсионной гипотермии // Физиол. журн. им. И.М. Сеченова. -1993. - Т. 79, № 9 - С. 89-97.



11. Alfaro V., Peinado V.I., Palacios L. Factors influencing acid-base status during acute severe hypothermia in unanesthetized rats // *Respir. Physiol.* - 1995. - Vol. 100. - P. 139-149.
12. Amrani M., Gray C.C., Smolenski R.T. The effect of L-arginine on myocardial recovery after cardioplegic arrest and ischemia under moderate and deep hypothermia // *Circulation.* - 1997. - Vol. 96. - P. 274-279.
13. Bacher A., Illievich U.M., Fitzgerald R. Changes in oxygenation variables during progressive hypothermia in anesthetized patients // *J. Neurosurg. Anesthesiol.* - 1997. - Vol. 9, № 3. - P. 205-210.
14. Coetzee A., Swanepoel C. The oxyhemoglobin dissociation curve before, during and after cardiac surgery. // *J. Clin. Lab. Invest. Suppl.* - 1990. - Vol. 203. - P. 149-153.
15. Frappell P. Hypothermia and physiological control: the respiratory system. // *Respir. Physiol.* - 1998. - Vol. 115. - P. 125-133.
16. Gutierrez G., Warley A.R., Dantzker D.R. Oxygen delivery and utilization in hypothermic dogs. // *J. Appl. Physiol.* - 1986. - Vol. 60. - P. 751-757.
17. Hogan M.C., Bebout D.E., Wagner P.D. Effect of increased Hb-O₂ affinity on VO₂ max at constant O₂ delivery in dog muscle in situ // *J. Appl. Physiol.* - 1991. - Vol. 70, № 6. - P. 2656-2662.
18. Hsia C.C.W. Mechanisms of disease: Respiratory function of hemoglobin // *New Eng. J. of Med.* - 1998. - Vol. 338, № 4. - P. 239-247.
19. Kilgore K.S., Shwartz C.F., Gallagher M.A. RSR13, a synthetic allosteric modifier of hemoglobin, improves myocardial recovery following hypothermic cardiopulmonary bypass // *Circulation.* - 1999. - Vol. 100. - P. 11351-11356.
20. Kosaka H., Seiyama A. Physiological role of nitric oxide as an enhancer of oxygen transfer from erythrocytes to tissues. // *Biochem. Res. Commun.* - 1996. - Vol. 218. - P. 749-752.
21. Lahiri S., Romanov C., Cherniack N. Altered structure and function of the carotid body at high altitude and associated chemoreflexes // *High Altitude Med. Biol.* - 2000. - Vol. 1. - P. 63-74.
22. Mairbaurl H., Humpeler E. Diminution of the temperature effect on the oxygen affinity of hemoglobin after prolonged hypothermia // *Eur. J. Physiol.* - 1980. - Vol. 80, № 383. - P. 209-213.
23. Manthous C.A., Hall J.B., Olson D. Effect of cooling on oxygen consumption in febrile critically ill patients // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* - 1995. - Vol. 151, № 1. - P. 10-14.
24. Marshall J., Davies W. The effects of acute and chronic systemic hypoxia on muscle oxygen supply and oxygen consumption in the rat // *Exp. Physiol.* - 1999. - Vol. 84. - P. 57-68.
25. McArthur M.D., Jourdan M.L., Wang L.C.H. Prolonged stable hypothermia: Effect on blood gases and pH in rats and ground squirrels // *Am. J. Physiol.* - 1992. - Vol. 262. - P. 190-197.
26. Mehrotra S., Kakkar P., Viswanathan P. Mitochondrial damage by active oxygen species in vitro // *Free Rad. Biol. Med.* - 1991. - Vol. 10. - P. 277-285.
27. Osborne S., Milson W.K. Ventilation is coupled to metabolic demands during progressive hypothermia in rodents // *Respir. Physiol.* - 1993. - Vol. 92. - P. 305-318.
28. Privalle C., Talarico T., Keng T. Pyridoxalated hemoglobin polyoxyethylene: a nitric oxide scavenger with antioxidant activity for the treatment of nitric oxide-induced shock // *Free. Radic. Biol. Med.* - 2000. - Vol. 15. - P. 1507-1517.
29. Samaja M. Blood gas transport at high altitude // *Respiration.* - 1997. - Vol. 64. - P. 422-428.
30. Schumacker R.T., Rowland J., Saltz S. Effects of hyperthermia and hypothermia on oxygen extraction by tissues during hypovolemia. // *J. Appl. Physiol.* - 1987. - № 63. - P. 1246-1252.
31. Stepuro I., Chaikovskaya N., Piletskaya T. Glutathione oxidation under the action of sodium nitrite on hemoglobin // *Pol. J. Pharmacol.* - 1994. - Vol. 46. - P. 601-607.
32. Tappel A.L. Measurement of and protection from in vivo lipid peroxidation // *Free Radic. Biol.* - 1980. - Vol. IV. - P. 2-47.
33. Willford D.C., Hill E.P. Modest effects of temperature on the porcine oxygen dissociation curve // *Respir. Physiol.* - 1986. - Vol. 64, № 2. - P. 113-123.
34. Wood S.C. Adaptation of red blood cell function to hypoxia and temperature in ectothermic vertebrates // *Am. Zool.* - 1980. - Vol. 20. - P. 163-172.
35. Wood S.C. Interrelationships between hypoxia and thermoregulation in vertebrates. // *Advances in comparative and environmental physiol.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg. - 1995. - Vol. 22. - P. 209 - 231.
36. Woods J.A., Storey C.J., Babcock E.E. Right-shifting the oxyhemoglobin dissociation curve with RSR13: effects on high-energy phosphates and myocardial recovery after low-flow ischemia // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* - 1998. - Vol. 31. - P. 359-363.
37. Zinchuk V.V., Dorokhina L.V., Maltsev A.N. Prooxidant-antioxidant balance in rats under hypothermia combined with modified hemoglobin-oxygen affinity // *J. Thermal Biol.* - 2002. - Vol. 27. - P. 345 - 352.
38. Zinchuk V. Effect of NO-synthase inhibition on hemoglobin-oxygen affinity and lipid peroxidation in rabbits during fever // *Respiration.* - 1999. - Vol. 66, № 5. - P. 448-454.
39. Zinchuk V., Borisuk V. The effect of NO synthase inhibition on blood oxygen-carrying function during hyperthermia in rats // *Respiration Physiol.* - 1998. - Vol. 113, № 1. - P. 39-45.

Resume

THE ROLE OF HEMOGLOBIN-OXYGEN AFFINITY IN THE GENESIS OF DISTURBANCES CAUSED BY LOW TEMPERATURE

V.V. Zinchuk, L.V. Dorokhina

The targeted lowering of hemoglobin-oxygen affinity (by sodium iodobenzoate) combined with exposure to cold was accompanied by lower contents of lipid peroxidation products in rat RBCs and tissues, slight disorders of acid-base balance and oxygen delivery, and higher resistance to hypothermia. A shift of oxyhemoglobin dissociation curve leftwards (by sodium cyanate) displaced the prooxidant-antioxidant balance towards the LPO activation and antioxidant defense weakening and maximally decreased the rectal temperature at the end of cold exposure.